

**Procura della Repubblica
Tribunale di Modena
Sostituto Procuratore
dott. Giuseppe Bernardi Tibis**

Perizia ufficiale nel procedimento
di **Processo Penale 601/11 RGNR**
a carico di Coronati Renzo Giovanni

Enrico Moriconi
Medico Veterinario - Dirigente SSN
v. Ormea 108 bis -10126 Torino
enrico.moriconi@gmail.com
tel 011 4017420

In data 28 gennaio 2011, il Pubblico Ministero Dott. Giuseppe Bernardi Tibis ha affidato l'incarico per consulenza tecnica al dott. Enrico Moriconi di compiere i seguenti accertamenti:

“Dica il ct, esaminati gli atti e la relativa documentazione, se le condizioni di mantenimento degli animali fossero compatibili con le loro caratteristiche etologiche e fisiologiche e con le norme vigenti;

- se vi siano elementi di valutazione relativi ad eventuali interventi eseguiti sugli animali, quali effetti potesse indurre il protocollo in base agli atti acquisiti sulla salute e sul benessere degli animali

- quali le specifiche di utilizzo e le conseguenze dei farmaci e dei presidi ritrovati nel corso dell'indagine

- quale la formula e lo scopo dell'utilizzo delle sostanze rinvenute nei contenitori senza etichetta e nelle siringhe già utilizzate e ancora da utilizzare

- dica il ct quale sia lo stato attuale e la condizione di salute degli animali e quant'altro utile ai fini di giustizia.

In relazione all'incarico affidatomi mi sono recato il giorno 15 febbraio 2011 nell'immobile di proprietà della sig. Tommasini Donatella, e nella disponibilità del coniuge sig. Coronati Renzo Giovanni, sito in Mirandola v. Santa Coronata nr. 2 adibito a stabulario per animali.

La situazione ambientale rilevabile corrispondeva alla descrizione contenuta negli atti formali di Comunicazione della notizia di reato ai sensi dell'art. 347 c.p.p. redatti dalla Guardia di Finanza, Tenenza di Mirandola.

Si rilevava la presenza di due locali al cui interno erano sistemate le 63 gabbie destinate alla stabulazione dei topi, cavie, criceti e conigli.

Le condizioni generali dei locali dal punto di vista igienico-sanitario erano scadenti, la pulizia solamente a livello superficiale.

I due locali erano utilizzati sia come stabulario sia per la sperimentazione.

La situazione delle gabbie

Nei due locali erano posizionate le 63 gabbie e precisamente in quello di ingresso, più ampio, erano sistemate 56 gabbie per topi, cavie e criceti e in quello adiacente, più piccolo, le 7 gabbie per i conigli.

Le gabbie del locale di ingresso prevedevano due tipologie.

Di esse cinquantuno (51) erano sistemate entro strutture metalliche, definite come “carrelli”, realizzate con traverse metalliche sia verticali sia orizzontali nei cui vari piani erano collocate le gabbie, denominate box. Tra i vari livelli erano interposti piani di lamiera allo scopo di raccogliere feci e urine percolanti dai pavimenti di rete dei box.

Nello stesso locale, su di un tavolo a parte erano sistemate 5 gabbie (due contenenti topi, due con cavie e 1 destinata ad un criceto).

Il locale successivo ospitava le gabbie dei conigli.

Le misure delle gabbie erano così quantificate nel documento “Modalità di acquisizione delle notizie” :

gabbie di plastica: cm 37 x 21 x 18 h

gabbie di rete : cm 38 x 22 x 16 h

gabbie metalliche dei conigli: cm 42 x 54 x 35 h

Si può verificare il rapporto tra le dimensioni delle gabbie e lo spazio usufruibile dagli animali dalle fotografie allegate al presente documento.

I topi, in numero di 124 (di cui uno rinvenuto morto), erano collocati in 18 gabbie

suddivisibili secondo due tipologie:

4 erano di materiale plastico trasparente con superficie continua e lettiera,
14 realizzate in griglia di ferro.

Il numero all'interno era variabile, come da elenco che segue

Carrello n 1

box n. - n. topi

n 16: 5 femmine topi (box in plastica)

n. 17 : 9 topi femmina bianchi (box in plastica)

Carrello 2

box n. - n. topi

10: 7 topi femmina

11: 12 topi maschi

12: 9 topi maschi

13: 6 topi femmina

14: 8 topi femmina

Carrello 3

box n. - n. topi

1: 5 topi maschi

2: 5 topi femmina

3: 9 topi maschi

4: 5 femmine

5: 6 topi femmine

6: 3 topi maschi

7: 6 topi femmina

8: 9 topi femmina

9: 8 topi femmina

Su di un tavolo a parte

box 19 con 7 topi maschi (box in plastica)

box n. 20 con 5 topi femmina (box in plastica)

Le cavie, in numero di 57, erano collocate in 33 gabbie, di cui una con 4 esemplari, 9 con uno solo e le altre (23) con due soggetti. 55 gabbie erano allocate all'interno dei carrelli e due erano posizionate su di un tavolo; una di esse aveva un fondo di plastica fessurata e una disponeva di lettiera.

I criceti, in numero di 5, disponevano di gabbie individuali, di plastica con pareti e pavimento continuo dotato di lettiera. 4 erano contenute nei carrelli e 1 disposta sul tavolo a parte.

3

Degli 8 conigli, 6 erano sistemati in gabbie singole mentre due femmine erano state immesse in un'unica gabbia. In totale le gabbie erano quindi 7. Le gabbie erano metalliche con pavimento fessurato.

Relativamente alla **condizione igienica** si rilevava una situazione variabile, dipendente anche dalla stessa tipologia costruttiva delle gabbie.

Tutte le gabbie completamente chiuse, con pavimento in superficie piena, in numero di 9 (5 per i criceti e 4 per i topi) presentavano una condizione igienica assai scadente. Non essendo possibile il deflusso all'esterno delle feci e delle urine queste permanevano sul fondo del recipiente e superiormente si accumulavano i resti degli alimenti somministrati.

Nelle gabbie a rete, gli escrementi e le feci percolavano sul ripiano sottostante e pertanto non rimanevano nelle gabbie, all'interno delle quali erano presenti quantità variabili di fieno che gli animali cercavano di utilizzare come rudimentale nido.

La situazione relativa alla pulizia era diversa dal caso precedente in quanto non si rilevava la presenza di escrementi mentre si evidenziavano i resti dovuti all'uso, ovvero presenze di pelo, di polvere - anche residuante dagli alimenti somministrati - residui di cibo e fieno, quanto cioè non riusciva attraverso i fori sulle lastre sottostanti.

Le condizioni igieniche erano scadenti in tutte le gabbie con pavimento dotato di lettiera, complessivamente però tutte le gabbie dimostravano che le operazioni di pulizia si limitavano al minimo intervento possibile e pertanto le condizioni igieniche non erano ottimali.

Quesito “dica il ct, esaminati gli atti e la relativa documentazione, se le condizioni di mantenimento degli animali fossero compatibili con le loro caratteristiche etologiche e fisiologiche e con le norme vigenti”.

Nel corso del sopralluogo effettuato in data 15 02 2011 ho visionato le condizioni di allevamento nel caso in oggetto utili a formulare le seguenti osservazioni.

Per rispondere al quesito è opportuno specificare il significato da un punto di vista medico veterinario dei termini di caratteristiche etologiche e fisiologiche e le norme vigenti

Gli elementi di valutazione su basi etologiche e fisiologiche

Le basi fisiologiche di una valutazione delle condizioni di un animale sono evidentemente delineabili, come dimostra la definizione stessa, sulla base dei parametri fisiologici del corpo, ovvero sulle basi che ne regolano il funzionamento. Tali valori sono collegati direttamente allo stato vitale e come caratteristica generale si deve annotare che essi sono equivalenti in tutte le specie animali. Si tratta infatti delle funzioni degli apparati corporei quali apparato cardio circolatorio, respiratorio, urogenitale, locomotorio, ecc. che sono simili in tutti gli animali della stessa classe tassonomica.

Nella situazione di confinamento nel caso in questione, evidentemente le restrizioni relative all'alimentazione non si potevano rilevare così pure altri elementi fisiologici (frequenza cardiaca e respiratoria, ad esempio) e pertanto l'elemento più a rischio è relativo alla possibilità di esercitare il funzionamento motorio, evidentemente perché le limitate dimensioni dei contenitori non possono garantire l'espletarsi completo di movimento.

Le basi etologiche, certamente quelle più chiamate in causa quando si tratta di valutazioni delle situazioni di mantenimento, si riferiscono alle condizioni di vita di un animale, che sono dipendenti da elementi esterni: in tutte le circostanze nelle quali gli animali sono confinati in ambiti determinati dalle necessità o interessi umani si viene a configurare una variazione rispetto alle condizioni naturali e tali variazioni inducono degli effetti, variabili nella loro intensità quanto più la condizione imposta si discosta da quella naturale.

L'impatto delle condizioni della cattività sugli animali si può verificare sulla base di alcuni indicatori, ovvero elementi oggettivamente rilevabili la cui presenza permette di descrivere gli effetti della situazione sugli animali.

Il ruolo dell'ambiente di mantenimento è ben noto in letteratura scientifica: l'animale in presenza di una condizione negativa cerca di affrontarla e mette in atto comportamenti utili ad attenuare la negatività. Se i tentativi non sono sufficienti, e l'organismo non riesce a compensare,

entra in una condizione di sofferenza.

L'ambiente evidentemente agisce in senso bivalente, poiché può contribuire sia ad una condizione accettabile o soddisfacente sia ad una cattiva o pessima. Esso infatti può offrire stimoli o condizioni buone o non particolarmente dannose oppure può generare delle negatività moderate o forti.

È evidente infatti che ogni animale si è evoluto nel corso del tempo adattandosi ad un determinato ambiente naturale, che viene inevitabilmente stravolto nelle condizioni di cattività che immettono l'animale in ambiti completamente nuovi per lo stesso e che non sono di certo entrati a far parte del patrimonio genetico. Anche se la domesticazione di alcune specie risale a qualche migliaio di anni orsono, il periodo di vita libera assomma invece a milioni di anni e le caratteristiche ereditarie "innate" nelle diverse specie sono basate sul periodo di vita libero e non certo su quello, molto più breve, della domesticazione. Le caratteristiche "innate" sono altrimenti definibili come ereditarie e costituiscono i modelli comportamentali che gli animali hanno sviluppato durante la loro evoluzione nella vita libera. La caratteristica innata dei modelli comportamentali è ormai accettata da molti anni, risalente nella sua formulazione all'opera di Konrad Lorenz (così citato da Eibl-Eibesfeld, *I fondamenti dell'etologia*, ed. Adelphi, 1995) che è lo studioso che ha diffuso gli studi sull'etologia, cioè la scienza del comportamento animale. A partire dai suoi studi l'ambiente, naturale o artificiale, è stato analizzato e studiato in collegamento con l'etologia. Approfondendo infatti gli elementi che stavano alla base del comportamento si è osservata l'interazione tra le attività e la vita dell'animale e la struttura la tipologia la conformazione dell'ambiente di vita ed è stato inevitabile trarre le conseguenze oggi accettate, dello stretto rapporto esistente tra la situazione degli ambiti di vita e lo stato degli animali.

L'etologia ha anche permesso di individuare una serie di strumenti per la valutazione oggettiva del benessere\malessere: studiando il comportamento naturale ha evidenziato quelli innaturali o patologici che si manifestano con quei cambiamenti del comportamento (etoanomalie) che segnalano uno stato di sofferenza.

Anche gli studi di Selye, relativi allo stress, confermano le affermazioni precedenti. Selye (Selye H. *The Stress of Life* McGraw-Hill -Paperback- 1956) dichiarò di aver dimostrato le conseguenze indotte da fonti diverse non specifiche sull'organismo la cui reazione egli definì come "risposta non specifica dell'organismo ad uno stimolo negativo", definì la sindrome generatasi come "Sindrome generale di adattamento" ovvero lo sforzo che compie l'organismo per adattarsi ad una situazione sfavorevole. Per esemplificazione la sindrome venne definita come "stress" mutuando il termine dalla fisica, nella quale indicava lo sforzo o la tensione a cui era sottoposto un materiale, proprio per indicare lo sforzo e la tensione dell'organismo. Gli studi hanno dimostrato che il tentativo di adattamento compiuto dall'organismo in situazioni non ottimali generava delle alterazioni dell'omeostasi (l'equilibrio fisico e ormonale dell'organismo).

Lo stress è stato individuato per la prima volta proprio sui topi, ma fin da subito si è verificato che si trattava di una condizione vissuta anche dalla specie umana, e pure che era una situazione propria di tutti gli animali.

Le risposte fornite da numerose ricerche scientifiche hanno dimostrato che tutti gli animali, non solo quelli considerati superiori ma anche quelli cosiddetti inferiori - termine con cui generalmente ci si riferisce alle specie caratterizzate da una complessità organica più semplice delle specie per antonomasia dette "superiori" -, subiscono condizioni di stress collegate alle condizioni ambientali indotte.

Lo stress è stato dimostrato essere presente nelle situazioni che lo possono causare in tutte le specie, a titolo di esempio si citano pochi documenti tra i molti disponibili:

Temple Grandin and Mark Deesing "Distress in Animals: Is it Fear, Pain or Physical Stress?"

American Board of Veterinary Practitioners - Symposium 2002 May 17, 2002;

nei pesci : Claudia Harper and Jeffrey C. Wolf - Morphologic Effects of the Stress Response in Fish -Online Issues - Journal vol 50 (4);

negli uccelli: Toumac., Palme R. - Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. - Ann N Y Acad Sci 2005 Jun , 1046: 54-74;

Quando lo stress non viene superato, nel caso in cui cioè l'individuo non riesca a sopprimere le negatività e si stabilisca quella condizione definita "habituation" ovvero assuefazione, l'organismo entra in uno stato che con termine anglosassone si definisce **Distress**, cioè lo stato biologico che si produce quando il costo biologico dello stress colpisce negativamente le funzioni biologiche critiche per il benessere animale.

Al di fuori del linguaggio anglosassone il termine distress non è molto utilizzato e spesso si comprende il concetto con il termine generale di stress oppure anche di stress cronico.

Quale sia la terminologia usata, oggi si ammette che **esso è la principale causa di dolore o di sofferenza o di una condizione miserevole**. (Handbook of veterinary Pain Management, James S. Gaynor, William W. Muir. 2009, ed. Elsevier).

Attualmente è quindi accettato che lo stress sia esperienza possibile per una molteplicità di specie animali, e sicuramente per quelle che erano presenti nel laboratorio del Dr. Coronati , ed è ugualmente conoscenza condivisa il fatto che esso determini sofferenza.

Che lo stress cronico o distress faccia entrare l'animale in uno stato di sofferenza si deduce anche dalla definizione attualmente utilizzata per il benessere, detto "lo stato di completa sanità fisica e mentale che consente ad un animale di stare in equilibrio con il suo ambiente" (Donald M. Broom e Ken G. Johnson (D. Broom e K. Johnson, Stress and Animal Welfare, 1993). Definizione che esalta il principio del rapporto dell'organismo con l'ambiente e che nel termine di equilibrio ne indica chiaramente l'importanza per l'animale. Infatti le conseguenze indotte sono un bilanciamento tra le esigenze dell'animale e la situazione pratica in cui si trova e spiegano efficacemente come il termine ambiente vada inteso non solo come luogo fisico di una sistemazione ma come l'insieme di quegli elementi che la caratterizzano, quali conduzione, mantenimento, alimentazione, pulizia ed igiene, ecc.

Il principio basilare sotteso allo stress è che la causa stressoria agisce sull'organismo animale e ne determina una risposta, risposta che è già sintomatica di malessere.

Lo stesso Broom (D. M. Broom Animal welfare: concepts and measurement - *J Anim Sci* 1991. 69:4167-4175) sottolinea un aspetto oltremodo importante nella disamina dello stato degli animali: il fatto che può non esserci contemporaneità tra malessere e sofferenza. Ciò comporta che quando vi sia sofferenza è anche presente uno stato di stress e di malessere ma il malessere dovuto ad un problema ambientale può persistere anche se l'animale può non essere in grado di sentire la sofferenza indotta dallo stato in cui si trova, ad esempio a seguito di perdita della conoscenza per coma o per desensibilizzazione endogena.

Vi è ancora da sottolineare un particolare, ovvero la tentazione di riferirsi ad una condizione di "**abitudine**" quando si tratta di esaminare situazioni di mantenimento negative per gli animali. L'abitudine non è applicabile a qualsivoglia condizione, si deve tener presente che essa – tanto per gli animali quanto per gli umani - subentra per quei gesti ripetitivi che però non mutano l'omeostasi corporea, cioè non determinano una alterazione negativa dello stato dell'organismo. Quando si realizza tale evenienza si entra in una condizione di stress, il quale, se non cambia la situazione che lo induce, non diventa abitudine ma stress cronico o distress. Per chiarire il concetto, valido anche per gli esseri umani, si può proporre un esempio: è un'abitudine recarsi al lavoro seguendo sempre uno stesso percorso, ma se il lavoro induce stress questo non produce "abitudine" bensì stress cronico, con le conseguenze correlate.

L'abitudine è la ripetitività di azioni che non comportano conseguenze negative né fisiche né psicofisiche, e che pertanto vengono effettuate quasi automaticamente.

Se invece vi sono delle imposizioni che limitano le possibilità espressive oppure inducono delle negatività, la risposta segue obbligatoriamente un'altra strada, ovvero quella che genera la condizione di stress.

