

INDIRIZZI DI SALUTO

*Luca Scuccimarra**

Rivolgo innanzitutto il mio benvenuto e il mio ringraziamento a nome del Dipartimento di Scienze Politiche – promotore del progetto di ricerca e del convegno di oggi – a quanti, numerosi, hanno aderito, come oratori e come uditori, a questo nostro prezioso incontro sui metodi alternativi alla sperimentazione animale.

In apertura dei lavori tengo a ribadire la mia convinzione, di natura scientifica – anche se mi occupo di tutt’altro, essendo uno storico del pensiero politico – circa l’importanza di iniziative di questo tipo. Credo, infatti, che, di fronte alle sfide complesse che ci pone questa fase – auspico accelerata – di transizione dalla sperimentazione animale ai possibili metodi ad essa alternativi, occorra una rinnovata e grande alleanza tra ambiti disciplinari diversi e a volte apparentemente inconciliabili. Ritengo conseguentemente necessario che le diverse “culture” (come si chiamavano un tempo), ovvero quella scientifica, quella umanistica e quella giuridica – che io continuo a considerare parte integrante della grande cultura umanistica – tornino a dialogare e ad interagire, non solo nella fase puramente operativo-applicativa, allorché si tratti di regolamentare ambiti scientifici con delicate implicazioni ambientali, etiche ed anche economiche e politiche, ma anche e soprattutto nel momento progettuale delle diverse tipologie di attività.

Ed è proprio in questo senso che l’incontro di oggi può essere davvero considerato una sorta di esperimento pilota che, a livello di Ateneo, ci consente di dialogare con altri segmenti di questo variegato universo del sapere che è La Sapienza; segmenti che tradizionalmente seguono percorsi di ricerca diversi dai nostri ma con i quali penso sia importante conoscersi ed imparare a collaborare.

È, infatti, da questi inediti confronti interdisciplinari che possono nascere idee e nuove prospettive che possono avere anche una ricaduta – vorrei dire – civile: quelle sulle quali ci troviamo oggi a dibattere sono infatti questioni cruciali, ormai, non per il nostro futuro, ma già per il nostro presente, che richiedono un ascolto partecipato e consapevole di punti di vista diversi e la collaborazione convinta di tutti i soggetti coinvolti, istituzionali e non, accademici e non.

* Direttore del Dipartimento di Scienze Politiche – Sapienza, Università di Roma.

Penso che tutti abbiamo quindi motivo di arricchimento da questo confronto di prospettive in partenza ed in apparenza difficilmente conciliabili tra loro.

Vi ringrazio, quindi, nuovamente di essere venuti così numerosi ad una iniziativa che sarà indubbiamente utile a tutti e che costituisce il primo prezioso passo di un fruttuoso percorso di dialogo interdisciplinare. Il fine è comune, il passo con cui raggiungerlo dobbiamo deciderlo insieme.

*Claudio Vincelli**

Desidero innanzitutto ringraziare l'Università "La Sapienza" nella persona del Prof. Luca Scuccimarra (Direttore del dipartimento di Scienze Politiche) e tutti gli organizzatori per l'invito rivolto a me e a i Carabinieri del NAS a partecipare a questo importante consesso, che ha lo scopo di approfondire aspetti che si occupano di sperimentazione clinica.

Lo Stato italiano vanta il primato di aver introdotto alcune tra le prime norme richiamanti un'apposita tutela degli animali nel campo scientifico. Già nel primo codice penale redatto dopo l'Unità d'Italia, quello noto come "Codice Zanardelli", entrato in vigore nel 1890, si inseriva l'art. 491, una norma contro il maltrattamento di animali, che così recitava: "Chiunque incrudelisce verso animali o, senza necessità li maltratta ovvero li costringe a fatiche manifestamente eccessive, è punito con ammenda. (...) Alla stessa pena soggiace anche colui il quale anche per il solo fine scientifico o didattico, ma fuori dei luoghi destinati all'insegnamento, sottopone animali ad esperimenti tali da destare ribrezzo". Sebbene in questo caso il riferimento alla crudeltà fosse da riferire più all'animo umano, ovvero allo stato mentale del soggetto¹, che al riconoscimento di una tutela per l'animale maltrattato, la norma andava comunque ad intervenire con incisiva chiarezza contro la crudeltà gratuita nei confronti degli animali.

