

LA NUOVA DIRETTIVA EUROPEA 2010/63

Gianluca Panzini

Servizio Biologico e per la Gestione della sperimentazione Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il Parlamento Europeo e il Consiglio dell'Unione Europea hanno adottato in data 22 settembre 2010 la Direttiva 2010/63/UE, riguardante la protezione degli animali utilizzati a fini scientifici; l'adozione di tale Direttiva, che è composta da 66 articoli e 8 allegati, risultava necessaria al fine di adattare al continuo progresso scientifico e tecnologico la legislazione europea, che per quanto riguarda tale settore era rappresentata fino a quel momento dalla Direttiva del Consiglio del 24 novembre 1986, concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative degli Stati Membri relative alla protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici (86/609/CEE). Come si può notare tra l'adozione delle due direttive europee sono trascorsi quasi 24 anni, in cui le conoscenze nel settore della scienza degli animali da laboratorio si sono notevolmente ampliate; risultava pertanto indispensabile che il divario esistente tra la legislazione vigente in Europa e le nuove acquisizioni scientifiche venisse colmato. Gli stati membri, come stabilito dalla Direttiva 2010/63/UE all'articolo 61, dovranno pertanto applicare le nuove disposizioni legislative a partire dal 1° gennaio 2013.

In questo elaborato verranno evidenziate le differenze più salienti tra il Decreto legislativo 116/1992, che ha recepito in Italia la Direttiva europea 86/609/CEE e che attualmente regola la sperimentazione animale nel nostro Paese, e la Direttiva 2010/63/UE, il cui recepimento modificherà sicuramente la gestione e l'attuazione della sperimentazione animale nel nostro Paese, esigendo sia da parte dell'Autorità Regolatoria sia da parte dei ricercatori responsabili dei protocolli di ricerca un adattamento alle nuove regole.

Il primo cambiamento imposto dalla Direttiva 2010/63/UE riguarda le specie animali contemplate e il loro relativo stadio di sviluppo. Infatti, oltre a comprendere, così come il Decreto legislativo 116/1992, tutti i vertebrati vivi non umani e le loro forme larvali autonome, la Direttiva 2010/63/UE tutela sia le forme fetali di mammifero, a partire dall'ultimo terzo del loro sviluppo, sia i cefalopodi vivi. Come ribadito nelle considerazioni che precedono gli articoli della Direttiva, oltre ai vertebrati, che comprendono i ciclostomi, si è ritenuto opportuno includere nella Direttiva anche i cefalopodi poiché vi sono chiare evidenze scientifiche che essi possano provare dolore, sofferenza e angoscia. Lo stesso concetto è valido per le forme fetali di mammifero poiché, come sottolineato al punto 9 delle sopraccitate considerazioni, è scientificamente dimostrato che nell'ultimo terzo del loro sviluppo essi possono provare dolore e che tale fatto possa ripercuotersi negativamente sulle fasi successive del loro sviluppo. Deve inoltre essere ricordato che la Direttiva 2010/63/UE include anche le procedure effettuate prima dell'ultimo terzo della gravidanza, nel caso in cui queste vengano prolungate includendo anche l'ultimo terzo e possano quindi in questo periodo essere causa di dolore e di sofferenza per i feti. Deve essere sottolineato, a questo punto, che la Direttiva non fa alcun riferimento agli embrioni degli uccelli che, come ad esempio l'embrione di pollo, sono usati nella ricerca scientifica e nell'ultimo periodo prima della schiusa potrebbero anche essi provare sofferenza.

Per quanto attiene all'ambito di applicazione, la Direttiva 2010/63/UE, ugualmente a quanto stabilito attualmente dalla normativa vigente, esclude tanto le pratiche agricole, effettuate nelle aziende, quanto le pratiche veterinarie eseguite in clinica nel caso in cui esse non perseguano scopi sperimentali. La Direttiva 2010/63/UE stabilisce inoltre che non debbano rientrare sotto il proprio controllo le sperimentazioni veterinarie che si rendono necessarie per autorizzare

l'immissione in commercio di farmaci veterinari. A questo punto si deve ora sottolineare che, mentre il Decreto legislativo 116/1992 classifica in modo generico come "esperimento" qualsiasi utilizzo degli animali in grado di causare dolore, sofferenza, angoscia o danni durevoli, la Direttiva 2010/63/UE, sempre nell'articolo 1, decreta che tale classificazione non si applica a quelle "procedure" che causano un dolore inferiore a quello provocato dall'inserimento di un ago conformemente alle buone prassi veterinarie, stabilendo così una soglia più oggettiva per la valutazione del dolore, che risulta al contempo uno degli aspetti più complessi da quantificare e uno dei parametri principalmente analizzati dall'Autorità Regolatoria prima del rilascio dei permessi necessari per l'esecuzione di esperimenti su animali.