Riassumendo il principio basilare per cui si genera un malessere o una sofferenza per una motivazione etologica è il fatto che quando le condizioni vitali sono troppo lontane da quelle naturali, in conseguenza delle condizioni di mantenimento o per altri motivi quali il lavoro imposto, e l'animale non riesce a compensare il disagio si genera uno stato di stress, o meglio di distress, che è riconosciuto come fattore di sofferenza. È evidente che, quando non si

è in presenza di elementi direttamente agenti sull'animale – traumi, ferite, ecc. - lo stress si instaura in seguito appunto ad una situazione ambientale negativa.

Le caratteristiche dell'ambiente

Il principio di benessere/malessere, come detto, chiama in causa il ruolo dell'ambiente, pertanto le caratteristiche costitutive dello stesso sono gli elementi che si devono considerare allorquando si deve valutare l'effetto prodotto sugli animali.

Gli elementi da considerare di un ambiente saranno molteplici e variabili e il giudizio sarà da parametrare in relazione alla specie animale interessata e alla situazione generale (spazio libero, chiuso, gabbia, ecc.):

lo spazio disponibile da parametrare con la mole somatica della specie oggetto della cattività;

la possibilità di movimento confrontando lo spazio con le caratteristiche proprie di vita dell'animale;

la tipologia, la qualità della struttura;

la tipologia edilizia, caratteristiche dei materiali;

la presenza di eventuali deterioramenti strutturali

la coibentazione, il riscaldamento, la protezione dal caldo e dal freddo

le caratteristiche di luminosità e illuminazione

la superficie dei pavimenti e la qualità dei materiali

le condizioni igieniche generali

la modalità di somministrazione di cibo e acqua

la qualità del cibo

la sistemazione degli animali (singoli in gruppi a coppie)

la presenza di accessori quali tane, luogo di riposo;

la possibilità di avere comportamenti specie specifici propri.

Un'attenzione particolare richiedono i cosiddetti “**arricchimenti**” in quanto è ormai accettato scientificamente che le negatività del confinamento degli animali possono essere in parte moderate fornendo degli oggetti – da individuare come quelli più utili per ogni diversa specie - definiti come “arricchimenti”. Lo scopo è quello di permettere l'esercizio di alcune facoltà direttamente collegate alla funzione intellettiva e cerebrale, quale gioco, curiosità, esplorazione. Il loro ruolo è riconosciuto positivo per tutti gli animali privati della libertà e confinati in ambiti ristretti, per tutte le specie, da quelle esotiche su cui, tra gli altri, hanno scritto Iossa G, Soulsbury CD & Harris, S. 'Are wild animals suited to a travelling circus life?', *Animal Welfare*, 18, (pp. 129-140), 2009. ISSN: 0962-7286; ai pesci (Huntingford FA, Adams C, Braithwaite VA, et al. 2006. Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*68(2):332-72); agli uccelli (Foster Smith – Behavior Problems Pay be Linked to Your Bird's - www.fostersmith.com).

Anche per i cani e i gatti nelle abitazioni familiari il principio è ormai accettato: K.A. Houpt “Il comportamento degli animali domestici” 2000, EMSI

Le cinque libertà

Il ruolo dell'ambiente è anche alla base delle cosiddette “cinque libertà” che sono state espresse per la prima volta dal Brambell Report del 1965, riprese da British Farm Animal Welfare Council nel 1979 e ampliate dallo stesso nel 1992 ¹ :

libertà dalla fame e dalla sete e dalla cattiva nutrizione, garantendo un facile accesso ad acqua fresca e una dieta che mantenga piena salute e vigore;

libertà dal disagio, che comporta un ambiente appropriato che includa un riparo e una confortevole area di riposo;

libertà dal dolore, ferite, malattie con prevenzione e rapida diagnosi e terapie;

libertà di esprimere un comportamento specie specifico naturale, provvedendo spazio sufficiente, attrezzature appropriate e la compagnia di animali della stessa specie;

libertà dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la

¹ **Farm Animal Welfare Council** 1992 FAWC updates the five freedoms. *Veterinary Record* 131: 357

sofferenza mentale.

Dovendo valutare sulla base delle caratteristiche etologiche, esse rappresentano, complessivamente, i bisogni fondamentali che permettono di realizzare situazioni artificiali il più possibile vicine alla vita naturale.

Le cinque libertà si basano sul rispetto dei principi basilari etologici e fisiologici.

In particolare si evidenzia come per **la prima libertà** gli elementi di riferimento siano la quantità e la qualità dell'acqua disponibile (pulita, non inquinata), il cibo adeguato (all'età, alla specie, al momento fisiologico - es. gravidanza, allattamento-, alle abitudini e ai bisogni naturali).

Per la seconda è importante il rispetto della necessità di un luogo per il riposo che sia tranquillo e di un riparo dove l'animale possa eventualmente nascondersi per non dover essere sottoposto continuamente alle sollecitazioni di stimoli esterni. Anche il rispetto delle caratteristiche naturali, come porre attenzione alla vicinanza di prede e predatori rientra sotto questo punto, così come le condizioni igieniche dell'ambiente o della gabbia in cui sono mantenuti gli animali.

La terza evidentemente risiede nel porre attenzione alle condizioni degli animali con una frequenza che permetta di rilevare con celerità situazioni di sofferenza per intervenire tempestivamente.

La quarta si basa sui comportamenti naturali che Bernard Rollin nel libro "Il lamento inascoltato" (edizioni Sonda, 2011) elenca come: "*condizionamento e apprendimento, capacità sensoriali, abitudini generali, comportamento riproduttivo, comportamento di alimentazione e comportamento sociale*". In questa libertà rientra il rispetto della tipologia della vita degli animali: gli animali sociali, che in natura vivono in gruppo, dovranno essere mantenuti in tale condizione, al contrario dei predatori, che saranno stabulati individualmente come avviene allo stato libero. Ugualmente è importante il rapporto con i conspecifici.

Infine **la quinta libertà** è negata ogni qual volta le condizioni di mantenimento non permettono all'animale di sottrarsi all'esperienza negativa che scaturisce dal loro innato senso di timore nei confronti dell'essere umano. Inoltre si genera paura e angoscia come conseguenza dell'impossibilità di sviluppare l'esercizio delle funzioni cerebrali, per mancanza di stimoli, quando l'attività intellettuale viene depressa e pertanto l'animale subisce una imposizione a cui non sa mettere rimedio.

Per il rapporto di reciprocità che esiste tra il concetto di benessere e di malessere, esse assumono una duplice valenza, in quanto se indicano i bisogni di cui occorre garantire il soddisfacimento, il mancato rispetto di tali bisogni genera condizioni di alterazione dello stato degli animali permettendo di valutare quale sia il possibile danno inflitto all'animale, cioè il malessere indotto.

Anche se non si è in presenza di sintomi patognomonicamente di sofferenza, il mancato rispetto di una o più libertà segnala indiscutibilmente il fatto che lo stato di malessere esiste perché stanno venendo meno i bisogni fondamentali per gli animali la cui mancanza darà luogo, se non vi saranno interventi in senso contrario, a conseguenze negative per l'animale.

Il contenuto delle cinque libertà è oggetto di applicazione in molteplici situazioni di mantenimento degli animali e per tutte le specie poiché rappresentano bisogni insopprimibili.

Così Iossa² e coll sostengono che "*è utile confrontare il benessere degli animali da circo con il benessere degli altri animali in cattività, utilizzando ad esempio, i criteri elaborati dal Farm Animal Welfare Council (1992), che si basano sulle 'cinque libertà*" e Huntingford³ ne propone l'utilizzo anche per giudicare del benessere dei pesci. Sono parametri utilizzati anche per valutare le

² Iossa, G, Soulsbury, CD & Harris, S. 'Are wild animals suited to a travelling circus life?', *Animal Welfare*, 18, (pp. 129-140), 2009. ISSN: 0962-7286

³ Huntingford FA, Adams C, Braithwaite VA, et al. 2006. Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology* 68(2):332-72.

condizioni degli animali nel macello e nelle macellazioni (Conti et al.)⁴.

Riflessioni sulle norme vigenti

Relativamente al rispetto della normativa vigente l'analisi del caso in questione presenta alcune particolarità. Poiché lo stabulario non era in possesso della necessaria autorizzazione ad operare esperimenti con animali, fa venir meno le misure previste dal Decreto Legislativo 116 del 1992 e pertanto le norme di riferimento diventano, in mancanza di altre leggi specifiche interessanti le specie in oggetto, quelle relative al maltrattamento in generale, contenute nella legge 189/04 sulla base del principio che è ammesso ciò che non è reato ai sensi della legge citata.

L'articolo 544-ter. della legge 189/04 - (Maltrattamento di animali). Recita: “ *Chiunque, per crudeltà o senza necessità, cagiona una lesione ad un animale ovvero lo sottopone a sevizie o a comportamenti o a fatiche o a lavori insopportabili per le sue caratteristiche etologiche*”.

Il collegamento stabilito nella legge tra etologia e comportamento richiede un approfondimento del termine . L'accostamento del lemma con “lavori e fatiche” indurrebbe a considerare come fattore da valutare quei comportamenti che l'essere umano impone agli animali (si pensi ad esempio alle corse, competizioni, esercizi di vario tipo). Però proprio il collegamento con l'etologia deve portare a riflettere sul significato che il termine assume in tale contesto.

L'etologia si è sviluppata come scienza collegata alla biologia in seguito ai lavori di Konrad Lorenz il quale studiando il “comportamento” degli animali ha iniziato a descrivere i caratteri fondamentali che contraddistinguono la vita libera (naturale) degli animali.

Tali “comportamenti” sono le attività basilari degli stessi animali che si possono riassumere nelle categorie di ricerca del cibo e del partner, modalità di accoppiamento, cura ed educazione delle prole, attività di gioco e di ricerca, esplorazione dell'habitat. Si può ricordare quanto riportato in precedenza, riprendendo l'elenco di Bernard Rollin già citato “*condizionamento e apprendimento, capacità sensoriali, abitudini generali, comportamento riproduttivo, comportamento di alimentazione e comportamento sociale*.”

Come si può constatare non si tratta di attività “imposte” dall'esterno bensì di azioni innate o imparate dai genitori, e anche la caratteristica di essere innate è stata descritta dal Lorenz.

Risulta pertanto evidente che il termine di “comportamento” vada inteso, in senso etologico, in una chiave bivalente, ovvero rapportato ad eventuali azioni imposte dall'uomo ma anche a quelle attività proprie dell'animale e che non sono determinate dagli esseri umani.

In seguito alle osservazioni, l'etologia è arrivata alla compilazione di quello che è stato chiamato “etogramma” ovvero l'insieme dei comportamenti naturali di un animale delle singole specie, e per contrasto è riuscita a catalogare quelle variazioni dall'etogramma – definite “etoanomalie” ovvero “comportamenti” anomali rispetto alla natura dell'animale - che segnalano una situazione di non soddisfazione dell'animale rispetto alla situazione in cui si trova. Le etoanomalie si manifestano in presenza di uno stress (o distress) e indicano un malessere.

Le etoanomalie sono così state utilizzate per segnalare le condizioni di negatività in cui si trovano gli animali e sono state definite come “indicatori etologici” per cui la loro presenza permette di rilevare uno stato di malessere degli animali.

Rientrano in questa categoria quei movimenti stereotipati, ossessivamente ripetuti senza finalità, ad esempio una ripetuta ed prolungata toelettatura. Tali “comportamenti” quando sono dipendenti dalla condizione di cattività dell'animale diventano una fattispecie esattamente prevista dall'articolo 544 ter della l. 189/04. Ugualmente sono “comportamenti” alterati, segnali di situazioni compromesse, gli atteggiamenti di apatia e di inattività i quali, se non interpretati correttamente, potrebbero apparire privi di significato particolare

Il comportamento come chiave di lettura della condizione degli animali era stato proposto già nel 1985 da Morton e Griffiths⁵, i quali avevano teorizzato la possibilità di pervenire ad una

⁴ **Conti M.B., Rueca F.** “Gli indicatori di benessere animale” in “La macellazione religiosa” a cura di B.Cenci Goga e A.G. Fermani, ed Le Point Veterinaire, 2010

⁵ Morton, D. B. and PXM Griffiths. 1985. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in CX@IUUI@J animals and 811 hphthesis for assessmnt. Vet. Rac. 116:431.

buona indicazione del grado di dolore tramite una accurata misurazione del comportamento.

Quando si analizza la condizione di un animale in cattività, pertanto, non si devono solo valutare le condizioni imposte “attivamente” dall'essere umano, appunto le azioni che vengono richieste all'altro essere vivente, ma anche quanto viene “negato”. La negazione di quello che è possibile in natura, impedito in cattività, diventa un comportamento imposto innaturale quindi non etologicamente corretto. Se ad esempio un animale in natura svolge

una notevole attività di movimento che in cattività non è permessa, ne deriverà un comportamento non etologico.

Il comportamento di un animale pertanto, al variare delle condizioni e al venir meno di quelle naturali, sarà una conseguenza delle scelte imposte per interesse umano. Il comportamento in cattività non è solo quello che l'animale fa ma anche che che non può fare rispetto alla sua etologia. L'impossibilità di manifestare il comportamento etologico diventa un comportamento innaturale o non etologico, un comportamento non espresso diventa un comportamento indice di una situazione compromessa.

Un altro esempio può servire a chiarire ulteriormente il principio: un sintomo etologico di situazione negativa può essere un accentuato torpore o indifferenza agli stimoli esterni, una immobilità: in questo caso l'immobilità è un “comportamento” in quanto attività, cioè non attività, rispetto alla normalità.

A ulteriore esemplificazione del significato del lemma “comportamento” in etologia si possono elencare gli indicatori etologici, ovvero i comportamenti che rientrano nel concetto di etoanomalie e che indicano uno stato di sofferenza dell'animale come diretta conseguenza di una situazione o condizione per lui non soddisfacente:

inibizione di tutte le attività (es. la fuga); reazione di immobilità (freezing); movimenti intenzionali; movimenti e posture ambivalenti; attività a vuoto; attività ridirette; eccitazione; attività di sostituzione; comportamenti nevrotici; stereotipie comportamentali

Come si può facilmente rilevare non si tratta di attività imposte dall'uomo ma di un insieme di azioni sia passive (inibizione delle attività, immobilità, ecc.) sia attive (attività ridirette, eccitazione, stereotipie, ecc.) che sono la diretta conseguenza di situazioni ambientali non idonee che generano tali “comportamenti”.

Sulla base di queste valutazioni si può affermare che da un punto di vista etologico i comportamenti, così come sono citati nell'articolo 544 ter della legge 189/04 si riferiscono non solo alle “azioni” eventualmente imposte agli animali ma anche a quello che viene loro impedito di manifestare allorquando si trovano in condizioni di confinamento imposto dall'esterno.

Per una risposta obiettiva ai quesiti posti sulle condizioni fisiologiche ed etologiche degli animali si devono valutare innanzi tutto le caratteristiche etologiche (naturali) di ogni specie interessata e il giudizio sarà un raffronto oggettivo tra quanto è conosciuto delle condizioni etologiche della specie in questione e quanto invece si realizza nelle condizioni di stabulazione rilevate.

Poiché si tratta di specie diverse tra di loro, è altrettanto evidente che l'etologia sia diversa per ogni singola specie e pertanto l'analisi andrà effettuata facendo riferimento alle caratteristiche etologiche delle diverse specie interessate.

Considerazioni per ogni specie

La situazione dei topi

Nell'esprimere un giudizio sullo stato dei topi all'interno della struttura in oggetto si deve primariamente richiamare alcune delle principali caratteristiche etologiche, in quanto è evidente che quanto meno saranno consentite le espressioni naturali tanto più si realizzeranno condizioni di stress.

Nello stabulario Coronati i topi, al momento del sopralluogo, erano presenti in numero di 124 stabulati in 18 gabbie.

Il topo per natura, ovvero secondo un'analisi etologica, è animale oltremodo attivo, che svolge una notevole attività motoria. In particolare gli è propria una notevolissima capacità

esplorativa, necessaria in libertà per preservare la propria esistenza e procacciarsi cibo, attività che rappresenta anche un esercizio per l'attività cerebrale in quanto si tratta di raccogliere e catalogare nonché sistematizzare i dati che provengono dalle osservazioni effettuate. Gli si riconosce anche una notevole curiosità, funzione anch'essa collegata al ruolo cerebrale in quanto mantiene in esercizio le attività del cervello.

Una riprova dell'indubbia facoltà di utilizzo delle facoltà cerebrali superiori viene ad esempio dall'abilità con la quale risolvono i problemi posti da un labirinto: non solo imparano molto presto come uscirne ma ugualmente arrivano alla soluzione quando il labirinto viene ruotato, a dimostrazione di una notevole capacità intellettuale. (Eibl-Eibesfeld, I fondamenti dell'etologia, Adelphi, 1995).

Un'altra facoltà riconosciuta etologicamente è la predisposizione alla costruzione del nido per ospitare la prole. Il nido assolve anche il ruolo, in determinate condizioni ambientali, di luogo di isolamento individuale per i momenti di sonno o di riposo.

È stato osservato che il topo possiede capacità fisiche di notevolissima portata: sopporta molto bene lunghi periodi di digiuno, è in grado di resistere per tre giorni nell'acqua a zero gradi, può arrampicarsi sui muri fino a 10 metri di altezza, riesce a scavare nel terreno per superare un ostacolo, quale può essere la fondazione di un muro, per risalire una volta superato l'ostacolo. È in grado di distruggere una serie notevole di ostacoli e anche il cemento, mentre il ferro lo può fermare. Le capacità presuppongono una necessità di mantenerle in esercizio e in allenamento.

Il topo ha prevalentemente abitudini notturne; è estremamente rapido nei movimenti (arriva a 12 km/h) considerando che il raggio di azione di ogni individuo non supera i 10 metri alle volte sembrano quasi invisibili, seppure i maschi abbiano la tendenza all'esplorazione di nuovi territori.