Il 12 giugno 1913 fu il re² in persona, ad intervenire nuovamente nella materia, promulgando la Legge n. 611 recante provvedimenti per la protezione degli animali. La Legge integrava l'art. 491 con queste parole: "Fermo il disposto dell'art. 491 del Codice penale sono specialmente proibiti gli atti crudeli su animali, l'impiego di animali che per vecchiezza, ferite o malattie non

* Comandante dei NAS Carabinieri.

¹ Già a quei tempi il legislatore era fin troppo consapevole che delle crudeltà gratuite nei confronti degli animali potrebbero essere il seme di future sevizie verso le persone, tant'è vero che lo stesso Zanardelli, relazionando alla Camera il 22 novembre 1887 citò l'adagio latino del poeta Ovidio: "*Saevitia in bruta est tirocinium crudelitatis in homines*" (La crudeltà nei confronti degli animali induce alla crudeltà anche verso gli uomini).

Fonte: http://www.olir.it/areetematiche/42/documents/mannucci_animaliediritto.pdf.

² Vittorio Emanuele II.

siano più idonei a lavorare, il loro abbandono, i giuochi che importino strazio di animali, le sevizie nel trasporto del bestiame, l'accecamento degli uccelli ed in genere le inutili torture per lo sfruttamento industriale di ogni specie animale (...)"

L'art. 9 di questa Legge parlava degli "esperimenti scientifici su animali viventi", stabilendo che gli stessi "potessero essere fatti soltanto da persona munita di speciale licenza", a eccezione di "docenti o assistenti nelle Università o in altri Istituti scientifici del regno, o dai sanitari e veterinari addetti ai laboratori e agli uffici governativi". In questa ennesima separazione tra la sperimentazione animale e tutti gli altri casi di maltrattamento, si vede la diversa considerazione da parte del legislatore per questa pratica che, secondo il costume dell'epoca, se ha motivazioni "scientifiche" si autogiustifica per il "progresso dell'umanità".

Con il Codice Rocco del 1930, la legislazione restò sostanzialmente immutata, mentre nel 1931 venne approvata la Legge n. 924 sulla vivisezione, leggermente modificata dalla 615 del 1° maggio 1941, che resta poi in vigore fino al 1992, anno in cui l'Italia ha recepito con il D.Lgs. 27 gennaio 1992, n. 116 la Direttiva 86/609/CEE che si occupava specificatamente di "protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici". Questa prima Direttiva UE nel settore fu oggetto di una lunga revisione, confluita nella Direttiva 2010/63/UE, fondata essenzialmente sul principio delle 3R³, e recepita in Italia dal D.Lgs. 4 marzo 2014, n. 26.

Fin dal 1962, anno della sua creazione, il Comando Carabinieri per la Tutela della Salute trova, nell'ambito delle sue attività istituzionali, la tutela del benessere degli animali, sia da affezione che da reddito, ed ha quindi vigilato anche sulla tutela degli animali usati nella sperimentazione clinica.

L'attuale quadro normativo italiano è colmo di norme specificatamente rivolte alla tutela degli animali, ed ha ormai superato gli originari criteri volti alla protezione per la sensibilità umana ovvero per il diritto di proprietà, quanto invece si pone come strumento per la difesa degli animali. L'art. 1, comma 1, Legge n. 189/2004⁴ ha aggiunto all'interno del Codice Penale un

³ Il principio delle 3R, proposto nel 1959 dagli scienziati britannici William Russell e Rex Burch, prevede, nell'ambito della sperimentazione animale:

– Rimpiazzare (Replacement): sostituzione del modello animale con metodologie alternative quando possibile;

– Ridurre (Reduction): riduzione del numero di animali impiegati a fini sperimentali, tale comunque da ottenere una quantità di dati numericamente significativi di sufficiente precisione;

– Rifinire (Refinement): riduzione, a un minimo assoluto, del disagio imposto agli animali usati nella sperimentazione, migliorando le condizioni di vita degli animali da sperimentazione.