All'articolo 2 della Direttiva 2010/63/UE viene consentito che gli Stati Membri dell'Unione possano applicare misure più restrittive relativamente all'applicazione della Direttiva stessa, purché vengano rispettate le disposizioni della Versione Consolidata del Trattato sul Funzionamento Europeo del 9 maggio 2008. Tale Trattato, nell'articolo 13, ribadisce infatti che nell'attuazione delle politiche (agricoltura, pesca, ricerca e sviluppo, ecc.) l'Unione e gli Stati membri tengono pienamente conto delle esigenze in materia di benessere degli animali in quanto esseri senzienti, rispettando nel contempo le disposizioni legislative o amministrative e le consuetudini degli Stati membri per quanto riguarda, in particolare, i riti religiosi, le tradizioni culturali e il patrimonio regionale. A tale proposito viene riaffermato che uno Stato Membro dell'Unione, che abbia deciso di recepire la Direttiva europea in modo più restrittivo, non può vietare all'interno del proprio territorio la fornitura di animali provenienti da altri Stati membri in cui la Direttiva sia stata recepita senza l'apporto di modifiche.

All'articolo 3 viene fornita la definizione di "procedura" che rappresenta qualsiasi utilizzo di animali a fini sperimentali, scientifici ed educativi che possa provocare un dolore equivalente o superiore a quello provocato dall'inserimento di un ago conformemente alle buone prassi veterinarie. In questo articolo, come stabilito in precedenza nell'articolo 1 a proposito dell'ambito di applicazione, viene nuovamente rimarcato il limite di sofferenza a partire dal quale l'utilizzo di animali è contemplato dalla Direttiva 2010/63/UE. In questo articolo il termine di procedura viene anche esteso alla nascita di un animale o alla creazione di animali geneticamente modificati, allorché ciò sia causa di sofferenza per gli animali stessi; mentre anche il Decreto legislativo 116/1992 considera esperimento la nascita di un animale in condizioni di dolore, esso non fa alcun riferimento al mantenimento di colonie geneticamente modificate portatrici di un fenotipo sofferente; lo specifico riferimento ad animali geneticamente modificati da parte della Direttiva 2010/63/UE si è quindi reso necessario, poiché durante il lungo periodo intercorso tra l'approvazione delle due direttive europee vi è stato un incremento notevole di ceppi murini transgenici, *knock out* o *knock in* che sono stati creati al fine di essere utilizzati come modelli animali di una vastissima gamma di malattie.

È interessante notare a questo punto che la Direttiva 2010/63/UE non considera invece come procedura il semplice sacrificio di animali al fine di utilizzarne gli organi e/o i tessuti; attualmente la soppressione di animali con metodi umanitari per il prelievo di organi è regolamentata dal Decreto legislativo 116/1992 ed è soggetta a regime di comunicazione ai sensi dell'articolo 7; si presume pertanto che il recepimento della Direttiva dovrà fare in modo di includere nel suo ambito anche il semplice sacrificio di animali i cui organi saranno usati a fini scientifici. Tra le varie definizioni risulta infine doveroso citare quella di "progetto", che la Direttiva 2010/63/UE considera come "un programma di lavoro con un preciso obiettivo scientifico che prevede il ricorso a una o più procedure". All'articolo 4 la Direttiva 2010/63/UE fa un chiaro riferimento al principio delle 3R, il cui significato è *replacement, reduction and refinement* (sostituzione, riduzione e perfezionamento), richiedendo ai ricercatori il rispetto di tale principio durante l'esecuzione di attività sperimentali su animali; il Decreto legislativo 116/1992, pur non citando esplicitamente il principio delle 3R, richiede comunque l'impiego di

metodiche alternative se esistenti, l'utilizzo del numero minimo di animali tramite il quale sia possibile il raggiungimento degli obiettivi scientifici stabiliti, la stabulazione e il mantenimento degli animali in condizioni il più possibile rispondenti a quelle della specie oggetto della sperimentazione e la riduzione, ove possibile, del dolore, della sofferenza e dell'angoscia.