Considerazioni di altro tipo rilevano che nei gruppi in natura, costituiti da circa 10 e poco più unità, non si generano casi di aggressività, la quale si manifesta invece quando elementi di altri gruppi vengono introdotti nella famiglia preesistente.

Vive in gruppi con una forte struttura gerarchica ed è difficile trovare, a causa dell'aggressività dei maschi, un gruppo con più di un maschio dominante. Questa aggressività viene influenzata dagli alti livelli di testosterone presente proprio nei maschi e non è raro che i giovani maschi siano allontanati dal gruppo.

Il *Mus musculus* è territoriale e coloniale anche se la territorialità è più marcata allo stato selvatico. I maschi dominanti creano le loro proprie colonie all'interno del territorio, composte da numerose femmine con i loro piccoli. Sono rare le lotte interne alla colonia ma quando aggrediti dall'esterno si difendono in gruppo, tutti insieme lottano contro gli intrusi.

Anche le femmine, specialmente per difendere i cuccioli, manifestano a volte ostilità nei confronti degli altri soggetti ma possono anche dar luogo a forme di collaborazione tra di esse, sia per la costruzione del nido che per l'allattamento nel caso di parti sincroni. I sintomi d'interazione sociale caratteristici della specie (difesa, aggressività, accoppiamento, cure parentali) sono anche i sintomi del loro benessere, quando questi vengono a mancare si ha la comparsa di comportamenti stereotipati (movimenti circolari ripetuti, andatura a salti) che chiaramente indicano uno stato di malessere.

Un tipo di considerazione che è ugualmente utile premettere è se è possibile che i topi soffrano lo stress.

La prima risposta, positiva, viene dalle ricerche stesse di chi ha coniato il termine di stress, come detto in precedenza. Selye (già citato) per individuare il meccanismo di formazione dello stress ha valutato la risposta dei topi. Nei suoi esperimenti iniettava quotidianamente una sostanza a dei ratti sui quali in seguito riscontrò ulcere peptiche, atrofia dei tessuti del sistema immunitario e ingrossamento delle ghiandole surrenali. Anche in seguito alla somministrazione di soluzione fisiologica verificò gli stessi effetti, concludendo che non era la sostanza a provocare le alterazioni, ma il maneggiamento. In seguito constatò che i topi reagivano allo stesso modo se sottoposti a temperature molto elevate o basse, a tossine, a forti rumori e anche ad agenti patogeni.

Molte ricerche in campo medico si basano proprio sullo stress indotto nei topi come base di partenza per ulteriori ricerche, si può ricordare "*Attenuated stress-induced catecholamine release in*

mice lacking the vasopressin V1b receptor - Shuji Itoh, Sakiko Yamada, Toyoki Mori, Takashi Miwa, Katsura Tottori, Yasufumi Uwahodo, Yoshitaka Yamamura, Meiko Fukuda, Koji Yamamoto, Akito Tanoue, and Gozoh Tsujimoto – www. American Journal of Physiology”, o ancora “Risposta allo stress e metabolismo da farmaci nei topi” Roberto Matamoros e Barry Levine, Oxford Journals / Lief Sciences Medicina / Toxicologies sciences / Volume 30, Issue 2, pag.255-263, ed anche “Stress Relief: Lab Mice That Exercise Control May Be More Normal ScienceDaily (Dec. 9, 2008) — Purdue University”.

Pertanto si può affermare scientificamente che i topi possono vivere una situazione di stress indotta da motivi ambientali e dalle condizioni di vita o di maneggiamento.

La valutazione etologica e fisiologica del mantenimento dei topi

Da un punto di vista **fisiologico** il segnale più evidente è la limitazione della possibilità di movimento determinata dalle dimensioni delle gabbie, limitazione che è direttamente rapportabile alla vita naturale della specie, in grado di spostarsi molto velocemente e di coprire un'area di circa 10 metri come areale di pertinenza. Cioè è portata ad esercitare in modo intenso il proprio apparato motorio. La limitazione imposta alla funzione fisiologica determina una diminuzione della funzionalità muscolare. Nelle gabbie non erano disponibili arricchimenti i quali avrebbero potuto incentivare le attività motorie.

Etologicamente la situazione si presentava molto delineata e si rilevavano negatività evidenti rispetto alle necessità etologiche degli animali.

Le caratteristiche delle gabbie. Relativamente alle dimensioni estremamente ridotte e alla situazione generale si allegano alcune immagini con fotografie siglate come carr. 2 box 11 generale, carr 2 box 13, carr. 3 box 8 e carr.3 box 9. Le gabbie in rete avevano tutte le dimensioni uguali a quelle delle immagini accluse.

A causa del confinamento dello spazio e delle ridotte dimensioni delle gabbie, evidentemente, i topi non potevano espletare le loro **funzioni territoriali, esplorazione, curiosità,** ecc., e non era presente all'interno dei recipienti nessun “arricchimento”. La mancanza di tali oggetti contribuisce a non alleviare il mancato esercizio della curiosità.

Gli stessi oggetti possono ugualmente servire a svolgere attività parziali di gioco, attività anch'essa in grado di migliorare le alterate condizioni etologiche indotte dal confinamento.

Anche la condizione di quasi totale oscurità che, sulla base della documentazione prodotta dalla Guardia di Finanza, caratterizzava la struttura influiva negativamente sulle condizioni degli animali, i quali sono animali notturni e per essi il ritmo circadiano è fondamentale per scandire il ritmo vitale, di riposo di giorno e di attività nelle ore notturne. La mancanza di una alternanza, la continua penombra invece di determinare una condizione di tranquillità favoriva uno stato continuo di ansia.

Le conseguenze ascrivibili ad uno stato di stress devono essere valutate nel topo in relazione alle conoscenze specifiche che si hanno delle sue caratteristiche innate.

Trattandosi di animale non pauroso, lo stress non si manifesta come in altre specie con il fenomeno del “freezing” ovvero dell'immobilizzazione, proprio delle specie paurose o timide, ma con stati di eccitazione superiore al normale, così come sarà più reattivo e riottoso al maneggiamento.

Sempre collegato alle caratteristiche etologiche basali è un altro tipo di risposta, che si esprime nel rapporto tra consimili: il topo svolge attività di gioco e in tale attività, in tutti gli animali, esiste una componente conosciuta simulante l'aggressività; tale gioco è naturalmente sottoposto al controllo per un'autolimitazione al fine di non produrre danni ai consimili; se però si è in presenza di una condizione di stress, il meccanismo autolimitante può venire meno e non fermare l'aggressività ad uno stato di esibizione bensì passare ad un attacco vero e proprio.

Tale deriva era tanto più possibile nella situazione data dal momento che il gioco per assolvere appieno la sua funzione di rilassamento, di attività dell'organismo che si svolge al di fuori dei momenti fondamentali della vita, quali l'alimentazione, il sonno ed eventualmente la riproduzione, deve avere un contenuto che si ricolleggi anche alla novità, all'esplorazione, alla conoscenza, tutti particolari assenti nel caso in questione.

La situazione oggettiva all'interno delle gabbie produceva una condizione generale, valida per tutti i box, che induceva una condizione predisponente allo stress: gli animali non avevano modo di espletare alcune funzioni naturali fondamentali, esplorazione, curiosità gioco. Inoltre l'esiguità dello spazio, anche se le dimensioni dei topi erano tipiche della specie e quindi contenute, induceva una forte limitazione alla possibilità di muoversi e all'esercizio fisico, che nella specie è etologicamente notevole.

L'insieme delle limitazioni, la povertà dell'ambiente totalmente privo di oggetti e di arricchimenti, impediva un normale espletamento delle funzioni cerebrali, "dell'intelligenza" degli individui che etologicamente ha bisogno per esercitarsi di stimoli anche ambientali.

La povertà dell'ambiente includeva ugualmente la mancanza di una qualsiasi **tana** o luogo di riposo, in quanto nella gabbia non era predisposto alcun oggetto o struttura di separazione ragion per cui i momenti individuali di riposo non si svolgevano con le caratteristiche fisiologiche fondamentali di sicurezza e tranquillità poiché le presenze plurime inducevano un senso di insicurezza. La dimostrazione della negatività della situazione si ricavava anche dai tentativi di costruire un nido con pochi residui del fieno disponibile.

Il topo è animale da tana, la quale rappresenta rifugio protezione e sicurezza, pertanto la sua mancanza, come in questo caso, obbliga l'animale in una condizione di perenne attenzione ed allerta in quanto ben sa che negli ambiti esterni deve guardarsi dai predatori. Ed etologicamente non riesce a concepire come "tana" il box aperto sull'ambiente.

La negatività della mancanza di un luogo di riposo era acuita dalla composizione sociale dei gruppi, evidentemente realizzati con animali dello stesso sesso, per evitare una riproduzione indesiderata, che però non corrisponde alla costituzione dei gruppi in natura; tale difformità induceva uno stato di insoddisfazione negli animali.

Lo stesso **maneggiamento** cui erano sottoposti per motivi di sperimentazione - inoculazioni, controlli, ecc. - era un motivo di stress, in quanto ripeteva quasi esattamente le procedure con le quali Selye aveva individuato la sindrome proprio a partire dai suoi esperimenti sulla specie.

La **mancanza di igiene nelle gabbie** a pavimento pieno, dove si accumulavano le feci e le urine, oltre al disagio provocato dalle esalazioni delle deiezioni, costituiva una situazione di disagio nei topi così stabiati in quanto essi sono, come tutti gli animali, attenti nel deporre le feci lontano dalla propria tana per non attirare eventuali predatori. La costrizione di non poter espletare una funzione etologica con motivazioni innate iscritte nel patrimonio genetico costituisce un motivo di insoddisfazione e di stress. (Fotografie tavolo box 19 e 20)

Lo stato di stress è testimoniato anche da una particolare caratteristica presente in numerosi topi, ovvero una forma di reazione irritativa ed essudatizia che è localizzata sul loro dorso, forma tipica della specie quando si è in presenza di uno stato di stress.

Topi con tali alterazioni si rilevano nel box 1, 2, 3 , 11, 12.

L'analisi secondo le cinque libertà

L'analisi oggettiva utilizzando il dettato delle "cinque libertà" porta anch'essa ad un rilievo di criticità.

Supponendo che l'alimentazione sia corretta e quindi sana e appropriata, i punti negativi riguardano le altre libertà.

Come già esaminato non vi è *libertà dal disagio, che comporta un ambiente appropriato che includa un riparo e una confortevole area di riposo* in quanto l'ambiente si presentava privo delle componenti adatte a rispondere al dettato della suddetta libertà: mancanza di spazio, assenza di arredi inducenti stimoli, assenza di arricchimenti utili alla funzione di gioco, assenza di un luogo riparato per il riposo. Anche la mancanza di pulizia nelle gabbie interessate costituisce una mancanza di libertà per gli animali coinvolti.

La libertà dal dolore, ferite, malattie con prevenzione e rapida diagnosi e terapie

Un maschio (car 2 box 12) presentava una grave lesione necrotica cutanea, essudatizia nella regione del collo a sinistra simil circolare così pure una femmina (car 3 box 4) aveva gravi lesioni bilaterali nella regione del collo, estese per la quasi totalità della superficie dello stesso, con necrosi della

cute, e una sacca purulenta sub epidermica. Evidentemente in questi soggetti non erano state effettuate rapide diagnosi e terapie ovvero non si era proceduto ad una eutanasia per mettere fine alla sofferenza.

Altri soggetti presentavano forme di compromissione della cute che erano tali da indurre sofferenza negli animali.

Nel contesto quindi non veniva seguito quanto prevede questa libertà, e ulteriori considerazioni sul punto saranno oggetto del quesito specifico che segue.

La libertà di esprimere un comportamento specie specifico naturale, provvedendo spazio sufficiente, attrezzature appropriate e la compagnia di animali della stessa specie era anch'essa impossibile poiché le caratteristiche ricordate in precedenza come componenti della naturalità, dell'etologia, dei topi non erano esercitabili: la curiosità, l'esplorazione, la vita sessuale, il rapporto con i propri simili. La formazione dei gruppi non modificava la situazione in quanto, come detto, essi non erano costituiti in modo etologicamente soddisfacente.

Libertà dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la sofferenza mentale. La violazione di questa libertà dipendeva dalla mancanza di stimoli utili a sollecitare l'esercizio mentale degli animali, gioco, esplorazione, curiosità. A ciò si deve aggiungere che i maneggiamenti necessari per i test acuivano il senso di timore e paura che i topi, come altri animali, hanno nei confronti dell'essere umano. Il non poter rispondere al timore con la fuga, impossibile nelle gabbie, acuiva la paura.

Le cavie

La cavia è un animale sociale e socievole che vive normalmente in coppia; a differenza di molti roditori è un animale diurno estremamente docile che assai raramente graffia o morde e ciò accade solo se molestato oltre il dovuto, comunica con suoni, brontolii e fischi.

Come tutte le prede ha un carattere timido e circospetto, facilmente si spaventa e si stressa e quindi necessita di un ambiente tranquillo. Sono roditori assai abitudinari che non amano i cambiamenti e le novità che per loro sono motivo di stress, anche il semplice cambio della gabbia può diventare motivo di disagio.

Sono creature sociali che hanno bisogno di un continuo contatto fisico con i loro simili, condizione che si può definire un bisogno fisiologico.

Quando sono mantenute in gabbia, le dimensioni considerate come minime sono di centimetri 40 x 80 x 50 cm per un singolo individuo, più grande se i soggetti sono due o più.

Il fondo della gabbia dev'essere solido, in quanto le grate possono ferire i piedi e causare altri tipi di conseguenze, arrivando perfino alle fratture.

Il pavimento continuo deve essere ricoperto da una lettiera di materiale assorbente, che va ripulita periodicamente.

Poiché in cattività il movimento è fortemente impedito, si deve provvedere a predisporre nelle gabbie degli arricchimenti per stimolarne la curiosità, e anche attrezzi, da definirsi indispensabili, per indurre e stimolare il movimento.

Per rispondere alle caratteristiche etologiche all'interno della gabbia è necessaria la presenza di una tana, utile per permettere alla cavia di ritirarsi per riposare e per proteggersi, funzione molto importante in un animale preda nel quale la paura è una caratteristica molto forte. In mancanza si possono verificare stati di tensione dovuti alla paura senza che essa possa trovare modo di porvi rimedio.

Essendo animale predato, lo stato di stress non porta a comportamenti di aggressività verso l'esterno o ad autolesionismo, ma piuttosto ad atteggiamenti di apatia, abulia, immobilismo, "freezing", ovvero segnali che non danno luogo a modificazioni corporee esteriori, quali ad esempio erano visibili nei topi.

Analisi e valutazione della situazione

Le cavie erano sistemate in 33 gabbie, 31 rete e due di plastica, queste ultime, una con pavimento pieno e l'altra di plastica fessurata.

Valutazioni etologiche e fisiologiche

Relativamente alle necessità **fisiologiche** vi sono due elementi da considerare.

Una criticità è riferita alla limitazione delle possibilità di movimento, che erano quasi nulle come si evince anche dalle fotografie dell'Allegato relativo alle cavie.

Inoltre le dimensioni delle gabbie obbligavano ad una posizione non fisiologica nel sonno: infatti non era possibile assumere la posizione latero laterale, cioè sul fianco, che è quella indispensabile per gli animali di tutte le specie, per raggiungere il livello REM, cioè quello più appagante.

Rispetto alle esigenze **etologiche** delle cavie, le condizioni di mantenimento nella struttura in questione presentano molti punti negativi.

La cavia è animale di mole superiore al topo e, come riportato precedentemente, ha carattere docile, timido e pauroso che incide sulle sue risposte comportamentali.

Le gabbie in cui erano contenute le gabbie si presentavano di **dimensione inadatta** alle loro necessità. Non solo erano molto più piccole rispetto alle indicazioni proposte per il mantenimento delle cavie in cattività, ma anche già visivamente si presentavano insufficienti. Al semplice esame visivo si rilevava una larghezza della gabbia appena sufficiente a permettere a due soggetti di stare affiancati e relativamente alla lunghezza si poteva determinare nel doppio della lunghezza del corpo dell'animale.

Solo le due gabbie non contenute nei carrelli presentavano dimensioni più ampie (box n. 25 e 26); in una (box n. 26) erano presenti due soggetti, mentre nell'altra (box n. 25) i soggetti erano 4.

Inevitabilmente, proprio per le ridotte dimensioni, non era previsto all'interno del box alcun **arricchimento** come scale, cunicoli o altro che potesse permettere un'attività di movimento. Neanche nelle due leggermente più ampie erano previsti arricchimenti. Ciò comportava – sicuramente in 31 gabbie - una pressochè totale immobilità dell'animale obbligandolo ad una posizione di decubito sterno-addominale con gli arti posteriori posizionati sotto l'addome. Una conseguenza ancora più grave dovuta alle dimensioni delle gabbie era l'impedimento ad una corretta posizione di sonno. È infatti noto che nel momento del dormire, per aggiungere lo stato di sonno più profondo, la fase REM, tutti gli animali, anche i cavalli il cui riposo in piedi è mitico, devono potersi sdraiare sul fianco ed allungare le gambe o zampe. Nelle gabbie questa posizione era impossibilitata alle cavie che quindi si deve arguire difficilmente riuscivano a raggiungere uno stato di sonno fisiologicamente soddisfacente.

Nei due box posizionati sul tavolo, nel n. 25 la situazione relativamente allo spazio era analoga alle precedenti, mentre leggermente superiore, era nel box n. 26, dove la posizione sterno-addominale poteva essere variata con quella latero laterale.