Fonte: http://www.treccani.it/enciclopedia/principio-delle-3r_%28Lessico_del_XXI_Secolo%29/.

⁴ Con questa Legge il maltrattamento è diventato un "delitto", cosa questa che evita l'estin-

Titolo intero, il IX *bis*, “*Dei delitti contro il sentimento per gli animali*”, ed è uno di quelli esplicativi di questa evoluzione. Prima di questa Legge, all’interno del Codice Penale, una delle massime tutele per gli animali era rappresentata dall’art. 638⁵, il quale punisce l’“*uccisione o il danneggiamento di animali altrui*”. In questo caso la norma tratta di un “*delitto contro il patrimonio*”, e l’animale era tutelato solo quale “*proprietà*” di un terzo soggetto. L’art. 544-*bis* invece, riconosce una condotta lesiva nei confronti dell’animale stesso.

Un altro dei capisaldi della normativa a tutela degli animali, è rappresentata dall’544-*ter* c.p.⁶, che punisce il “*Maltrattamento di animali*”, e che è andato ad integrare la previsione dell’art. 727 c.p.⁷, il quale, al comma secondo, punisce con l’arresto fino a un anno e con un’ammenda fino a 10.000 euro “*chiunque detiene animali in condizioni incompatibili con la loro natura e produttive di gravi sofferenze*”.

L’art. 544-*quinqües*⁸, che vieta e punisce il combattimento tra gli animali,

zione del reato con l’oblazione, allungando nel contempo i termini di prescrizione fino a 5 anni.

Fonte: <http://www.ordiniveterinari piemonte.it/rivista/03n10/05.htm>.

⁵ Art. 638. Uccisione o danneggiamento di animali altrui: Chiunque senza necessità uccide o rende inservibili o comunque deteriora animali che appartengono ad altri è punito, salvo che il fatto costituisca più grave reato, a querela della persona offesa, con la reclusione fino a un anno o con la multa fino a euro 309. La pena è della reclusione da sei mesi a quattro anni, e si procede d’ufficio, se il fatto è commesso su tre o più capi di bestiame raccolti in gregge o in mandria, ovvero su animali bovini o equini, anche non raccolti in mandria.

Non è punibile chi commette il fatto sopra volatili sorpresi nei fondi da lui posseduti e nel momento in cui gli recano danno.

⁶ Art. 544-*ter*. Maltrattamento di animali: 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 ecologiche è punito con la reclusione da tre mesi a un anno o con la multa da 3.000 a 15.000 euro. La stessa pena si applica a chiunque somministra agli animali sostanze stupefacenti o vietate ovvero li sottopone a trattamenti che procurano un danno alla salute degli stessi. La pena è aumentata della metà se dai fatti di cui al primo comma deriva la morte dell’animale.

⁷ Art. 727. Abbandono di animali: Chiunque abbandona animali domestici o che abbiano acquisito abitudini della cattività è punito con l’arresto fino ad un anno o con l’ammenda da 1.000 a 10.000 euro. Alla stessa pena soggiace chiunque detiene animali in condizioni.

⁸ Art. 544-*quinqües*. Divieto di combattimenti tra animali: Chiunque promuove, organizza o dirige combattimenti o competizioni non autorizzate tra animali che possono metterne in pericolo l’integrità fisica è punito con la reclusione da uno a tre anni e con la multa da 50.000 a 160.000 euro. La pena è aumentata da un terzo alla metà:

- 1) se le predette attività sono compiute in concorso con minorenni o da persone armate;
- 2) se le predette attività sono promosse utilizzando videoriproduzioni o materiale di qualsiasi tipo contenente scene o immagini dei combattimenti o delle competizioni;
- 3) se il colpevole cura la ripresa o la registrazione in qualsiasi forma dei combattimenti o delle competizioni.