Nell'articolo 5 vengono invece elencate le motivazioni per le quali risulta possibile fare ricorso all'impiego di animali. Si evidenzia chiaramente che la maggior parte delle finalità scientifiche per le quali è permesso l'impiego di animali sono coincidenti con quelle del Decreto legislativo 116/1992 e sono rappresentate: a) dallo sviluppo, dalla produzione e dal controllo sulla sicurezza di farmaci o altri prodotti, destinati alla profilassi, alla prevenzione e alla cura delle malattie dell'uomo, degli animali e delle piante; b) dalla valutazione delle condizioni fisiologiche dell'uomo, degli animali e delle piante e c) dalla protezione dell'ambiente nell'interesse della salute dell'uomo e degli animali. La Direttiva 2010/63/UE, riferendosi al benessere animale, contempla inoltre le eventuali sperimentazioni effettuate allo scopo di migliorare le condizioni di produzione, per gli animali allevati a fini agronomici, dimostrando una sempre maggior sensibilità nei confronti delle condizioni in cui le specie animali da reddito vengono mantenute negli allevamenti intensivi. La Direttiva 2010/63/UE inoltre cita tra le finalità sia la ricerca di base, sia quella applicata e traslazionale.

Per quanto concerne la ricerca di base non è imposto alcun tipo di vincolo alla sua esecuzione, a differenza del Decreto legislativo 116/1992 che ne consente l'esecuzione unicamente nel caso in cui essa sia propedeutica per l'ottenimento di dati relativi: a) allo sviluppo, produzione e controllo sulla sicurezza di farmaci o altri prodotti, destinati alla profilassi, prevenzione, cura delle malattie dell'uomo, degli animali e delle piante; b) alla valutazione delle condizioni fisiologiche dell'uomo, degli animali e delle piante e c) alla salvaguardia dell'ambiente. La Direttiva 2010/63/UE cita inoltre tra le proprie finalità la conservazione delle specie animali e la didattica. A tal proposito, la Direttiva 2010/63/UE, a differenza del Decreto legislativo 116/1992, che all'articolo 8 fa riferimento a un generico scopo didattico, entra maggiormente nello specifico riferendosi a "insegnamento superiore o formazione ai fini dell'acquisizione, del mantenimento o del miglioramento di competenze professionali". La Direttiva 2010/63/UE fa infine riferimento all'utilizzo di animali per indagini medico-legali.

All'articolo 6 vengono descritti i metodi di soppressione. A tale riguardo, mentre il Decreto legislativo 116/1992 sancisce che la soppressione dell'animale debba essere effettuata con metodi umanitari in modo da causare, in relazione alla specie animale, la minore sofferenza possibile, la Direttiva 2010/63/UE, oltre a ribadire questo principio, fornisce nell'allegato IV la lista dei metodi di eutanasia più idonei per le diverse specie animali e stabilisce inoltre che l'eutanasia degli animali debba essere effettuata da personale competente negli stabilimenti allevatori, fornitori o utilizzatori. È comunque consentita una deroga a tali disposizioni nel caso di ricerche effettuate sul campo, o qualora la soppressione dell'animale debba essere effettuata in condizioni di emergenza.

L'impiego di animali a rischio di estinzione, in accordo a quanto stabilito sia dalla Direttiva 2010/63/UE che dal Decreto legislativo 116/1992, è concesso unicamente nel caso in cui la specie utilizzata sia l'unica che consente di acquisire informazioni medico-scientifiche essenziali, o nel caso in cui le ricerche si prepongano come fine la salvaguardia e la conservazione della specie oggetto della sperimentazione.

Nell'articolo 8 viene trattato l'utilizzo dei primati nella ricerca biomedica, affermando, così come nel Decreto legislativo 116/1992, che il loro utilizzo è possibile unicamente quando non sia possibile ottenere i medesimi risultati attraverso l'impiego di altre specie animali.

All'articolo 9 della Direttiva 2010/63/UE viene vietato l'impiego nella sperimentazione degli animali selvatici. È comunque ammessa una deroga unicamente nel caso in cui sia

scientificamente provata l'impossibilità di ottenere i medesimi risultati utilizzando animali provenienti da allevamenti.