Un fattore ulteriormente negativo era la tipologia del **pavimento delle gabbie**: essendo di rete non offriva una sufficiente base di appoggio il che, unito alla posizione accucciata imposta dalle dimensioni, portava a premere sulle zampe posteriori che dovevano reggere il peso del corpo non potendo però scaricarlo su di una superficie più larga bensì solo sulle strette maglie della rete, con grave danno arrecato proprio alla parte posteriore in zona metatarsale, come si vedrà esaminando le condizioni fisiche rilevate.

Il particolare viene riportato come negativo anche nelle indicazioni di mantenimento per la cattività in famiglia delle cavie.

Il pavimento era di migliore tipologia nelle gabbie n. 25 e 26: nella prima era formato da una griglia di plastica con setti di separazione larghi circa un centimetro e nella seconda costituita da lettiera.

Sempre la ristrettezza del box, non permetteva la realizzazione di una collocazione di riposo e di riparo, a simulare il concetto di tana. In gabbie completamente esposte all'ambiente esterno, un animale da tana vive in perenne stato di ansia e di allerta, in quanto etologicamente è abituato a ripararsi in un ambito sicuro dove non è continuamente obbligato a porre attenzione ai possibili predatori, come negli ambienti esterni.

La mancanza di un'area di riposo si constatava in tutte le gabbie. Le negatività non erano corrette o

attenuate dalla fruibilità di oggetti di arricchimento, per ovvi motivi di spazio, per cui le attività di esplorazione di esercizio di curiosità non potevano essere espletate in alcun modo, ciò aggravava lo stato di forzata inattività e deprimeva le attività cerebrali.

Poiché la cavia, come detto, è animale oltremodo timido la sua reazione a situazioni di negatività porta più alla demotivazione operativa piuttosto che all'iper eccitazione.

Tale situazione era comune in tutte le gabbie.

Pure l'**alterazione della luminosità**, con attenuazione continua della luce nelle ore diurne, induce una alterazione del ritmo circadiano; le cavie sono animali diurni, che pertanto regolano la loro attività sul periodico ritmo della luce solare: la mancanza di tale ritmicità induce conseguenze sui ritmi vitali confondendone la regolarità. Lo sconvolgimento del ritmo circadiano induce anche altre conseguenze in quanto pure la difesa dai predatori si basa sul ciclo della luce e del buio.

Elemento di valutazione valido per tutte le gabbie.

Anche le attività di laboratorio generavano un elemento di criticità: le cavie sono animali timidi, come detto, e timorosi, per cui le attività di **maneggiamento** necessarie per le attività sperimentali, inducevano uno stato di timore negli animali, al di fuori delle eventuali conseguenze, dirette o indirette, degli esperimenti stessi. Le conseguenze sono evidentemente uguali per tutte le cavie qualunque sia la tipologia della gabbia.

Le cinque libertà Ammesso che la prima libertà (“dalla fame e dalla sete, ecc.) in elenco sia rispettata, i punti critici si focalizzano sulle altre.

Relativamente alla “*libertà dal disagio, che comporta un ambiente appropriato che includa un riparo e una confortevole area di riposo*” si evidenzia che i box erano evidentemente inappropriati dal momento che gli animali erano praticamente impossibilitati a muoversi. Inoltre mancavano, come indicato in precedenza, elementi fondamentali per l'etologia degli animali quali la presenza di un'area di riposo e di una tana.

Libertà dal dolore, ferite, malattie con prevenzione e rapida diagnosi e terapie: anche ammettendo che le pratiche sperimentali non inducessero danni fisici, aspetto che sarà affrontato successivamente, si è rilevata la presenza di danni fisici evidenti agli arti posteriori in un numero elevato di soggetti, precisamente in 49 su 57 presenti, si sono evidenziate delle lesioni agli arti posteriori, lesioni che saranno esaminate nel dettaglio in risposta al quesito successivo.

È evidente che il rilievo di danni fisici visibili, dimostra che non veniva seguito quanto prevede il rispetto di questa libertà.

La *libertà di esprimere un comportamento specie specifico naturale, provvedendo spazio sufficiente, attrezzature appropriate e la compagnia di animali della stessa specie* era anch'essa impossibile poiché le caratteristiche ricordate in precedenza come componenti della naturalità, dell'etologia, delle cavie non erano effettuabili e pertanto la condizione di vita nel confinamento non permetteva di espletare la vita sociale tipica, di usufruire di riposo così come del rapporto tra consimili, delle attività di esplorazione del territorio e dell'ambiente, di gioco. Inoltre le coppie erano dello stesso sesso, ovviamente per non dar luogo ad atti procreativi contrari alla finalità del laboratorio, in contrasto con quelle che avviene in natura, quindi anche sotto questo aspetto vi era una violazione di tale libertà.

Libertà dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la sofferenza mentale. La violazione di questa libertà è dovuta alla mancanza di stimoli utili a sollecitare l'esercizio mentale degli animali, gioco, esplorazione, curiosità a cui si deve aggiungere il maneggiamento per i test che induce un senso di insicurezza e di timore per l'essere umano che è già presente in animali timidi come le cavie.

Criceti

I criceti sono animali prevalentemente notturni, si svegliano al crepuscolo.

Roditori di piccola mole somatica, originari di climi freddi. In natura vanno in letargo in inverno ma in cattività, nelle abitazioni, non lo effettuano. Il criceto è animale solitario che cerca compagnia solo nel periodo della riproduzione. È un animale esplorativo e attivo, molto simile al topo. Nella

cattività domestica si usa inserire arricchimenti come ruote girevoli o simili per soddisfare in parte il bisogno e il desiderio di movimento.

Per quanto riguarda l'apprendimento familiare, la mamma criceto insegna ai suoi cuccioli come rompere il guscio dei semi di girasole per imparare a mangiare da soli. Le cure parentali che i criceti piccoli ricevono dalla loro mamma sono minime, infatti vengono allattati per un certo periodo di tempo ma, appena questi diventano autonomi, devono allontanarsi perché se non lo fanno la madre li potrebbe anche uccidere, tutto questo per motivi di spazio.

In cattività, è necessario che il criceto stia da solo, neppure maschi e femmine possono convivere a lungo se non per il breve periodo dell'accoppiamento.

I criceti sono animali con un innato istinto aggressivo, e si conoscono varie forme di aggressività: vi è una aggressività territoriale, per cui aggrediscono i nuovi arrivati; vi è una forma di difesa dei piccoli; vi è anche una forma di aggressività inter individuale per cui in uno stesso spazio ristretto gli individui lottano tra di loro. L'aggressività può comportare anche atti di cannibalismo del maschio nei confronti dei piccoli appena nati.

Una particolarità è la crescita continua dei denti che pertanto devono essere consumati masticando materiali consistenti. Per questo in cattività se mancano materiali di tale tipo gli animali mordono le sbarre delle gabbie.

Valutazione etologica e fisiologica

La situazione presente nello stabulario è illustrata dalle fotografie dell'allegato.

Le cinque gabbie contenenti i criceti erano di plastica a fondo pieno con lettiera formata da materiale vegetale sulla quale si era accumulata una notevole quantità di residui di cibo non utilizzati, quali pezzetti pane, resti di mangime, e altro. Le feci e le urine rimanevano nella lettiera. Gli animali avevano costruito con il materiale disponibile delle specie di tane.

L'analisi secondo le **esigenze fisiologiche** rilevava l'insufficienza dello spazio disponibile rispetto alla fisiologia di un animale che è molto reattivo, esplorativo e vivace. La ridotta possibilità di movimento agisce sull'apparato locomotorio che non ha la facoltà di espletare le sue normali funzioni.

Per la valutazione etologica, le conseguenze del confinamento vanno rapportate alle caratteristiche proprie della specie. Il criceto in natura è simile al topo come caratteristiche vitali, è cioè vivace esplorativo attivo e curioso.

Nelle condizioni realizzate nello stabulario, gli animali erano impossibilitati a svolgere attività **esplorative** in quanto l'ambiente era oltremodo limitato senza cambiamenti strutturali nel corso del tempo. La negatività non era mitigata dalla presenza di oggetti manipolabili, al di fuori dei residui di cibo che però non costituiscono richiamo ai sensi di un uso come arricchimento.

Etologicamente era condizione negativa **l'illuminazione** dello stabulario, in quanto il permanere di una tenebrosità continua, non permetteva agli animali il rispetto del ritmo circadiano proprio della specie, costituendo pertanto una criticità rispetto ad una delle esigenze naturali fondamentali in quanto veniva alterato il ritmo dell'attività e del riposo.

Una condizione molto negativa era la ridotta **possibilità di movimento**, accresciuta dall'assenza di qualsivoglia oggetto utile a stimolare il moto, tanto più grave se si analizza il fatto che nella detenzione dei criceti viene consigliata la predisposizione all'interno delle gabbie di appositi strumenti per poter esercitare il movimento; allo scopo si usano ruote girevoli. I criceti dimostrano di gradire tale offerta e se ne servono proprio per effettuare quel movimento che per loro è indispensabile.

La scarsità di igiene, determinata dal fatto che le deiezioni non venivano rimosse costituiva un'altra situazione non gradita agli animali in quanto, come detto, gli animali tendono a lasciare le feci, segnali della loro presenza, piuttosto lontano dalla tana per non attirare i predatori e il criceto, che è un piccolo roditore appartiene alla categoria delle prede.

Quindi si deve valutare che il lasciare le proprie tracce nello stesso luogo dove vive viene vissuto dall'animale come obbligo non gradito e causa di ansia poiché non riesce a soddisfare un proprio istinto naturale.

Valutazione secondo le cinque libertà

Amnesso che la prima libertà in elenco sia rispettata, i punti critici si focalizzano sulle altre.

Libertà dal disagio, che comporta un ambiente appropriato che includa un riparo e una confortevole area di riposo: nel caso dei criceti gli animali stessi hanno provveduto a realizzare un'area individuabile come riparo e riposo, con ciò però sottolineando la mancata attenzione da parte del conduttore dello stabulario. La scarsa igiene conseguente alla non rimozione delle deiezioni rappresenta una negatività rispetto alla libertà citata.

Libertà dal dolore, ferite, malattie con prevenzione e rapida diagnosi e terapie. Relativamente ai criceti non si rilevano particolari problematiche su questo punto, anche se saranno oggetto di valutazione successiva le conseguenze indotte dalle pratiche sperimentali.

La libertà di esprimere un comportamento specie specifico naturale, provvedendo spazio sufficiente, attrezzature appropriate e la compagnia di animali della stessa specie. I criceti, si è detto, sono animali solitari e quindi la collocazione di un solo animale per gabbia non era per essi negativa, tuttavia lo spazio era insufficiente ed erano assenti oggetti di arricchimento utili per svolgere movimento, ragion per cui questa libertà non era garantita. L'illuminazione continuamente di bassa luminosità, variando tra il buio totale e quello solo in parte attenuato dalla luce del giorno che non poteva filtrare essendo le finestre oscurate dai battenti esterni delle persiane, negava anch'essa la libertà di un comportamento specie specifico naturale in quanto questi animali hanno una tendenza innata a seguire il ritmo circadiano, essendo animali notturni.

Libertà dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la sofferenza mentale. Relativamente a questa libertà, la situazione rilevata non rappresentava il soddisfacimento della stessa in quanto le condizioni di vita e l'ambiente non permettevano agli animali di avere un equilibrio mentale tale da non indurre la sofferenza in quanto la qualità della loro vita era lontana dalle abitudini naturali e pertanto si manifestava uno stato di ansia e di insicurezza. Timore e paura erano anche generate dai maneggiamenti cui erano sottoposti.

Lo stato di tensione mentale era anche denunciato dalla facilità con la quale i criceti rispondevano alle sollecitazioni esterne cercando di morsi.

Conigli

Il coniglio domestico mantiene molti comportamenti tipici del coniglio selvatico come l'accoppiamento post partum, il comportamento materno, la costruzione del nido, le reazioni neonatali e l'organizzazione sociale.

Le femmine costruiscono il nido dove partoriscono piccoli immaturi; sia in natura che in allevamento la femmina allatta i piccoli pochi minuti al giorno.

Il coniglio possiede circa 100 milioni di cellule olfattive (l'uomo ne possiede circa 30 milioni) ed il loro olfatto è molto importante specialmente nella vita sociale e sessuale. Infatti molti segnali sono trasmessi mediante la produzione di feromoni. I feromoni, secreti dalle ghiandole anali durante la defecazione e quando l'animale si siede, consentono il riconoscimento dei membri del gruppo e fungono da segnale per eventuali individui estranei. Le feci sono depositate in punti specifici all'interno del territorio e sui confini. Le secrezioni delle ghiandole mandibolari fungono da marcatori territoriali per l'ingresso delle tane ed il confine del territorio e da marcatori sociali per il dorso delle femmine e dei piccoli. Lo sviluppo di queste ghiandole e la loro attività variano in funzione dello stato di dominanza e del sesso del soggetto. Le fattrici rilasciano un feromone mammario che stimola i piccoli a succhiare il latte mentre l'odore dei piccoli stimola la madre ad avvicinarsi al nido. Le grandi orecchie che si possono muovere in modo indipendente consentono la rilevazione di fonti sonore senza muovere la testa. Il battere ripetutamente il terreno con una zampa posteriore è segno di allarme per gli altri componenti del gruppo. La vista è buona anche se a distanza ravvicinata il cristallino ha una ridotta capacità di accomodamento. Il tatto è molto importante poiché le vibrisse poste sul muso aiutano il coniglio ad orientarsi nel buio della tana.

Cenni di etologia

Il coniglio si alimenta prevalentemente all'alba ed al tramonto e ad intervalli durante la notte per evitare i predatori, specialmente quelli provenienti dal cielo. I loro incisivi crescono di circa 1-2 mm alla settimana e se non vengono consumati regolarmente si possono sviluppare gravi problemi. A seconda della qualità del cibo, un coniglio può consumare circa 5-10% (di sostanza secca) del suo peso corporeo al giorno. L'enzima cellulasi, prodotto dai batteri presenti nel cieco molto sviluppato, aiuta la conversione della cellulosa in glucosio e produce feci morbide (ciecotrofo) che, essendo ricche di batteri, rappresentano una fonte di aminoacidi essenziali e di vitamine del complesso B e vitamina K. La ciecotrofia è un comportamento tipico del coniglio che consiste nella ingestione del ciecotrofo prelevato direttamente dall'ano; tale comportamento necessita l'adozione di una particolare posizione. In natura i conigli assumono la quota di acqua necessaria con l'erba fresca ma in cattività è necessario somministrare acqua fresca per l'abbeverata. Saltare è una tipica azione locomotoria dei conigli; un coniglio di medie dimensioni può compiere balzi di 70 cm. Fino ad 1 metro e correre fino a 30 Km/h. A seconda del grado di rilassamento il coniglio può riposare in posizione accucciata (sdraiato allerta), con le zampe posteriori allungate lateralmente o posteriormente oppure in decubito laterale con le zampe estese. I conigli riposano per 12-18 ore al giorno ad intervalli di tempo regolari.

Per il *grooming* – la toelettatura del pelo – i conigli usano i denti, la lingua e le zampe. Si leccano il mantello con movimenti della testa, si lavano il muso e le orecchie leccandosi le zampette anteriori. A causa dell'alta pressione predatoria, il coniglio è un animale che sta sempre allerta ed interrompe regolarmente l'attività per verificare l'ambiente, sedendosi od alzandosi sulle zampe posteriori con le orecchie tese in alto in direzione di eventuali stimoli.

Gli adulti **vivono in gruppi sociali** stabili composti da 2-10 individui adulti ed un numero variabile di piccoli sotto i tre mesi con una gerarchia lineare che si stabilisce tra le femmine. In generale maschi e femmine adulti sono tolleranti nei confronti dei soggetti giovani, ma a seconda della densità della popolazione, le femmine possono diventare aggressive nei confronti dei giovani soprattutto verso la fine del periodo riproduttivo. I conigli selvatici nel loro ambiente naturale e conigli domestici allevati in recinti allo stato semi naturale, vivono in gruppi familiari stabili di tipo matriarcale composti da 2-9 fattrici, 1-3 maschi adulti, i loro piccoli ed eventualmente, qualche giovane maschio. In caso di abbondanti fonti trofiche, gruppi di conigli selvatici possono unirsi in vaste colonie di centinaia di animali occupando un territorio di molti ettari. Sia i maschi che le femmine mostrano una dominanza gerarchica lineare. All'interno dello stesso gruppo, i soggetti dominanti hanno un maggior successo riproduttivo rispetto ai soggetti subordinati dello stesso sesso. Una volta stabilita la gerarchia, essa rimane stabile per molti mesi ed è mantenuta da comportamenti di minaccia e sottomissione. In condizioni naturali il periodo riproduttivo coincide con il clima più favorevole che offre anche una maggiore fonte di cibo. La femmina dopo aver partorito e pulito accuratamente la nidiata, copre i piccoli e chiude l'accesso alla tana e lascia i piccoli per tornare nel gruppo. Questa strategia, utilizzata sia in natura che in cattività, protegge dai predatori e da altri pericoli come improvvisi sbalzi di temperatura. La fattrice allatta solo tre minuti al giorno e ciò è sufficiente ai piccoli per crescere. Il comportamento dei piccoli e le loro interazioni con la femmina possono basarsi su di un processo tipo imprinting in cui i feromoni della madre attraggono i piccoli. Nelle femmine allevate in gruppo non è stata evidenziata la capacità di riconoscere la propria nidiata e viceversa. Quando i piccoli lasciano il nido all'età di 12-15 giorni tenteranno di succhiare da altre femmine e le femmine regolarmente allattano piccoli che non sono i loro. Dal punto di vista evolutivo, non vi è ragione per la femmina di sviluppare strategie per riconoscere la propria nidiata dal momento che viene partorita nella tana.