Chiunque, fuori dei casi di concorso nel reato, allevando o addestrando animali li destina sotto qualsiasi forma e anche per il tramite di terzi alla loro partecipazione ai combattimenti di cui al primo comma è punito con la reclusione da tre mesi a due anni e con la multa da 5.000 a

è anch'esso specchio sia di questa rinnovata sensibilità, contrastando un fenomeno odioso, molto spesso gestito dalle organizzazioni criminali.

Infine, l'art. 544-*sexies* ha previsto, per i casi di maltrattamento, il sequestro degli animali vittime del reato, al fine di tutelarne la salute e il benessere, e la loro confisca in caso di condanna.

Recependo questa rinnovata soluzione legislativa, sempre più condivisa dal cittadino per il benessere degli animali, negli ultimi anni i Carabinieri del NAS hanno effettuato mirati controlli proprio in questo campo, concentrandosi sia sulle verifiche inerenti eventuali maltrattamenti degli animali, che sulle condizioni igieniche nelle quali gli stessi venivano tenuti.

Uno dei reati che a volte il Comando Carabinieri per la Tutela della Salute si è trovato a contestare riguarda la violazione dell'art. 443⁹ c.p. "*Commercio e somministrazione di medicinali guasti*", che è significativo delle molteplici attività di questa Istituzione. Sebbene infatti nella sua funzione originale il reato sia stato previsto per l'essere umano, lo stesso trova perfetta attuazione anche per la tutela degli animali, siano essi da affezione o da reddito.

Proprio nell'ambito della tutela del benessere degli animali da reddito, i Carabinieri del NAS sono parte attiva nell'omonimo Piano Nazionale che fa capo al Ministero della Salute. Nel nostro Paese la protezione degli animali, inclusi pesci, rettili e anfibi, allevati o custoditi per la produzione di derrate alimentari, lana, pelli, pellicce o per altri scopi agricoli è regolamentata dal D.Lgs. n. 146/2001, attuazione della Direttiva 98/58/CE e da norme specifiche relative all'allevamento dei vitelli, dei suini, delle galline ovaiole.

In generale, i controlli relativi al benessere degli animali sono stati effettuati sia di iniziativa, nell'ambito della normale attività istituzionale del Reparto, che su segnalazione delle associazioni di categoria.

Nel solco della tradizione storica dell'Arma dei Carabinieri, i NAS hanno portato a termine le ispezioni con serena professionalità, che gli ha permesso di discernere quei casi in cui vi erano delle effettive violazioni, da quelli in cui le segnalazioni erano stimulate da spinte emotive, non omettendo di intervenire equamente anche in quei casi in cui determinate forme di protesta avevano prevaricato i limiti consentiti dalla Legge.

Nel ricordare la *mission* e l'impegno continuo dei Carabinieri-NAS a presidio del bene primario della salute umana e animale, esprimo l'auspicio di sempre per produttivi sereni confronti nell'interesse della collettività.

30.000 euro. La stessa pena si applica anche ai proprietari o ai detentori degli animali impiegati nei combattimenti e nelle competizioni di cui al primo comma, se consenzienti. Chiunque, anche se non presente sul luogo del reato, fuori dei casi di concorso nel medesimo, organizza o effettua scommesse sui combattimenti e sulle competizioni di cui al primo comma è punito con la reclusione tre mesi a due anni e con la multa da 5.000 a 30.000 euro.

⁹Art. 443. Commercio o somministrazione di medicinali guasti: Chiunque detiene per il commercio, pone in commercio o somministra medicinali guasti o imperfetti è punito con la reclusione da sei mesi a tre anni e con la multa non inferiore a euro 103.

*Ugo Santucci**

Buongiorno a tutti, io rappresento il Ministero della Salute, doveva essere presente il Direttore Generale Borrello che non è potuto intervenire per sopravvenuti impegni, e comunque io sono il direttore dell'ufficio che si occupa del benessere e si occupa anche del rilascio delle autorizzazioni ed approvazione dei progetti di ricerca che prevedono l'impiego di animali. Quello che voglio dire su questo argomento è che trattasi di un argomento tra virgolette quasi nuovo sull'approccio dell'amministrazione, un approccio che deriva dagli obblighi di legge; quindi parliamo nell'art. 37 del decreto n. 26/2014 che recepisce la Direttiva 2010/63.