Nell'articolo 10, si fa riferimento agli animali allevati per essere impiegati nella sperimentazione, rimandando all'allegato I e affermando che gli animali elencati in tale allegato "possano essere utilizzati unicamente nelle procedure per le quali sono stati allevati". Tale allegato cita le seguenti specie animali: topo (*Mus musculus*), ratto (*Rattus norvegicus*), porcellino d'India (*Cavia porcellus*), criceto siriano (*Mesocricetus auratus*), criceto cinese (*Cricetulus griseus*), gerbillo della Mongolia (*Meriones unguiculatus*), coniglio (*Oryctolagus cuniculus*), cane (*Canis familiaris*), gatto (*Felis catus*), tutte le specie di primati non umani, rana [*Xenopus (laevis, tropicalis)*, Rana (*temporaria, pipiens*)] e pesce zebra (*Danio rerio*). Rispetto all'allegato I del Decreto legislativo 116/1992, sono stati aggiunti il criceto cinese, il gerbillo della Mongolia, le 4 specie di rane e il pesce zebra, probabilmente a causa di un loro sempre maggiore utilizzo nella sperimentazione, mentre la quaglia (*Coturnix coturnix*) è stata eliminata dall'elenco forse a causa delle difficoltà di reperire stabilimenti fornitori per la sperimentazione.

L'articolo 11 vieta l'utilizzo degli animali randagi e selvatici appartenenti alle specie domestiche, consentendo tuttavia una deroga nel caso in cui gli studi abbiano come finalità la salute e il benessere di tali animali o riguardino gravi minacce per l'ambiente, l'uomo o gli animali. Attualmente l'utilizzo dei randagi risulta vietato perché, come ricordato in precedenza, il Decreto legislativo 116/1992 include il cane e il gatto tra le specie animali che possono essere usate per finalità sperimentali solo a condizione che provengano da stabilimenti allevatori; inoltre, a seguito di un'analisi delle motivazioni per le quali l'utilizzo dei randagi può essere concesso, risulta evidente di come si tratti di una eventualità assai remota.

Per quanto riguarda l'impiego dell'anestesia, le disposizioni della Direttiva 2010/63/UE e del Decreto legislativo 116/1992 sono simili, si sottolinea tuttavia il riferimento della Direttiva 2010/63/UE all'obbligatorietà, sempre compatibilmente con le finalità dell'esperimento, dei trattamenti analgesici post-operatori qualora gli animali siano sottoposti a interventi chirurgici per ragioni sperimentali.

Altro aspetto interessante è la classificazione della gravità delle procedure a cui fa riferimento l'articolo 15 della Direttiva 2010/63/UE; le procedure in questo articolo vengono classificate in quattro gruppi, "non risveglio", "lievi", "moderate" e "gravi", di cui una serie di esempi vengono forniti dall'allegato VIII. Risulta chiara l'importanza di questa classificazione quando si deve decidere se un protocollo di ricerca sia soggetto a regime di comunicazione ai sensi dell'articolo 7 del Decreto legislativo 116/1992 o di autorizzazione ai sensi degli articoli 8 e 9 dello stesso decreto. Infatti, la misurazione del dolore è attualmente un punto al contempo dirimente e, entro certi limiti, soggettivo poiché legato alla sensibilità individuale. A tale riguardo è evidente che una lista di procedure possa fornire un valido aiuto sia ai ricercatori che stilano i protocolli, sia all'Autorità Regolatoria, che è preposta alla valutazione dei protocolli medesimi.

Gli animali, secondo quanto stabilito dall'articolo 16 possono essere riutilizzati a condizione che la prima procedura sia classificata come "lieve" o "moderata", che lo stato di salute e di benessere dell'animale sia stato completamente ristabilito e che la procedura successiva sia classificata come "lieve", "moderata" o "non risveglio". In casi eccezionali lo stesso articolo prevede che un animale, dopo essere stato visitato da un medico veterinario, possa essere riutilizzato a condizione che esso non sia sottoposto più di una volta a una procedura che comporti "intenso dolore, angoscia o sofferenza equivalente". Come già precedentemente rimarcato, si sottolinea nuovamente l'importanza dell'aiuto fornito da una lista di procedure divisa per gravità nel caso in cui debba essere deciso il riutilizzo di un animale. Attualmente il Decreto legislativo 116/1992 stabilisce che gli animali non possano essere utilizzati più di una volta in esperimenti che provochino "intenso dolore, angoscia o sofferenza equivalente", lasciando comunque agli

sperimentatori, entro certi margini, una maggiore libertà decisionale. Per quanto riguarda la fine della procedura, contemplata dall'articolo 17, essa viene definita non solamente come il termine della necessità di effettuare nuove osservazioni, ma anche, riferendosi agli animali geneticamente modificati, come il momento in cui non è più previsto per la discendenza un dolore equivalente o superiore a quello provocato dall'inserimento di un ago.