Il momento del parto è delicato, comportamenti materni anomali come la mancata costruzione del nido, il parto fuori dal nido od il cannibalismo possono essere dovuti a variabili ambientali come l'igiene, spazio disponibile, rapporto uomo animale, temperatura, umidità, luce, tranquillità, presenza di persone estranee nell'ambiente.

La valutazione etologica e fisiologica

Le condizioni di stabulazione sono visibili nelle fotografie dell'allegato rigaurdanyte i conigli.

La **valutazione fisiologica** mette in luce la carenza relativa alla possibilità di movimento con conseguente ripercussioni sull'apparato motorio, che è ben sviluppato tale da permettere, come detto, velocità di circa 30 chilometri all'ora a salti fino ad un metro di altezza. L'inattività forzata quindi deprime la funzionalità dell'apparato locomotore .

Lo spazio disponibile non era sufficiente ad assumere una posizione corretta per il sonno: i conigli possono riposare in posizione accucciata (sdraiato allerta), con le zampe posteriori allungate lateralmente o posteriormente oppure in decubito laterale con le zampe estese. Entrambe le ultime posture erano praticamente impossibilitate nella loro piena espressione e i conigli dovevano assumere posizioni non fisiologiche e quindi potevano raggiungere lo stadio più profondo e riposante di sonno, quello Rem.

Per la **valutazione etologica** si deve ricordare che il coniglio è un **animale sociale** che in natura vive in gruppo per cui l'essere rinchiuso in una gabbia da solo, come avveniva per 6 degli 8 presenti, costituisce una privazione di una caratteristica etologica; si induce conseguentemente uno stato di insoddisfazione e anche di insicurezza in quanto il gruppo rappresenta una situazione che conferisce tranquillità all'animale il quale, essendo una preda trova nella condivisione del pericolo una maggior sicurezza individuale.

La stessa considerazione vale per i due soggetti all'interno di una stessa gabbia in quanto il numero non è tale da poter conferire ai soggetti la sensazione di essere in un gruppo che in natura è più numeroso.

Le **gabbie erano sottodimensionate** come spazio disponibile e al loro interno gli animali potevano a mala pena fare pochissimi movimenti; se si considera che il coniglio è in grado di muoversi in maniera agile e velocemente, fino a 30 km all'ora, sia effettuare balzi, caratteristici del suo comportamento, fino a 1 metro, si deduce che la costrizione impediva qualsivoglia attività etologicamente propria della specie animale.

La gabbia era spoglia senza alcun oggetto all'interno, e il confinamento in spazi ristretti rendevano impossibile agli animali sviluppare la stimolazione propria di ogni animale quando viene in contatto con situazioni o oggetti diversi e nuovi. La mancanza di oggetti di arricchimento non permetteva di alleviare le negatività ambientali né offriva possibilità di esercizio delle facoltà cerebrali.

Non era previsto una **spazio di riposo**, in quanto questo dev'essere un giaciglio identificabile dall'animale come sito specifico e dotato dagli elementi fondamentali che ne caratterizzano la funzione di riposo in situazione di isolamento: la gabbia spoglia e uniforme non permette certo di poter essere individuata come spazio specifico di riposo.

Infine i **maneggiamenti** cui erano sottoposti per le prove di laboratorio contribuivano ad accrescere l'innato senso di timore proprio di questa specie. È di particolare interesse il fatto che nelle motivazioni che possono indurre un comportamento alterato nei conigli, ad esempio nel momento della maternità, siano annoverati: igiene, spazio disponibile, rapporto uomo animale, temperatura, umidità, luce, tranquillità, presenza di persone estranee nell'ambiente. Come si può constatare alcuni degli elementi citati erano presenti nello stabulario e dei conigli: spazio disponibile e luminosità insufficiente, la tranquillità disturbata dai maneggiamenti. Se i fattori indicati possono generare comportamenti anormali ne consegue che essi determinano alterazioni dell'omeostasi del coniglio e quindi generano una condizione innaturale anche se non danno luogo a etoanomalie visibili, in quanto non si possono manifestare date le condizioni ambientali imposte. Però l'alterazione provocata rimane comunque come danno della condizione vitale dell'animale.

Secondo le cinque libertà

Amnesso che la prima libertà (dalla fame dalla sete, ecc..) sia rispettata, i punti critici si

focalizzano sulle altre.

Libertà dal disagio, che comporta un ambiente appropriato che includa un riparo e una confortevole area di riposo. Le gabbie dei conigli erano totalmente spoglie prive di qualsiasi contenuto che potesse conferire confortevolezza all'ambiente. Mancava una vera e propria area di riposo identificabile come tale dall'animale.

Libertà dal dolore, ferite, malattie con prevenzione e rapida diagnosi e terapie. Relativamente ai conigli non si rilevano particolari problematiche su questo punto, anche se saranno oggetto di valutazione successiva le conseguenze indotte dalle pratiche sperimentali

La libertà di esprimere un comportamento specie specifico naturale, provvedendo spazio sufficiente, attrezzature appropriate e la compagnia di animali della stessa specie . Tale libertà era impossibilitata poiché le caratteristiche ricordate in precedenza come componenti della naturalità, dell'etologia, proprie dei conigli non erano effettuabili: attività di esplorazione, di vita sociale di riposo secondo le caratteristiche naturali, alle quali va aggiunta una disponibilità insufficiente di spazio.

Libertà dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la sofferenza mentale. Il non rispetto di tale libertà dipende dall'insieme delle condizioni imposte le quali non permettevano agli animali di raggiungere uno stato di omeostasi, di equilibrio, e pertanto vivevano in uno stato di ansia e di insicurezza e quindi di sofferenza mentale. I continui maneggiamenti necessari per gli esperimenti contribuivano ad aumentare la sensazione di insicurezza. Lo stato di sofferenza mentale veniva anche indotto in modo particolare dalla condizione di vita lontana dalle abitudini etologiche in animali come i conigli che per loro natura sono di indole timorosa. Infine anche l'impossibilità di poter dormire in modo fisiologicamente corretto generava uno stato di ansia e insoddisfazione che generavano uno stato di timore.

Riassunto generale

Per quanto concerne il quesito “*se le condizioni di mantenimento degli animali fossero compatibili con le loro caratteristiche etologiche e fisiologiche e con le norme vigenti*” si rilevavano numerose negatività in riferimento alle necessità fisiologiche ed etologiche degli animali delle diverse specie, come dal riassunto che segue.

Topi.

Il mantenimento si prestava ad un giudizio negativo per quanto concerne la **funzionalità fisiologica** dell'apparato locomotorio.

Assai più rilevanti erano le negatività etologiche.

Agli animali era impossibile svolgere funzioni etologiche naturali, curiosità, gioco, rapporti tra i sessi, esame dell'areale naturalmente esplorato, la mancanza di arricchimenti, di una tana e di un luogo di riposo, il maneggiamento cui erano sottoposti, e in alcune gabbie si aggiungeva il disagio provocato dalla mancanza di igiene.

La criticità era testimoniata dalla presenza di tipiche lesioni dorsali caratteristiche nelle forme di stress dei topi.

Nel complesso le condizioni di mantenimento causavano uno stato di stress – distress – negli animali e quindi si sofferenza.

Anche l'analisi della situazione con il metro delle **cinque libertà** individua

Risultavano negate più libertà, quella dal “disagio” per la mancanza di spazio, assenza di arredi inducenti stimoli, assenza di arricchimenti utili alla funzione di gioco, assenza di un luogo riparato per il riposo. Anche la mancanza di pulizia nelle gabbie interessate costituisce una mancanza di libertà per gli animali coinvolti.

Così pure era negata la “*libertà dal dolore, ferite, malattie con prevenzione e rapida diagnosi e terapie*” in quanto come si evidenzia dal materiale fotografico accluso e senza approfondire in questo momento l'argomento, la presenza di lesioni a vari livelli corporei dimostra inequivocabilmente che o non si era posto rimedio o l'eventuale rimedio non era servito ma in ogni

caso non era stata garantita la libertà dal dolore provocato dalle lesioni.

Certamente era ugualmente negata la *libertà di esprimere un comportamento specie specifico naturale, provvedendo spazio sufficiente, attrezzature appropriate e la compagnia di animali della stessa specie* poiché le caratteristiche ricordate in precedenza come componenti della naturalità, dell'etologia, dei topi non erano dispiegabili: la curiosità, l'esplorazione, la vita sessuale, il rapporto con i propri simili. La formazione dei gruppi non modificava la situazione in quanto, come detto, i gruppi non erano etologicamente formati in modo soddisfacente, dal momento che, per ragioni insite nell'interesse del laboratorio, i gruppi erano dello stesso sesso.

Pertanto neppure la quinta libertà, *dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la sofferenza mentale*, era garantita in quanto le complessive condizioni di vita a cui si devono aggiungere i maneggiamenti inducevano un senso di insicurezza nei topi che si aggiungeva al timore nei confronti delle persone umane che hanno tutti gli animali e che è particolarmente vivo in soggetti di piccola mole. Il timore degli umani è osservabile praticamente in quanto alla vista di una persona è evidentissima al reazione di fuga dei topi.

Si può quindi affermare che i topi erano mantenuti in condizioni che non rispettavano i bisogni fisiologici ed etologici degli animali e ne inducevano stress e sofferenza.

Cavie

Relativamente alle necessità **fisiologiche** la criticità è riferita alla limitazione delle possibilità di movimento, che erano quasi nulle come si evince anche dalle fotografie dell'Allegato relativo alle cavie. Per le cavie si rilevava anche una posizione antifisiologica relativa al sonno, in quanto non era possibile per esse assumere la posizione coricata sul fianco, per mancanza di spazio, posizione necessaria e indispensabile per gli animali di tutte le specie, anche per il cavallo noto per il sonno breve, per raggiungere il livello REM di sonno, cioè quello più appagante.

Rispetto alle esigenze **etologiche** delle cavie, le condizioni di mantenimento nella struttura in questione presentano molti punti negativi.

La **dimensione inadatta** delle gabbie obbligava ad una immobilità pressochè continua, e non vi era alcun oggetto di arricchimento. Ovviamente, sempre per carenza di spazio, non era disponibile un'area individuabile come dedicata al riposo e la posizione stessa per il riposo era innaturale.

Il **pavimento delle gabbie** – di rete - costituiva a sua volta un danno agli arti posteriori, come si evidenzia anche dalle fotografie raccolte nell'Allegato 2.

Le negatività non erano corrette o attenuate dalla fruibilità di oggetti di arricchimento.

Pure **l'alterazione della luminosità**, incidevano negativamente sul benessere degli animali, alterandone il ritmo vitale circadiano.

Infine anche il **maneggiamento induceva delle conseguenze.**

Nell'insieme si generavano condizioni di stress – distress – per tutti gli animali.

Con il metro delle **cinque libertà** si evidenzia il mancato rispetto della libertà dal disagio, dovuto nello specifico, alle condizioni delle gabbie, estremamente ridotte, che non permettevano movimenti all'animale e certamente non la possibilità di avere un'area di riposo. Gli animali dovevano mantenere quasi sempre a stessa posizione proprio per mancanza di spazio.

Naturalmente, viste le condizioni della stabulazione, non era rispettata la libertà del *comportamento specie specifico naturale* in quanto non erano effettuabili l'espressione della curiosità, della vita sociale, del riposo.

Pertanto anche la *Libertà dalla paura e dall'angoscia, assicurando condizioni e trattamenti che evitino la sofferenza mentale*, non era garantita in quanto gli animali erano in condizioni di timore e di angoscia non potendo soddisfare i propri bisogni naturali e dovevano subire i maneggiamenti, necessari per l'effettuazione degli esperimenti, che aumentavano il loro stato di timore.

Per quanto riguarda le cavie, le condizioni di mantenimento negavano i bisogni fondamentali etologici e fisiologici e ne derivava una situazione che induceva stress e quindi sofferenza agli animali.

Criceti

Fisiologicamente anche i criceti, disponendo di uno spazio limitato, non potevano sviluppare pienamente le funzioni dell'apparato locomotorio.

Etologicamente, come detto in precedenza, le privazioni per gli animali riguardavano l'impossibilità di svolgere naturale attività di esplorazione, movimento nonché rispondere al proprio comportamento relativo all'igiene, in quanto le feci erano obbligatoriamente depositate nella gabbia insieme e vicino ai resti del cibo. Anche l'illuminazione non era confacente al ritmo di vita naturale proprio di questa specie.

Utilizzando le **cinque libertà**, relativamente alla seconda, dal **disagio**, si osserva che la proprietà non ha provveduto a realizzare un'area di riposo, che è stata costruita dagli animali stessi. Rispetto a questa libertà la scarsa igiene e la non rimozione delle deiezioni ne rappresentano una violazione.

In riferimento alla libertà di *esprimere un comportamento specie specifico naturale*, si rileva come lo spazio fosse ridotto per le esigenze di movimento degli animali, negatività non attenuata dalla presenza di arricchimenti che infatti mancavano. Anche la condizione di una perenne bassa luminosità negava la possibilità di un comportamento specie specifico naturale in quanto questi animali hanno una tendenza innata a seguire il ritmo circadiano essendo animali notturni.

Infine la violazione delle libertà dalla paura discende dal fatto che le condizioni di vita e dell'ambiente, accompagnati dai maneggiamenti inducevano un senso di insicurezza negli animali che si aggiungeva al timore nei confronti delle persone umane che hanno tutti gli animali, e che i criceti in particolare manifestano anche tentando di morsicare.

Anche relativamente ai criceti, le condizioni di mantenimento non rispettavano i bisogni fisiologici ed etologici degli animali e ne inducevano stress e sofferenza.

Conigli

Fisiologicamente si evidenziava l'impossibilità di movimento con conseguente ripercussione sulla funzionalità dell'apparato locomotorio; antifisiologica era pure la posizione cui erano costretti per il sonno.

Per la **valutazione etologica** il riassunto delle negatività sottolinea la negazione del tipo di vita tipico dei conigli, i quali, essendo animali sociali, in natura vivono in gruppo e non singolarmente come nelle gabbie dello stabulario in questione.

I conigli erano inoltre impossibilitati a svolgere le altre funzioni naturali di esplorazione, gioco con i consimili, rapporti tra soggetti diversi, condizione resa più critica dalla mancanza di arricchimenti che rendevano problema l'esercizio delle facoltà mentali.

Lo spazio disponibile rendeva inoltre pressochè impossibile assumere una posizione corretta per il sonno e questo provoca conseguenze anche a livello psichico e si notava pure l'assenza di uno spazio destinato al riposo.

Infine si deve aggiungere che gli inevitabili **maneggiamenti** contribuivano sicuramente ad accrescere l'innato senso di timore proprio di questa specie.

Con il metro delle **cinque libertà**, si individua una carenza relativa alla negazione della libertà di un ambiente appropriato, sia per le dimensioni delle gabbie sia per la mancanza di arricchimenti sia per l'assenza di una vera e propria area di riposo identificabile come tale dall'animale.

Inevitabilmente veniva negata la libertà di esprimere un comportamento specie specifico in quanto i conigli, animali sociali, erano costretti ad una situazione individuale, in spazi angusti e impediti nelle loro tipiche attività : di esplorazione, di socializzazione sociale, di riposo secondo le caratteristiche naturali.

Veniva così ad essere lesa anche la libertà dalla sofferenza mentale, la quale si generava sia per

le condizioni di mantenimento sia per i maneggiamenti per cui sin induceva un senso di insicurezza negli animali che si aggiungeva al timore nei confronti delle persone umane che hanno tutti gli animali e che è particolarmente vivo in soggetti di indole timorosa come i conigli.

Per quanto concerne i conigli, le condizioni di mantenimento non rispettavano i bisogni fisiologici ed etologici degli animali e ne inducevano stress e sofferenza.

Conclusioni finali

La situazione rilevata nello stabulario dimostrava la presenza di numerose negatività, come dettagliato in precedenza, e si evidenziava che le caratteristiche non erano adatte a permettere il rispetto dei bisogni etologici e fisiologici degli animali.

Le condizioni presenti nello stabulario, così come sono state analizzate in precedenza, erano tali da determinare uno stato di stress negli animali e di non rispetto delle cinque libertà, che sono unanimemente considerate metro di valutazione oggettivo per la situazione di cattività degli animali.

Per quanto attiene alle normativa vigente, come detto in precedenza, non essendo lo stabulario del Dr. Coronati autorizzato in base alla legislazione attuale, per giudicare le condizioni di mantenimento il riferimento è la legge 189/04 e precisamente l'articolo 544 ter che si riferisce al comportamento non corrispondente alle esigenze etologiche degli animali.

Sulla base delle conoscenze attuali, si ammette che condizioni ambientali inadeguate e negative inducano conseguenze sul comportamento degli animali, agendo appunto come fattori limitanti le possibilità espressive degli animali e quindi producendo uno stato di criticità e di sofferenza. Laddove per "comportamento" in etologia si intende la normale attività dell'animale, come precedentemente specificato. L'ambiente inadatto e non rispondente alle necessità degli animali inibisce le attività naturali degli animali ai quali vengono pertanto imposti "comportamenti" contrastanti con le loro caratteristiche etologiche.

Nello stabulario del dr. Coronati le tipologie di mantenimento, come in precedenza specificato, analizzate sulla base dell'etologia delle specie interessate oppure con il metro delle "cinque libertà", non permettevano agli animali di manifestare le loro attività naturali (etologiche) basilari.

Le condizioni di stabulazione presentavano un insieme di criticità, sopra descritte, che rendevano l'ambiente causa di stress cronico (o distress) in quanto impedire il comportamento etologico causa sofferenza, come dimostra la letteratura scientifica ufficiale.

Si può pertanto affermare che le condizioni imposte violavano l'articolo 544-ter. della l. 189\04 - in quanto gli animali presenti erano sottoposti ad un mantenimento che le obbligava ad un comportamento insopportabile secondo le caratteristiche etologiche delle specie ospitate.