Certamente questa normativa ha stravolto un poco la situazione pregressa mettendo al centro il benessere degli animali e pretendendo, da parte di tutti gli attori, dei protocolli molto rigidi in modo tale da rendere trasparente più possibile questo sistema e raggiungere l'obiettivo di una sua sostituzione, dove è possibile, via via del modello animale con modelli alternativi.

Io personalmente è la prima volta che partecipo ad un evento pubblico sui metodi alternativi, e non nascondo la mia curiosità quindi è una duplice veste, cioè spiegare il ruolo che si svolge ma soprattutto ascoltare i vari relatori (tra cui ci sono anche delle persone che ho avuto modo di incontrare in altre occasioni). Una di queste occasioni è un tavolo tecnico che muove i primi passi proprio sui metodi alternativi. Abbiamo anche un centro di referenza presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna che è il braccio operativo del Ministero ed uno degli obiettivi di questo centro è promuovere ed eseguire tutte le dinamiche che ruotano intorno a questo argomento.

Dicevo del tavolo tecnico poiché è un tavolo che è stato istituito dal Ministro Balduzzi su richiesta del partito animalista europeo e che è stato ripreso di recente. Sono state tenute soltanto due riunioni e non vi nascondo che già questo tavolo tra le valutazioni che sta facendo c'è quella di divulgare e di ricevere attraverso degli *input* dal mondo scientifico un questionario che si sta perfezionando che verrà poi come si suol dire somministrato a tutti. L'altro

* Direttore dell'ufficio VI Direzione generale della Sanità animale e dei farmaci veterinari presso il Ministero della Salute.

argomento importante è quello di predisporre un elenco e delle indicazioni di quali siano questi metodi alternativi, perché, al Ministero della Salute, non sono stati segnalati, durante i quasi 1.300 progetti di ricerca autorizzati con la normativa vigente. In effetti c'è questa lacuna, da cui scaturisce la mia curiosità per questa giornata che io accolgo favorevolmente con curiosità ma anche con spirito di apprendimento. Si tratta di una giornata importante perché da questa discussione tutti quanti capiremo di cosa stiamo parlando da un punto di vista concreto, diciamo questo è un argomento che è stato inserito nella direttiva quindi rimane a cuore del legislatore comunitario e di quello nazionale che ha curato il recepimento della direttiva. Il tavolo è stato costruito inserendo con cura varie professionalità che coprono non solo il mondo animalista ma anche quello scientifico di un certo livello. Il tavolo presenta delle difficoltà però è un tavolo molto attento che, oltre la pubblica amministrazione utilizza anche le conoscenze di altre professionalità che sono anche qui oggi in platea.

In conclusione il Ministero è molto attento a questo argomento.

PREMESSE

**METODI ALTERNATIVI
ALLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE:
DAL PROGETTO MULTIDISCIPLINARE
AL CONGRESSO**

*Maria Vittoria Ferroni, Fabio Di Domenico e Marzia Perluigi**

L'idea di questo convegno nasce dall'incontro tra due diverse realtà: quella giuridica (Prof.ssa Maria Vittoria Ferroni, Dott.ssa Carla Campanaro) e quella scientifica (Prof. Fabio Di Domenico, Prof.ssa Marzia Perluigi, Dott. Eugenio Barone) entrambe interessate al tema della sperimentazione animale seppur con competenze e finalità differenti. Tale incontro si è tradotto in una concreta proposta progettuale dal titolo "*Alternative methods to animal testing: legal and social, scientific and technological aspects*" che ha ricevuto un finanziamento nell'ambito dei progetti di ricerca multidisciplinari promossi dalla Sapienza Università di Roma. Il progetto è nato con lo scopo di avviare un percorso d'incontro tra la comunità giuridica e scientifica sul tema della sperimentazione animale nell'ambito della ricerca biomedica di base e clinica. In particolare, era nostra intenzione indagare, ricostruire e rendere fruibile a un pubblico più ampio possibile quelli che sono gli standard nazionali ed europei di legge, i principi sociali e le principali tecniche di laboratorio approvate a livello internazionale riguardo i metodi alternativi alla sperimentazione animale. A partire dai risultati raggiunti da EURL-ECVAM (Unione Europea di riferimento Laboratorio per le alternative di sperimentazione animale), dal punto di vista puramente scientifico, abbiamo mosso i primi passi con l'intento di informare prima noi stessi e poi altri colleghi ricercatori sui progressi in materia di metodi alternativi, le tecniche attualmente a disposizione e il loro possibile utilizzo nella pratica sperimentale quotidiana, focalizzando l'attenzione sugli strumenti a disposizione, anche da un punto di vista economico. Sconsolatamente,