Altri aspetti interessanti della Direttiva sono la definizione di programmi per l'eventuale condivisione tra i diversi Stati membri degli organi e dei tessuti degli animali soppressi, come stabilito dall'articolo 18, e la possibilità di reinserire gli animali, una volta ultimate le procedure sperimentali, e a condizione che lo stato di salute degli animali stessi lo permetta e che non sussistano rischi per la sanità pubblica, in un habitat o in sistemi di allevamento adeguati.

Infine saranno analizzati in questo elaborato gli aspetti della Direttiva 2010/63/UE legati all'autorizzazione dei progetti. Come previsto dall'articolo 36 per la realizzazione di un progetto risulta necessario disporre di una autorizzazione e di una valutazione dell'Autorità competente. Viene tuttavia permesso agli Stati membri di introdurre una procedura amministrativa semplificata, come spiegato nel successivo articolo 42, nel caso in cui le procedure siano classificate come "non risveglio", "lievi" o "moderate", non utilizzino primati non umani che sono necessari per soddisfare requisiti regolatori, o utilizzano animali a fini di produzione o diagnostici con metodi prestabiliti.

La domanda del progetto deve contenere la proposta del progetto, una sintesi non tecnica del progetto e una serie di informazioni elencate nell'allegato VI, quali la specie, il numero, l'origine e le fasi della vita degli animali, la descrizione delle procedure, il ricorso ai metodi di sostituzione, riduzione o perfezionamento, l'impiego di anestetici e antidolorifici, l'uso di punti finali umanitari, l'eventuale riutilizzo degli animali, la classificazione della gravità delle procedure, le condizioni di stabulazione, i metodi di soppressione e la competenza del personale incluso nel progetto. Ai sensi dell'articolo 38, per la concessione dell'autorizzazione devono essere valutati gli obiettivi del progetto, l'applicazione del principio delle 3R, la gravità delle procedure e il rapporto tra i danni provocati agli animali e i benefici attesi dalla sperimentazione; sempre ai sensi del medesimo articolo l'Autorità competente valuta l'opportunità di effettuare una valutazione retrospettiva del progetto e questo fatto rappresenta un aspetto innovativo rispetto alla normativa vigente che non richiede attualmente nessun controllo sui risultati ottenuti una volta terminata la sperimentazione. La suddetta analisi retrospettiva ha il compito di valutare se gli obiettivi del progetto siano stati raggiunti in rapporto al numero e alla specie degli animali impiegati e alla gravità delle procedure attuate. La valutazione retrospettiva è sempre obbligatoria nelle sperimentazioni che comportano l'uso di primati non umani, o l'applicazione di procedure classificate come gravi.

L'articolo 40 della Direttiva 2010/63/UE afferma che le autorizzazioni non possano essere concesse per un periodo superiore a 5 anni, a differenza del Decreto legislativo 116/1992 che attualmente limita a 3 anni il periodo massimo di validità di una autorizzazione. L'articolo 41 della Direttiva 2010/63/UE stabilisce che la decisione riguardante l'autorizzazione debba pervenire al richiedente entro 40 giorni lavorativi dal ricevimento della domanda; infine, in casi di particolare complessità, l'Autorità competente può prorogare una volta soltanto il suddetto periodo di ulteriori 15 giorni lavorativi. Da quanto esposto si evince che il recepimento italiano della nuova Direttiva europea apporterà sicuramente svariate modifiche al settore della sperimentazione animale in Italia, facilitando alcuni aspetti, quali la valutazione del dolore, il lavoro degli sperimentatori e delle Autorità Regolatorie, ma richiedendo al contempo maggiori sforzi a livello di controllo in relazione, ad esempio, al maggior numero di specie animali incluse nella Direttiva stessa o alle disposizioni riguardanti gli animali geneticamente modificati.

Bibliografia

Commissione Europea. Direttiva 86/609/CEE del Consiglio del 24 novembre 1986 concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative degli Stati Membri relative alla protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L358:1-28.

Comunità Europea. Direttiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 22 settembre 2010 sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L1276 del 20 ottobre 2010.

Comunità Europea. Versione Consolidata del Trattato sul Funzionamento dell'Unione Europea. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* C 115 del 9 maggio 2008.

Italia. Decreto Legislativo 27 gennaio 1992 n.116. Attuazione della Direttiva n. 86/609/CEE in materia di protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici. *Gazzetta Ufficiale - Supplemento Ordinario* n. 40 del 18 febbraio 1992.