Si deve altresì considerare che ai fini della valutazione della condizione degli animali non è necessario che si rilevino segni manifesti di malessere e sofferenza, in quanto la legislazione recepisce appieno i riscontri della letteratura scientifica in argomento, che ritiene motivo di sofferenza già di per sé condizioni che non soddisfano ai bisogni etologici e fisiologici degli animali, anche senza la presenza di sintomi di sofferenza.

Infatti è la privazione dei bisogni che induce la sofferenza prima o anche senza la presenza di una sintomatologia specifica di sofferenza.

Quesito:

"Dica il ct quale sia lo stato attuale e la condizione di salute degli animali e quant'altro utile ai fini di giustizia".

Al momento del sopralluogo del 15 febbraio 2011 ho preso visione di tutti gli animali presenti nello stabulario e ho potuto rilevare la condizione generale che essi presentavano.

La valutazione dello stato e della condizione di salute di un animale può essere fatta sulla base di rilievi generali ed eventualmente di esami particolareggiati, eventualmente necessari per chiarire una diagnosi altrimenti non pronunciabile.

Si è proceduto ad un Esame Obiettivo Generale per una eventuale constatazione di segni relativi alla condizione generale degli animali.

All'operazione era presente il perito di parte nominato dal dr. Coronati.

Ho pertanto individuato quanto di seguito riportato.

I topi

Per quanto si riferisce ai topi la situazione si presentava come di seguito elencata.

L'indicazione del numero di carrello e del box, eventualmente accompagnata da una lettera quando vi sono più fotografie relative ad un solo box, è quella che compare anche sulla fotografia stessa.

Carrello 1 box 16: 1 femmina lesione eritematosa – essudatizia e perdita di pelo nella regione costale sinistra di forma ellissoidale.

Carrello 1 box 17 1 femmina con lesione circoscritta lombare destra

Carrello 2 box 11: 1 maschio con lesione eritematosa – essudatizia e perdita di pelo in regione dorsale intermedia tra scapola e lombi, di forma ellissoidale

Carrello 2 box 12: 2 maschi con lesione dorsale inter lombare diffusa estesa eritematosa con necrosi parziale dell'epidermide (1 foto 12 A e 1 foto 12 b in alto a destra)

1 maschio lesione di grave necrosi cutanea nella regione laterale sinistra del collo.

Totale 3 soggetti

Carrello 2 box 14 1 femmina lesione circoscritta regione costale superiore destra

Carrello 3 box 1: 3 maschi con lesione eritematosa con perdita di pelo, parte superiore del dorso in posizione intermedia tra scapole e lombi, in un soggetto con estensione su larga parte del dorso.

Due soggetti presentavano anche lo stesso tipo di lesione nelle ragioni interoculari.

Carrello 3 Box 2: 1 femmina con lesione eritematosa zona regione del collo e interscapolare

Carrello 3 box 3: 3 maschi con eritema più circoscritto alla zona mediana del dorso

Carrello 3 box 4: 1 femmina con gravi lesioni bilaterali sul collo, estese per la quasi totalità della superficie dello stesso, con necrosi della cute, sacca purulenta subepidermica.

Spostata per evitare ulteriori danni provocati dai conspecifici; morta nella notte successiva, tra il 15 e il 16 febbraio. (2 foto)

Carrello 3 box 6: 1 maschio rinvenuto morto. L'animale presentava segni di lesioni purulente in varie parti del corpo.

Carrello 3 box 7: 1 femmina con zona depilata con al centro una ferita circolare con crosta, situata nella parte dorsale destra intermedia.

In totale presentavano lesioni significative di vario ordine e grado, compreso un soggetto morto, 17 topi su 124 presenti, vale a dire una percentuale di circa il 13,7 per cento.

L'analisi rileva forme diversamente variegata in relazione alle conseguenze per gli animali.

In 10 soggetti (1 topo nel Car 2 box 11; 2 topi in Car 2 box 12; 3 topi in Car 3 box 1; 1 topo Car 3 Box 2; 3 topi Car 3 box 3) si rilevavano sulla parte dorsale del corpo, in modo diversamente esteso e con localizzazioni variate, localizzate sul dorso tra le scapole e la base della coda, lesioni cutanee con perdita di pelo accompagnate da eritema, in alcuni casi aggravato da essudato sieroso coagulantesi in croste. Le lesioni si presentavano di una estensione notevole rispetto alla mole corporea degli animali.

In due topi maschi (car 3 box 1) alle forme dorsali si aggiungevano forme di irritazione,

infiammazione intraoculare non essudatizia.

Una femmina (carr1 box 16), presentava una lesione simile alle precedenti, localizzata nelle regione costale sinistra.

Le forme, più numerose, di tipo infiammatorio-essudatizio inducono un notevole stato di sofferenza negli animali. Esse infatti causano uno stato di irritazione e di bruciore che viene recepito dagli animali. Si instaura un circolo vizioso in quanto la dolorabilità induce l'animale a grattarsi, ad esempio contro le pareti della gabbia, e tale azione accresce l'irritazione e l'infiammazione. Può inoltre favorire l'instaurarsi di infezioni in quanto germi ambientali possono venire a contatto con i tessuti interni o con il sangue e diffondersi in tutto l'organismo.

Queste forme presentano un aspetto e una localizzazione che si devono ritenere come tipiche espressioni di risposta dell'organismo ad uno stato di stress, che nei topi presenta tali caratteristiche cliniche e che ha come localizzazione sul corpo quella rilevata nello stabulario.

Tali lesioni possono in seguito ad inquinamento batterico, anche susseguente ad un autotraumatismo indotto dal prurito o dal dolore, complicarsi in forme più gravi.

Una femmina (car 3 box 7) presentava una perdita di pelo senza evidenti segni di infiammazione, con un aspetto che lasciava supporre una depilazione con intervento esterno, con al centro una ferita con crosta formata.

La collocazione della ferita può far arguire che la stessa fosse dovuta alle pratiche di laboratorio, ad esempio una discontinuità indotta nella pelle allo scopo di inserire appunto dei presidi al fine della valutazione della loro compatibilità biologica.

In due femmine (carr 1 box 17 e carr 2 box 14) si rilevava una lesione circoscritta con perdita di pelo in regione lombare destra e costale superiore destra.

Si evidenziavano due forme molto gravi.

Un maschio (car 2 box 12) presentava una grave lesione necrotica cutanea, essudatizia nella regione del collo a sinistra simil circolare.

L'altra forma grave era a carico di una femmina (car 3 box 4) con imponenti lesioni bilaterali nella regione del collo, estese per la quasi totalità della superficie dello stesso, con necrosi della cute, e una sacca purulenta subepidermica. Quest'ultima morta nella notte successiva al rilievo, come è stato riferito.

Lesioni della stessa tipologia erano rilevabili sul topo rinvenuto morto durante l'esame (Carrello 3 box 6).

La tipologia delle lesioni gravi presenta una vasta distruzione del tessuto normale con compromissione dello stato fisico generale che appare fortemente depresso, in quanto l'animale si mostrava meno reattivo e tendeva a mantenere una posizione di scarsa o nulla mobilità, segno evidente di una difficoltà a svolgere una funzione fisiologica normale quale la deambulazione. Il rilievo è molto significativo in quanto il topo è animale molto attivo normalmente e la reazione di scarsa mobilità sottolinea proprio la gravità della situazione.

La localizzazione delle lesioni potrebbe anche far risalire la causa della loro comparsa come esito degli esami effettuati, infatti una delle zone tipiche di esecuzione delle inoculazioni negli animali è proprio la parte laterale del collo, ove avevano sede le lesioni descritte.

La tipologia delle lesioni fa desumere trattarsi di una forma di suppurazione indotta da una proliferazione batterica che può, nella fattispecie di mantenimento degli animali, essere ascrivibile ad una diversa origine. Si può generare infatti come reazione di risposta lenta alle sostanze inoculate per l'espletamento dei test (ipotesi supportata dalla localizzazione delle lesioni che caratteristicamente sono collocate nella zona scapolare, sito di elezione per le inoculazioni negli animali) oppure potrebbe essere la conseguenza di una suppurazione delle forme infiammatorie-essudatizie in seguito ad inquinamento batterico o ad autotraumatismo.

Quale che sia l'origine della lesione, se cioè la complicazione di forme infiammatorie locali oppure in conseguenza delle prove di laboratorio, essa indica uno stato clinico

gravemente compromesso dell'animale.

Il dolore nei topi

Le lesioni rilevate configurano una situazione di dolore per i topi. Essi, come tutti i mammiferi, sono dotati di organi di senso periferici in grado di recepire le stimolazioni dolorose negative e di organi trasmettitori, nervi periferici e centrali, che portano lo stimolo doloroso agli organi cerebrali centrali del cervello. In sintesi questo percorso dello stimolo doloroso è uguale in tutti i mammiferi, pur se varia la complessità degli organi coinvolti, però le ricerche hanno dimostrato la capacità per i mammiferi di recepire come dannose le stimolazioni dannose.

Anche ricerche particolareggiate su altri aspetti vitali e di comportamento dei topi, si basano sulla capacità percettiva della specie delle stimolazioni dolorose. Ad esempio lo studio "Mouse pain study stirs debate" (Janelle Weaver - Published online 29 July 2010 | Nature | doi:10.1038/news.2010.380 News) esamina l'espressione del dolore nella specie sulla base dell'analisi delle espressioni facciali, ovverossia come i topi denunciano stati di dolore diversi (da leggeri a molto forti) anche con le espressioni facciali.

Si reperiscono in letteratura ricerche sulla via di trasmissione del dolore muscolare e cutaneo sulla base delle risposte indotte effettuando stimolazioni diverse "Genetic reduction of chronic muscle pain in mice lacking calcium/calmodulin-stimulated adenylyl cyclases - Kunjumon I Vadakkan, Hansen Wang, Shanell W Ko, Evelyn Zastepa, Michele J Petrovic, Kathleen A Sluka and Min Zhuo -. *Molecular Pain* 2006, 2:7 doi:10.1186/1744-8069-2-7"

O ancora gli studi indagano sulla possibilità di inibire i recettori del dolore nei topi attraverso la somministrazione di sostanze diverse "Mas-related G-protein-coupled receptors inhibit pathological pain in mice Yun Guan, Qin Liu, Zongxiang Tang, Srinivasa N. Raja, David J. Anderson, and Xinzhong Dong - www.pnas.org

Si tratta di semplici esempi ma tutta la letteratura concorda nell'affermare che i topi sono in grado di percepire le stimolazioni dolorose e le lesioni osservate sono in grado di generare nei topi la sensazione del dolore.

Un elemento significativo dello stato di salute complessivo può essere fornito dall'indice di mortalità.

In un mese circa, esattamente 33 giorni, dal 13 gennaio 2011 data del primo atto effettuato dalla Guardia di Finanza al 15 febbraio, data del sopralluogo, si è verificata la morte di 9 topi, passati da 132 a 123, con una percentuale del 9,3% di mortalità.

Su base annuale ciò significa una percentuale di mortalità del 81,8 % (9 al mese moltiplicato per 12 mesi e diviso per il numero delle presenze iniziali). Il dato ha avuto una conferma nel ritrovamento di un topo morto in occasione del sopralluogo e in un'altra morte avvenuta il giorno successivo. Si deve sottolineare che nulla è intervenuto nel tempo del sequestro a peggiorare le condizioni degli animali, che, al contrario, erano semmai esentati dalle pratiche di laboratorio e quindi erano in situazioni vitali sicuramente migliori che in precedenza.

In conclusione la situazione dei topi presentava aspetti critici relativamente alla loro condizione clinica.

Non si sono evidenziati segni di malattie infettive, e neppure sintomi di compromissione degli apparati interni, quali forme respiratorie o a carico dell'apparato digerente. Ciò è spiegabile con il fatto che per l'utilizzo cui erano destinati è necessario escludere le patologie generali.

Si è rilevata la presenza di una notevole percentuale di lesioni sul corpo di varia entità, da meno a molto gravi, situazione che denunciava una situazione clinica problematica e negativa per molti soggetti, provocante sensazioni di dolore.

Va segnalato che se le lesioni locali si aggravano, possono indurre conseguenze generali, in quanto la presenza di forme di suppurazione può determinare uno stato di batteriemia generalizzata con febbre e setticemia che porta a conseguenze generali gravi fino alla morte. È questo il caso del topo rinvenuto morto e di quello che è stato riferito morire il giorno successivo, nei quali erano evidenti le lesioni generalizzate che appunto potevano aver causato la morte attraverso tale

processo.

Anche se non è stato possibile evidentemente osservare i topi morti in precedenza, è molto probabile che **la causa della morte sia da ricercarsi proprio in una evoluzione delle forme locali, considerando che, come detto, non erano presenti nello stabulario forme patologiche infettive di vario genere le quali, vista la vicinanza dei vari soggetti, avrebbero determinato una diffusione rapida tra gli animali con l'estensione del contagio a molti, se non tutti, i soggetti.**

Anche i soggetti non presentanti forme di lesioni si dovevano ritenere a rischio in quanto essendo la percentuale dei colpiti molto alta, è evidente che le stesse lesioni si potevano in ogni momento sviluppare in quelli che al momento ne erano esenti.

Due elementi oggettivi indicano lo stato di grave compromissione della condizione di salute degli animali.

Il primo indicatore è la percentuale di animali presentanti lesioni di vario grado da meno a molto gravi, con una percentuale del 12 per cento, certamente elevata.

Un altro indicatore di grave compromissione della condizione generale viene dalla percentuale di mortalità che è risultata molto alta nel periodo di osservazione in quanto ha raggiunto la percentuale del 9,3 per cento in un mese, che arriverebbe alla percentuale del 81,8 per cento se si rapportasse il dato su base annua.

Tali percentuali sono assolutamente anormali in una condizione di mantenimento degli animali, dovendosi sottolineare che nel periodo di osservazione la conduzione dello stabulario è proceduta secondo modalità consuete da parte degli stessi proprietari e che agli animali sono state risparmiate le attività sperimentali.

Dalla situazione clinica grave emerge il fatto che la gestione non era in grado o non poteva portare sollievo alla condizione generale degli animali che vedevano peggiorare il loro stato di salute, fino a giungere, in alcuni casi, alla morte.

Lo stato di salute produceva, come detto, la conseguenza di indurre uno stato di dolorabilità e di sofferenza per gli animali.

Nell'insieme quindi i topi presentavano una situazione clinica generale molto compromessa con lesioni localizzate e generalizzate alcune delle quali potevano essere causate dall'attività sperimentale condotta su di essi. Le lesioni oltre a compromettere lo stato di salute erano causa di dolore e sofferenza.

Le cavie

Le cavie mostravano reazioni nella zona metatarsale posteriore bilaterale, corrispondente alla parte della zampa che viene a contatto con la superficie del pavimento, reazioni che presentavano un diverso grado di interessamento.

Le forme rilevate

Una presenza di callosità ovvero di ispessimento cutaneo in 18 soggetti come di seguito elencati, rappresentati anche nelle fotografie allegate le quali sono contrassegnate con il numero del carrello e del box corrispondente. Come nel caso dei topi quando vi sono più fotografie sono ulteriormente contrassegnate con lettere progressive.

Numero di animali interessati	Numero del box
1	carr 4 box 1
1	box 2
1	box 4 lettera B
1	box 6
2	box 7 lettera B e C
1	box 12 lettera B
2	carr 5 box 13 e 13A
1	box 17 (lettera A)
1	box 19 lettera B

2		box 20 e 20 lettera A
2		box 25 B – lettera C
1	carr 6	box 29
2		box 36 e lettera A

totale 18 animali.

Presenza di desquamazione cutanea irritativa con perdita dell'epidermide e croste di varia intensità:

n. soggetti	numero del box	
1	carr 4	box 3 lettera B
1		box 4 lettera C
1		box 5 lettera B
1		box 9 -
1		box 10 lettera BA-
1		box 11 -
1		box 12 lettera A
1	carr 5	box 14 lettera A
1		box 18 -
1		box 19 lettera A -
2		box 21 e 21 lettera C -
2		box 22 – lettera A e B -
1		box 23 -
1		box 27 -
2		box 28 lettera B e C -
1		box 32 -
1		box 33 -
2		box 35 e lettera A-

totale soggetti 22

3 soggetti presentavano forme di infiammazione irritativa diffusa su tutto il corpo (fotografia carr 4 box 3 A, carr 4 10 A, carr 5 box 28 A).

3 soggetti presentavano una alopecia localizzata sui fianchi.

In due cavie la perdita di pelo era di forma circolare (carr 5 box 21 B e carr 6 box 36 b) e una di tipo verticale (carr 4 box 3 A).

Lesioni più gravi. Vi erano poi alcune manifestazioni di aggravamento delle forme riscontrate in zona metatarsale. Cavie delle fotografie contrassegnate come:

carr. 4 box 5 a

carr 4 box 8 b

carr 6 box 30.

Su un totale di 57 cavie, 43 in totale avevano lesioni di vario grado sugli arti, 18 leggere, 21 consistenti, 3 gravi; 3 soggetti manifestavano forme di irritazione cutanea e altre 3 avevano segni di lesioni sul corpo. In totale gli animali che non presentavano segni esteriori di alterazione dello stato fisico e di salute erano 12, quindi la percentuale di animali definibili sani, ad un esame obiettivo generale senza ausilio di visita interna e di esami diagnostici, era del 21 per cento e mentre ben il 79 per cento presentava segni di alterazione dello stato fisico.