* Prof. Maria Vittoria Ferroni, Professore associato, Dipartimento di Scienze Politiche 'Sapienza' Università degli Studi di Roma, Prof. Fabio Di Domenico, Professore associato, Dipartimento di Scienze Biochimiche, A. Rossi Fanelli, 'Sapienza' Università degli Studi di Roma, Prof. Marzia Perluigi, Professore associato, Dipartimento di Scienze Biochimiche, A. Rossi Fanelli, 'Sapienza' Università di Roma.

ci siamo resi conto che in Italia la ricerca e la divulgazione di metodi alternativi alla sperimentazione animale negli ambienti accademici è un'azione solitaria frutto dell'iniziativa del singolo ricercatore o docente. Una delle cause principali sembra proprio essere una mancanza di conoscenze adeguate riguardo le possibili scelte metodologiche da intraprendere e le eventuali ricadute etiche e sociali, che rendono l'utilizzo dei metodi alternativi alla sperimentazione animale una opzione sotto utilizzata da chi opera nell'ambito della ricerca scientifica. Allo stesso modo, la scelta di soluzioni alternative che sono nella maggior parte dei casi tecnologicamente più avanzate rispetto alla sperimentazione animale, richiede un sostanziale investimento da parte del ricercatore non realizzabile con le misure economiche a disposizione e senza sovvenzioni e/o dotazioni specifiche. Tali spunti critici evidenziano le carenze riguardo il ruolo che il governo dovrebbe assumere per promuovere e finanziare l'informazione e lo sviluppo di metodi alternativi alla sperimentazione animale con fondi *ad hoc*. In aggiunta, la mancanza di specifici corsi universitari e non, accentua l'inadeguata conoscenza dello stato dell'arte, potenzialità e limiti scientifici, in materia di sviluppo di metodi alternativi alla sperimentazione animale. Analogamente, avendo un contatto diretto con il personale scientifico coinvolto con elevata esperienza nell'uso degli animali in campo biomedico abbiamo avvertito la necessità di ricevere una maggiore informazione riguardo le recenti modifiche delle norme italiane ed europee che regolamentano l'uso di animali nella ricerca. Infatti, la diversità del linguaggio giuridico rispetto a quello scientifico e la mancanza di strumenti di comprensione come piattaforme di dialogo non agevolano il recepimento e la messa in pratica di nuove norme legislative. Il singolo ricercatore, anche in questo caso, non è adeguatamente formato dalla struttura di riferimento (università – centri di ricerca) che dovrebbero invece investire in corsi di formazione/aggiornamento riguardanti sia i metodi alternativi sia le nuove regolamentazioni in materia di sperimentazione animale.

In questo contesto, ci è sembrato più che opportuno impegnarci per l'organizzazione di un congresso con lo scopo di divulgare nuove conoscenze riguardo la sperimentazione animale trattando l'argomento sia dal punto di vista scientifico, ovvero informando sui vantaggi ed i limiti delle nuove tecnologie a disposizione, sia dal punto di vista giuridico, illustrando nel particolare e con linguaggio comprensibile da più ambiti culturali le novità introdotte dalla Direttiva 2010/63/UE e dal D.Lgs. 4 marzo 2014, n. 26 di recepimento della medesima sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici.