L'osservazione porta ad evidenziare le conseguenze dovute al tipo di decubito obbligato e praticamente ininterrotto, ovvero una posizione sterno addominale con il peso gravante sulla parte metatarsale posteriore delle zampe poste a contatto con le sbarre della rete della gabbia. Si viene così a realizzare esattamente quanto prevedono, e suggeriscono di evitare, le indicazioni relative al metodo di allevamento delle cavie, ovvero una inevitabile reazione infiammatoria a livello dei

tessuti interessati, epidermide e strati sottostanti.

La reazione si genera perché il peso delle cavie porta una porzione ristretta di epidermide a premere sulla piccola sbarra di ferro della rete metallica e la pressione esercitata dal peso induce una risposta irritativa e infiammatoria da parte dei tessuti coinvolti.

Dapprima si ha uno stato infiammatorio, con irritazione cutanea e sottocutanea, la quale può evolvere in forme diversificate, come esattamente si constata nel caso in questione.

Vi possono essere reazioni di esfoliazione della cute, oppure l'essudato può consolidarsi in una crosta; la reazione infiammatoria può esitare in una forma di proliferazione cellulare instaurando una callosità o ancora, in seguito a contaminazione batterica, si può generare una forma ascessuale con formazione di materiale purulento.

La contaminazione batterica può essere innescata da germi ubiquitari presenti nell'ambiente.

La contaminazione però può evolvere anche in maniera diversa, in quanto un agente batterico, o virale, potrebbe trovare nella cute lesa la via d'ingresso nell'organismo animale e quindi dare luogo ad una forma patologica generale con conseguenze gravi. Ad esempio questa potrebbe essere una ipotesi relativa per la morte delle tre cavie avvenuta nel periodo oggetto di osservazione.

In due animali si evidenziava una forma di eritema con arrossamento della cute e perdita del pelo. La causa è ascrivibile ad una risposta generale dell'organismo ad un agente irritante.

La mortalità delle cavie: nello stesso periodo considerato per i topi (33 giorni) si è registrata la morte di n 3 cavie (da 60 a 57) che, con lo stesso sistema utilizzato in precedenza porta la mortalità al 60% su base annuale mentre quella mensile si è situata sul 5%.

Il dato segnala un alto indice di mortalità, molto superiore a quella che è giudicata accettabile in un qualsiasi allevamento e vale la considerazione che la condizione di allevamento nel periodo oggetto di osservazione non è peggiorata rispetto al tempo precedente, anzi si deve ritenere migliore, non essendo stati effettuati esperimenti di laboratorio.

L'alta mortalità, può riconoscere cause diverse.

Potrebbe essere la conseguenza di una sofferenza generalizzata dovuta allo stato del mantenimento oppure ad una evoluzione delle lesioni locali: la presenza di una raccolta di germi, presente laddove si genera un aggravamento delle lesioni locali (carr. 4 box 5 a - carr 4 box 8 b - carr 6 box 30), può determinarne la proliferazione che può non rimanere localizzata nella prima colonizzazione, la parte terminale dell'arto, ma diffondersi in altri organi tramite la via sanguigna. Si avrà così una setticemia generalizzata oppure una infezione più grave in un altro organo, forme patologiche che possono portare alla morte.

La mortalità potrebbe altresì essere la conseguenza degli esperimenti cui gli animali erano sottoposti in quanto le molecole con azioni citotossica possono determinare l'alterazione dei parenchimi interni causando quindi l'esito mortale.

Le lesioni rilevate producevano una risposta dolorosa nelle cavie in quanto determinavano una alterazione dei tessuti la cui reazione, ad iniziare dal semplice stato infiammatorio, produce l'interessamento dei gangli periferici recettori degli stimoli dolorosi. Le cavie, come mammiferi, sono dotate di organi recettivi della stimolazione dolorosa situati sia a livello periferico sia a livello centrale e pertanto si deve affermare che le lesioni erano in grado di produrre degli stimoli dolorosi recepiti dagli animali. Le ricerche scientifiche dimostrano la capacità sensoriale negativa del dolore da parte della cavia, ad esempio Ando e Watanabe le risposte di vocalizzazione delle cavie per valutare il dolore nelle cavie (Ando R., Watanabe C. "Vocalization response used for evaluation of pain-related behavior in guinea pigs]" - Center for Laboratory Animal Sciences, Tohoku College Pharmacy, Sendai, Japan- Nippon Yakurigaku Zasshi, 1998 Dec;112(6):363-70).

In conclusione in 49 cavie su 57, con una percentuale del 79 per cento si rilevavano reazioni di varia intensità alla zona metatarsale posteriore, che induceva una sensazione di dolorabilità tanto più forte quanto più la lesione era grave. Le cavie essendo animali predati non tendono a dimostrare lo stato di dolore che può essere visto come una debolezza e attirare conseguentemente i nemici naturali e pertanto non erano percepibili segnali esterni di dolore.

Sui 43 soggetti 22 presentavano lesioni di una certa gravità con reazione proliferativa dell'epidermide e 3 avevano già i segni clinici di una reazione batterica.

Si rilevava quindi uno stato di salute compromesso sia localmente nelle forme di risposta tessutale iniziale sia generale in quanto la proliferazione batterica causava risposte generali da parte dell'organismo dovute alla colonizzazione dei batteri di altri tessuti od organi fino a causare una forma di setticemia generale.

Oltre alle conseguenze sullo stato di salute complessivo si deve considerare che le forme individuate inducevano negli animali dolore, accresciuto dal fatto che la ristrettezza della gabbia non permetteva di cambiare posizione e pertanto il continuo appoggio sulla parte infiammata o infetta non solo reiterava la sensazione dolorosa ma induceva anche un possibile aggravamento della sindrome infiammatoria e infettiva.

Si deve segnalare che la condizione di criticità è del tutto imputabile alla condizione in cui venivano mantenute le cavie, come si è detto su di un pavimento costituito da una rete del tutto inadatto alle esigenze fisiologiche dell'animale e pertanto lo stato di dolore e l'elevata mortalità riconoscono una causa comune nel sistema di mantenimento.

La tipologia delle lesioni podaliche inoltre oltre ai danni che provoca negli animali è anche un indicatore di per se stesso e in particolare chiama in causa la cattiva gestione dell'allevamento da parte del responsabile in quanto è appunto diretta conseguenza delle modalità di stabulazione (Dr. Antonio Lavazza, IZS Lombardia Emilia Romagna -Brescia – Convegno “Benessere animale. Problematiche – progressi – prospettive . Izs Torino, 21.10.2011)

Di particolare gravità come segnale di stato di salute compromesso, anche nel caso delle cavie, vi è **l'indice di mortalità molto elevato**, 5 per cento su base mensile equivalente al 60 per cento su base annuale, segnalatore oggettivo di una condizione di salute assai precaria e gravemente compromessa.

La mortalità elevata è ascrivibile sia ad una evoluzione delle lesioni locali sia alle conseguenze delle pratiche sperimentali effettuate sugli animali.

Relativamente alla condizione delle cavie, in relazione allo stato di salute rilevato al momento del sopralluogo, si deve concludere che esso fosse fortemente compromesso.

Criceti e conigli

Relativamente a queste specie non si rilevavano segni di particolare significato per quanto riguarda l'esame generale.

Una ipotesi è che il tempo intercorso tra l'effettuazione dei test e il sopralluogo avrebbe permesso di cicatrizzare eventuali lesioni manifestatesi.

Si deve ricordare che la risposta può essere diversa cambiando la specie in esame, ed infatti nei test biologici si sottopongono alla prova specie diverse proprio per ovviare a tale problematica.

In entrambe le specie non si è registrata la morte di alcun animale. La ragione di tale esito si deve ritenere essere l'esiguo numero di animali utilizzati.

Infatti, nel caso dei criceti e dei conigli, l'esiguo numero di animali interessati (5 criceti e 8 conigli) e il ridotto tempo durante il quale di è potuto osservare l'evolvere della situazione, i 33 giorni intercorrenti tra il sequestro e il sopralluogo, rendono statisticamente difficile la percezione della mortalità. In numeri così ristretti, casi di mortalità porterebbero a percentuali elevatissime, molto al di sopra di quelle rilevate nelle altre due specie e questo non è statisticamente ipotizzabile, viste le condizioni generali che non erano peggiori nei criceti e nei conigli.

Quindi, relativamente allo stato clinico di queste due specie non si evidenziano fenomeni che indicassero uno stato clinico alterato.

Quesito:

Se vi siano elementi di valutazione relativi ad eventuali interventi eseguiti sugli animali, quali

effetti potesse indurre il protocollo in base agli atti acquisiti sulla salute e sul benessere degli animali

Il protocollo applicato, presentato dallo stesso Dr Coronati, prevedeva inoculazioni di soluzioni liquide per verificare se le eventuali molecole cedute dai materiali in esame inducessero delle conseguenze locali o generali.

Le conseguenze individuabili sulla scorta dell'esame obiettivo generale potevano pertanto essere gli esiti locali o generali delle somministrazioni.

Sotto questo punto di vista, la situazione rilevata presentava tipologie distinte.

Per quanto riguarda il rilievo di lesioni locali si deve tener presente la tempistica. Infatti tra il primo intervento del 13 gennaio 2011 e il 15 febbraio, giorno del sopralluogo, è intercorso un tempo di 33 giorni sufficiente a permettere la cicatrizzazione degli eventuali segni direttamente causati dalle inoculazioni, cioè il segno della iniezione vera e propria.

Il tempo di cicatrizzazione di una lesione interessante la cute o i primi piani muscolari, localizzazioni tipiche delle inoculazioni, non va oltre i 7-15 giorni, in relazione ovviamente alla profondità e all'estensione della lesione. Anche dilatando ulteriormente il tempo della guarigione, i 33 giorni intercorsi tra il primo sopralluogo e la visita effettuata sono un tempo più che sufficiente affinché le eventuali forme non complicate potessero pervenire a guarigione.

Relativamente alle possibili conseguenze degli esperimenti svolti nel laboratorio del DR. Coronati, in base ai protocolli utilizzati si possono sviluppare alcune considerazioni.

L'attività svolta viene dichiarata dallo stesso dr. Coronati il quale, fornendo l'elenco delle materie prime rinvenute nel corso delle operazioni nel suo laboratorio, afferma che si effettuavano delle estrazioni in un mezzo liquido delle materie prime dei materiali sottoposti ad esami e che successivamente una frazione del liquido veniva inoculata negli animali. La metodica consisteva, come riferito dallo stesso dr. Coronati, nell'immersione dei dispositivi, essenzialmente di materiale definibile come plastica, in quanto si trattava di prodotti a base di diversi polimeri che in termini generali fanno parte delle "materie plastiche", in soluzioni di diverso tipo – soluzione fisiologica, olio di sesamo, soluzione lipidica, soluzione idroalcolica la 5% di alcol etilico, soluzione acquosa di glicole polietilenico - il preparato era quindi messo in incubatrice ad una temperatura controllata e successivamente il liquido veniva iniettato agli animali per verificare se vi fossero delle conseguenze, di tipo locale o generale.

Il principio della ricerca era verificare se il dispositivo potesse cedere dei residui tali da indurre reazioni o conseguenze nelle persone che avessero avuto contatti con il presidio.

Si deve valutare che il protocollo *UNI EN ISO 10993-1:2009(E)* in base al quale venivano fatte le ricerche è esplicito nell'affermare che le prove biologiche sono effettuabili, non indispensabili, se non vi sono riscontri in letteratura scientifica della loro innocuità o se non si possono fare delle analisi chimiche al fine di appurare la loro innocuità.

In particolare, alla pagina n. 5 del testo del protocollo in questione, una figura schematizza il percorso da seguire per l'effettuazione dei test biologici che si può riassumere nel modo seguente:

In primo luogo la direttiva non si applica se i materiali e i dispositivi non entrano in contatto con il corpo.

Secondariamente i test biologici **non sono necessari:**

- se materiale simile a quello del dispositivo è già acquistabile commercialmente,
- se il dispositivo ha la stessa composizione chimica
- se la fabbricazione e la sterilizzazione è la stessa
- se il tipo di contatto con il corpo è lo stesso

Se uno qualsiasi dei punti precedenti ha risposta negativa, i test **non sono comunque necessari**

- se ci sono dati sufficienti per ogni sostanze chimica del materiale
- se ci sono dati applicabili alle molecole chimiche composte
- se ci sono dati rilevanti per la dose e la via di esposizione

Se uno qualsiasi dei punti precedenti ha risposta negativa, si deve procedere alla

effettuazione della valutazione del materiale del dispositivo basata sulla natura chimica dei materiali e il tipo e la durata del contatto con l'esecuzione dei test biologici, i quali però possono essere sostituiti con test di altro genere.

I test di altro genere sono le analisi chimiche sulle matrici per evidenziare la presenza o meno di sostanze di rilascio dal momento che i dati sulle eventuali conseguenze ascrivibili alle molecole chimiche eventualmente presenti sono noti in letteratura. E quindi si rientrerebbe nei casi previsti dal protocollo per non effettuare i test in vivo.

In pratica dopo aver proceduto all'estrazione per immersione delle eventuali molecole rilasciate dai dispositivi, il materiale liquido poteva essere sottoposto ad analisi chimica per controllare se vi fosse o meno la presenza di residui. Riscontrata l'eventuale presenza sarebbe stato oltremodo semplice stabilire l'innocuità o meno del presidio sottoposto ad esame in quanto si tratta di molecole la cui tossicità, ovvero l'effetto indotto negli organismi viventi, è noto e descritto in letteratura.

Tale indagine sarebbe oltretutto più sicura ed affidabile in quanto, come ben noto in campo sperimentale animale, le risposte biologiche degli animali possono variare da specie a specie, ed infatti l'utilizzo di specie diverse si regge proprio sull'assunto che non tutte reagiscono allo stesso modo e ciò che può essere non nocivo per una può risultare tossico per un'altra.

Ad esempio nel caso di una delle molecole in questione, il Bisfenolo A, la letteratura scientifica in argomento afferma che la sensibilità del topo è mille volte inferiore in un ceppo di topi rispetto ad un altro ceppo.

Eventuali segni conseguenti agli esami effettuati

Topi

Alcune forme di alterazione presenti negli animali si potevano attribuire ad eventuali interventi di inoculazione e segnatamente si tratta dei topi individuati come

carr 1 box 16

carr 2 box 11

carr 2 box 12b

carr 3 box 4

carr 3 box 7

Il topo contrassegnato carr. 1 box 16 presentava una lesione di tipo ulceroso che aveva una collocazione corrispondente alla parte anatomica solitamente utilizzata per le inoculazioni.

A sua volta nel topo contrassegnato come carr 3 box 7 si rilevava un'area depilata con al centro una lesione circolare ulcerosa. Anch'essa collocata in area utilizzabile per le inoculazioni.

L'aspetto delle lesioni porta ad avanzare l'ipotesi di un esito di cicatrizzazione successivo ad un intervento esterno, quale poteva essere appunto una inoculazione.

Il topo contrassegnato carr 2 box 11 aveva una lesione dorsale a forma di piccola losanga, che non era dovuta ad autotraumatismo e pareva una lesione indotta dall'esterno, in una zona utile per impianti.

Gli animali contrassegnati come carr 2 box 12 b e carr 3 box 4 presentavano le forme purulente già descritte in precedenza in una parte anatomica anch'essa interessata da eventuali inoculazioni.

Si deve considerare che non è stato fornito da parte del Dr. Coronati il protocollo di inoculazione degli animali, però si deve tener conto altresì che gli animali erano allevati allo scopo di essere sottoposti al test, consistente proprio nelle inoculazione dei materiali liquidi.

Pertanto il rilievo dei segni sopra elencati si giustifica proprio come conseguenza degli interventi effettuati nel laboratorio.

effettuati dal momento che appaiono con una tipologia che fa supporre l'opera esterna, non trattandosi di autotraumatismo.

Cavie.

Nelle cavie sono da considerare gli animali contraddistinti come

carr 5 box 21b

carr 6 box 36b

carr 4 box 3a

Tutte e tre le cavie presentano una tipologia comune, ovvero una depilazione circolare in una zona laterale del torace, localizzazione tipica di eventuali inoculazioni.

L'aspetto della mancanza di pelo si presta ad essere interpretato come risultato di un intervento esterno e non come un traumatismo o una forma patologica.

Si rilevava che due cavie, - carr. 5 box 12 b e carr. 4 box 3 A – presentavano una reazione generalizzata di tipo irritativo - infiammatorio, che si deve interpretare come risposta ad una sostanza allergizzante con cui sono venute in contatto. Sostanza che non poteva che essere stata somministrata appositamente dal momento che le condizioni di mantenimento erano uguali per tutti gli animali e dovevano garantire uno stato basale normale per non inquinare le risposte ai test di laboratorio.

Criceti e conigli. L'esame obiettivo generale non ha portato a rilevare segni di lesioni nei criceti e nei conigli.

La diversa reattività tra animali diversi, topi, cavie, criceti e conigli, che presentano un quadro diverso tra di loro ha come motivazione il fatto che specie diverse reagiscono in modi variati rispetto alle stesse sostanze ed infatti negli esperimenti si usano più specie proprio per ovviare a tale fenomeno.

Commento degli esiti delle analisi chimiche

In data 27 ottobre 2011 mi sono stati comunicati gli esiti delle analisi chimiche effettuate dal Laboratorio Neutron, i cui esiti sono riassunti nella tabella di seguito riportata.

Riassunto esiti analisi chimiche

Tabella 8

Codice campione e matrice	Valore ottenuto (mg/Kg)	Analita rilevato
11G12878 -olio di sesamo	3,60	caprolattame
11G12889 – sol fisiologica	4,72	caprolattame
11G12891 – sol idroalcolica	7,71	caprolattame
11G12893 – sol Glicole propilenico	5,95	caprolattame
11G12896 – sol fisiologica	84,8	caprolattame
11G12867 – sol fisiologica	0,071	Bisfenolo A
11G12888 – sol fisiologica	0,099	esametildiammina
11G12891 – sol idroalcolica 5%	Tracce (0,030)	esametildiammina
11G12892 – sol idroalcolica 5%	0,12	esametildiammina
11G12893 – sol Glicole propilenico	Tracce (0,045)	esametildiammina
11G12894 – sol Glicole propilenico	0,091	esametildiammina

Gli esiti analitici hanno evidenziato la presenza di Caprolattame, Bis fenolo A e Esametildiammina in quantità variabili.

Le sostanze individuate, come riportato anche nella risposta al quesito che segue, secondo la letteratura specifica in argomento, hanno queste caratteristiche:

il **Bisfenolo A** può indurre reazioni di tipo flogistico infiammatorio nei tessuti con i quali viene a contatto, oltre ad essere cancerogeno;

il **Caprolattame** induce effetti infiammatori nelle cellule e nei tessuti;

l'Esametildiammina A a contatto con i tessuti interni ha effetto citotossico, causando irritazione e distruzione degli stessi, oltre ad essere cancerogeno.

Si deve rilevare che le positività sono relative a campioni di cui non è stato accertato alcun problema di conservazione all'atto dell'esecuzione dell'analisi e che le criticità rilevate

- campione con tracce di alghe, siringhe con perdita del materiale – non riguardano i campioni che hanno presentato delle positività e dei quali il verbale del laboratorio non segnala problemi di conservazione.

La presenza delle molecole individuate nei liquidi inoculati poteva indurre reazioni di tipo infiammatorio accompagnata da distruzione dei tessuti, poiché le molecole in questione producono tali conseguenze secondo i dati della letteratura scientifica in argomento.

Non è stato evidentemente possibile attribuire un collegamento tra i campioni positivi e gli animali presenti nel laboratorio, operazione di fatto semplice, e possibile anche a posteriori, se fosse acquisibile il protocollo di inoculazione cioè conoscere a quali animali le sostanze individuate sono state iniettate. Protocollo che è sicuramente in possesso del dr. Coronati ma che non è stato fornito.

Questo è il sistema più diretto e immediato per collegare le molecole ritrovate per via analitica agli animali in quanto anche gli eventuali esami citologici sugli animali stessi potrebbero non essere chiarificatori poiché, a distanza di tempo, le molecole possono essere metabolizzate e non più rintracciabili.

Nel caso in questione il punto fondamentale è comprendere le eventuali conseguenze per gli animali che venivano in contatto con le molecole individuate.

Sulla base dei dati della letteratura scientifica in argomento, si deduce che la somministrazione di soluzioni contenenti le molecole individuate con l'analisi chimica inducevano delle risposte che provocavano l'infiammazione e la distruzione dei tessuti e di conseguenza una risposta di dolore negli animali.

È evidente che se fosse possibile ottenere il protocollo di inoculazione si potrebbero fare delle valutazioni più fini, collegando la quantità individuata nei campioni, che è varia, alle risposte degli animali.

Si può però affermare che la presenza di una sostanza citotossica e ad azione infiammatoria genera come conseguenza inevitabile una reazione da parte dell'organismo che sarà più o meno intensa in relazione alla quantità inoculata ma che in ogni caso provocherà una risposta che sarà dolorosa. Del resto è proprio lo scopo della ricerca quello di verificare la risposta organica come reazione alla sostanza inoculata e quando si effettua la somministrazione non si conosce la quantità presente, che infatti non viene stabilita con un'analisi quantitativa a priori. Il test biologico serve a verificare la reazione dell'organismo alla presenza della molecola, senza determinarne la quantità.

Analizzando i risultati positivi, si osserva una distinzione in due gruppi: un gruppo di campioni presenta una positività di minor quantità rispetto all'altro.

Il gruppo con positività minore comprende i campioni:

Bisfenolo A campione 11G12867 quantità 0,071

Esametildiammina Campione n. 11G12888: quantità 0,099 mg/kg
n. 11G12891 tracce 0,030 “

n. 11G12892:	0,12	“
n. 11G12893 tracce	0,045	“
n. 11G12894	0,091	“

Come detto in precedenza, le prove biologiche sono effettuate senza una quantificazione preventiva della sostanza in esame, la risposta attesa si può definire di “presenza-assenza” ovvero verificare se il test induce o meno una reazione nell'organismo.

Poiché il Bisfenolo A e la Esametildiammina sono molecole a cui si attribuiscono capacità citotossiche e quindi flogistiche si deduce che l'inoculazione delle soluzioni contenenti tali residui ha indotto flogosi e quindi dolore negli animali cui sono state iniettate.

Come affermato nella risposta al quesito precedente, il tempo intercorso tra gli esami effettuati e il sopralluogo effettuato, è stato sufficiente a permettere agli animali di cicatrizzare eventuali lesioni.

Le analisi presentano un gruppo di campioni con risposte positive per la presenza di Caprolattame.

Si tratta dei campioni:

11G12878 : 3,60 mg/kg

11G12889 : 4,72 “

11G12891 : 7,71 “

11G12893: 5,95 “

11G12896 : 84,8 “

Il Caprolattame è molecola di cui si conosce l'attività flogistica e quindi la sua azione sugli animali inoculati avrà prodotto azione irritativa flogistica delle cellule che produce un effetto di dolore sull'organismo.

In conclusione

I test non erano necessari in quanto i materiali provati erano realizzati con materie di cui in letteratura si conosce da tempo la composizione e le conseguenze nel contatto con il corpo.

In special modo i test potevano essere condotti con certezza di risultati tramite analisi chimiche invece di effettuare prove biologiche su animali.

Alcuni dei campioni analizzati chimicamente hanno rivelato la presenza di molecole quali Bisfenolo A, Esametildiammina e Caprolattame di cui si conosce l'effetto citotossico e flogistico che inducevano risposte di infiammazione e dolorabilità negli animali.

Questo è sicuramente avvenuto anche se non si conosce il numero degli animali inoculati con le specifiche molecole in quanto non è stato fornito dal DR. Coronati il protocollo di sperimentazione sugli animali.

Alcuni segni visibili negli animali sono riferibili ad un intervento esterno necessario per gli esperimenti, quali le depilazioni e i segni di cicatrizzazione presenti in alcuni animali:

Topi : carr 1 box 16 - carr 2 box 11 - carr 2 box 12b - carr 3 box 4 - carr 3 box 7

Cavie : carr 5 box 21b - carr 6 box 36 b - carr 4 box 3a

Sia i segni sopra elencati, sia le reazioni più gravi rilevate nei topi - (car 2 box 12 e car 3 box 4) e quelle presenti sul topo morto (carr. 3 box 6) possono essere attribuite alle pratiche sperimentali e alle sostanze inoculate sulla base del ragionamento che nel laboratorio si volevano evidenziare le conseguenze degli esperimenti effettuati e che pertanto si operava per evitare che vi fossero delle conseguenze per gli animali che non dipendessero dai test stessi.

Se infatti fossero intervenuti altri agenti a perturbare lo stato fisico degli animali non si sarebbero potuti ottenere dei risultati utili. In altri termini, essendo lo scopo degli esperimenti quello di valutare la reazione degli animali alla somministrazione di determinate soluzioni

contenenti eventualmente molecole diverse, la presenza delle reazioni non può che essere attribuita alla pratica stessa altrimenti l'esperimento sarebbe falsato nella sua essenza.

Se infatti le lesioni fossero dovute ad altri motivi non si potrebbe giudicare se la sostanza è innocua o meno e quindi il test non porterebbe alcun risultato utile.

Quindi è lo scopo stesso del test che può portare ad affermare che le lesioni rilevate sono conseguenza delle pratiche svolte.

Il fatto che ad esempio nelle cavie, nei criceti e nei conigli non si rilevino segni di reazione alle prove sperimentali si deve attribuire alla reattività variabile delle diverse specie, infatti è noto che nelle prove di laboratorio si utilizzano più specie in quanto ognuna può reagire in modo diverso alla stessa molecola.

Infine occorre ricordare che se pure non si volesse ammettere che le lesioni riscontrate negli avessero l'origine nelle sostanze somministrate, esse ledevano l'integrità fisica e lo stato di salute degli animali e producevano dolore e sofferenza.

Quesito

– quali le specifiche di utilizzo e le conseguenze dei farmaci e dei presidi ritrovati nel corso dell'indagine

Per quanto riguarda le specifiche di utilizzo, si può suddividere il materiale in due categorie, una di presidi destinati a venire a contatto con materiale biologico e un'altra di materiale farmacologico destinato ad un uso clinico diretto

Nel primo gruppo, come afferma lo stesso dr. Coronati lo scopo degli esperimenti effettuati nel laboratorio era di individuare eventuali rilasci di sostanze tossiche o variamente nocive dei presidi clinici in prova. Si tratta di coprimanipoli, reti per filtri di sangue, provette per il prelievo di sangue, elastomeri.

Del secondo gruppo facevano parte creme, soluzione per aerosol, gocce oculari, soluzione nasale, e un prodotto denominato soluzione bianca. Si tratta di sostanze che venivano provate sugli animali al fine di evidenziare una eventuale tossicità. Queste sostanze non sono state sottoposte ad analisi chimica per motivi di problematiche di laboratorio come verrà spiegato più avanti.

Per quanto riguarda le conseguenze nel caso del primo gruppo, ovvero dei presidi sottoposti alle prove, le conseguenze ascrivibili al materiale si deve in primo luogo riassumere quelle che in letteratura sono definite le azioni biologiche delle sostanze sottoposte ad analisi e che sono riassunte di seguito.

Le molecole di cui si è ricercata la presenza con gli esami chimici sono:

bis Fenolo A;

Glicole etilenico;

Caprolattame;

Esametildiammina;

Acido isoftalico e tereftalico;

Stirene;

Acrilonitrile;

Cloruro di vinile.

Gli effetti ipotizzabili come conseguenze del loro contatto con gli organismi sono quelli elencati di seguito.

Bis fenolo A

Il Bis fenolo A è una sostanza utilizzata nella produzione del Policarbonato (PC) e di resine epossidiche. Risultati sperimentali dimostrano che le esposizioni durante la gravidanza e la vita neonatale possono avere effetti permanenti a carico dello sviluppo neurocomportamentale (Adriani et al., 2003). Nel 2008 studi condotti in laboratorio sui roditori del National Institutes of Health (agenzia governativa sanitaria Usa) riportano che il BPA potrebbe accelerare la pubertà, aumentare il rischio di tumori a seno e prostata e dare problemi neurologici.

Quindi nelle specie presenti in laboratorio poteva avere effetti tossici e cancerogeni.

Glicolo etilenico

Il glicole etilenico è un composto che interviene nella produzione di resine, tra la altre nel polietilenterftalato (PET), usato nella fabbricazione delle bottiglie trasparenti per alimenti. Il Glicole etilenico è tossico per ingestione generando una forma di intossicazione simile a quella dell'alcol etilico. Ha effetto irritante sulle mucose e sui tessuti interni. L'organismo al suo contatto produce per decomposizione dei metaboliti tossici quali l'aldeide glicolica, l'acido glicolico e gli ossalati.

L'aldeide glicolica è responsabile degli effetti su cuore e polmoni; l'acido glicolico è all'origine della acidificazione del sangue che genera acidosi metabolica. Questa e la precipitazione degli ossalati nei reni (altro prodotto della decomposizione del glicole etilenico) determinano l'insorgenza dell'insufficienza circolatoria e compromissione renale.

Negli animali sottoposti ai test, la sua presenza poteva determinare a livello dei tessuti interni, come avveniva nelle prove effettuate in laboratorio, effetto citotossico e indurre irritazione e distruzione dei tessuti.

A livello sistemico si potevano verificare gli altri effetti, come conseguenze su cuore e polmoni ovvero insufficienza circolatoria e compromissione renale.

Caprolattame

Secondo la classificazione tedesca MAK/DFG che stabilisce la dose massima ammissibile sul posto di lavoro il suo valore MAK è di 5 mg/m³, in riferimento alla sua attività flogistica su pelle e mucose.

Induce irritazione della pelle e mucose e danneggia l'albero respiratorio, ha azione sul sistema nervoso centrale inducendo crampi.

La sua presenza nel materiale incolato agli animali avrebbe indotto reazione flogistica infiammatorie nei tessuti venuti a contatto.

Esametildiammina

E' molecola cancerogena. Il meccanismo di azione sembrerebbe l'inibizione delle istone deacetilasi, enzimi del nucleo cellulare zinco dipendenti, che rimuovono i gruppi acetilici dagli istoni (denominazione di una parte del Dna di ancora non chiara funzione). Il motivo di tale azione risiede nella notevole somiglianza chimica tra la HMBA e un residuo di lisina acetilata. La manovra porta alla persistente acetilazione degli istoni ed una conseguente espressione genica incontrollata che risulta catastrofica per le cellule.

A livello di contatto con i tessuti interni, come avveniva nelle prove di laboratorio, può avere effetto citotossico, inducendo irritazione e distruzione dei tessuti e l'azione più grave è quella cancerogena con il meccanismo sopra descritto.

Acido isoftalico e tereftalico (ftalati)

In generale, i diesteri dell'acido ftalico provocano raramente una tossicità acuta. Essi possono però rivelarsi pericolosi in caso di esposizioni prolungate o ripetute a basse dosi. In questi casi, sembrano esercitare un'azione che altera il funzionamento delle ghiandole endocrine e possono influenzare gli ormoni androgeni attraverso altre vie che non siano quelle di legarsi ai loro recettori. Sono considerati come "interferenti endocrini", termine con cui si intende, secondo la definizione adottata dall'Unione Europea, «una sostanza esogena, o una miscela, che altera la funzionalità del sistema endocrino, causando effetti avversi sulla salute di un organismo, oppure della sua progenie o di una (sotto)popolazione».

Riguardo alla loro cancerogenicità, è accertato il ruolo dei diesteri dell'acido ftalico nello sviluppo di tumori al fegato nei roditori, non dimostrato tuttora nelle persone, ma solo nei roditori. Provoca tumore al rene nei ratti maschi.

L'acido Tereftalico serve per produrre resine poliestere, come il PET e, usato come esteri, serve come plastificante. Il "Villavecchia", testo famoso tra i chimici, dice che è poco tossico ma

consiglia di evitare inalazione e contatto prolungato con la pelle.

Sono molecole la cui somministrazione è dimostrato causare forme tumorali nei roditori, e i topi sono roditori.

Stirene

La tossicologia acuta dello stirene non è molto elevata, può causare cefalea, vertigini, irritazione delle prime vie aeree e sonnolenza. A lungo termine, invece, è un possibile cancerogeno e, grazie alla liposolubilità, ha effetti sui tessuti ricchi di lipidi, tra cui il Sistema Nervoso Centrale (SNC). Può quindi provocare alterazioni neurologiche, a carico del sangue, della funzionalità epatica e turbe digestive. Il metabolismo dello stirene genera, come metabolita, l'ossido di stirene che è classificato come probabile cancerogeno per l'uomo e coinvolge il fenilossirano che è un composto mutageno.

Le conseguenze possono essere di forme di irritazione della a seguito di contatto mentre è cancerogeno e mutageno anche per contatto con tessuti interni.

Acrilonitrile

Viene utilizzato per produrre resine acriliche e ABS.

E' classificato come tossico per inalazione per contatto con la pelle e per ingestione; irritante delle vie respiratorie e pelle; a rischio di produrre gravi lesioni oculari; può provocare sensibilizzazione per contatto con la pelle; può provocare il cancro; tossico per gli organismi acquatici e può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente acquatico.

È facilmente infiammabile.

È notevolmente tossico e cancerogeno, per cui poteva indurre tali effetti in caso di somministrazione agli animali soggetti all'esperienza.

Cloruro di vinile

Deprime il sistema nervoso centrale e può provocare aritmie.

Sono noti effetti su vari organi in seguito ad esposizione continuativa a basse dosi.

Nelle cavie in gravidanza l'esposizione al cloruro di vinile ha causato aborti e nascite di cuccioli malformati (effetto teratogeno).

È un potente cancerogeno riconosciuto ed è stato correlato in particolar modo a certe forme di cancro del fegato – principalmente carcinoma epatocellulare e angiosarcoma epatico.

La sua azione negli animali da esperimento era principalmente di tipo cancerogeno, potendo indurre forme tumorali.

In conclusione la presenza eventuale di residui delle sostanze ricercate avrebbe indotto conseguenze di varia gravità negli animali potendo produrre non solo forme di infiammazione, in seguito all'azione citolitica, l'esito più facilmente rilevabile nel laboratorio Coronati in quanto la cancerogenesi richiede tempi non brevissimi per svilupparsi e la teratogenesi, cioè la nascita di feti deformati, si manifesta solo in caso di riproduzione, che non veniva effettuata nel laboratorio.

Quesito:

quale la formula e lo scopo dell'utilizzo delle sostanze rinvenute nei contenitori senza etichetta e nelle siringhe già utilizzate e ancora da utilizzare

Relativamente all'oggetto del quesito si deve rilevare che non si è proceduto alle analisi chimiche dei presidi in questione. Per l'effettuazione delle analisi, infatti, e per rimanere in un ambito di spesa tollerabile è indispensabile sapere la categoria o la tipologia delle eventuali molecole presenti. Se non si conoscono tali elementi la ricerca sarebbe comunque possibile ma richiederebbe ingente impegno come numero di analisi necessarie e la spesa sarebbe direttamente rapportata a tale fattore.

Il laboratorio individuato ha rappresentato il fatto che le analisi avrebbero presentato un alto livello di complessità, e conseguentemente di spesa, senza aver la certezza di giungere ad un risultato oggettivo.

Relativamente al quesito non è quindi possibile formulare una risposta.