SEZIONE I. RELAZIONI SCIENTIFICHE

PROSPETTIVE DELLA RICERCA SCIENTIFICA ATTRAVERSO METODI ALTERNATIVI ALLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE

*Thomas Hartung e Costanza Rovida**

Il Centro per le Alternative ai test sugli animali (CAAT, <http://caat.jhsph.edu>) nasce nel 1981, grazie all'intraprendenza del Prof. Alan Goldberg. A quell'epoca, parlare di metodi alternativi era davvero strano e poco considerato dalla comunità scientifica. Via via il concetto è diventato sempre più familiare, nonostante fino al 2000 i metodi alternativi fossero considerati solo per compassione verso gli animali e ancora non si pensava potessero portare un vero contributo alla ricerca scientifica. I movimenti dei consumatori, sempre più pressanti, hanno portato le industrie cosmetiche ad investire di più in questo settore, per poter offrire al mercato prodotti sicuri ed eticamente qualificati. Così lo sviluppo di metodi di valutazione tossicologica senza uso di animali vivi è diventato qualcosa di concreto e con il tempo si è presa consapevolezza del fatto che questi metodi così detti alternativi, potessero rappresentare un modo nuovo per studiare la salute umana in modo più predittivo. Nel 2005 la rivista *Science* pubblica un articolo scritto dal fondatore di CAAT Alan Goldberg insieme a Hartung, in cui si dimostra che ridurre la sperimentazione animale può portare a un migliore rigore scientifico e a una più precisa rilevanza per l'uomo¹⁻².

La storia di CAAT continua con successo e nel 2010 nasce CAAT Europe (<http://cms.uni-konstanz.de/leist/caat-europe>) con l'ambizione di creare un ponte tra Stati Uniti ed Europa per favorire il dialogo e uno scambio costrut-

* Thomas Hartung, Department of Molecular Microbiology and Immunology, Johns Hopkins University Bloomberg School of Public Health, Director Center for Alternatives to animal testing USA.

Costanza Rovida, 'Scientific Officer' Center for Alternatives to animal testing (CAAT) – Europe.

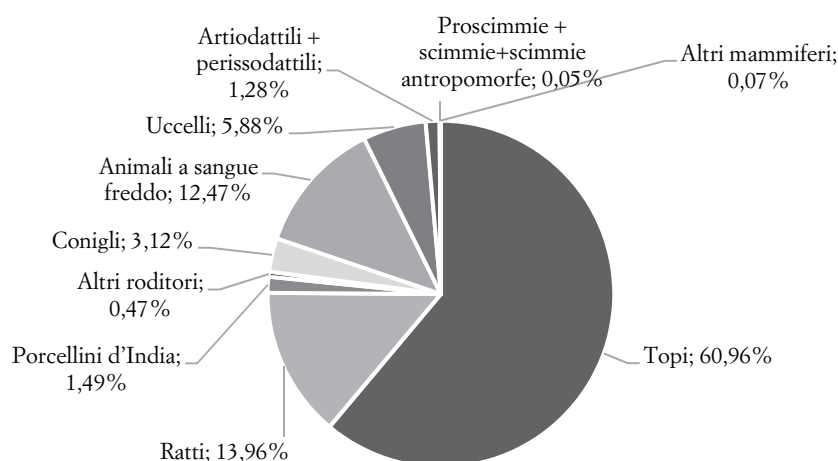
¹ GOLDBERG A.-HARTUNG T. (2006), *Non solo per i conigli*, in *Le Scienze*, 450: 78-85.

² GOLDBERG A.-HARTUNG T. (2006), *Protecting more than animals*, in *Scientific American*, 84-93.

tivo di informazioni tra i due continenti. Con la consapevolezza che la ricerca da sola senza l'appoggio della legislazione non può fare molto, si è deciso nel 2012 di aprire anche una sezione di CAAT interamente dedicata alla diffusione della conoscenza di queste possibilità in ambito politico, con particolare attenzione al mondo della Commissione Europea e al Parlamento Europeo (CAAT Europe Policy Program). L'ultima nata della famiglia CAAT è CAAT Academy (www.caat-academy.org), con lo scopo di organizzare training teorico-pratici in varie località europee e internazionali, per imparare come usare e applicare i metodi in vitro, cioè senza animali.

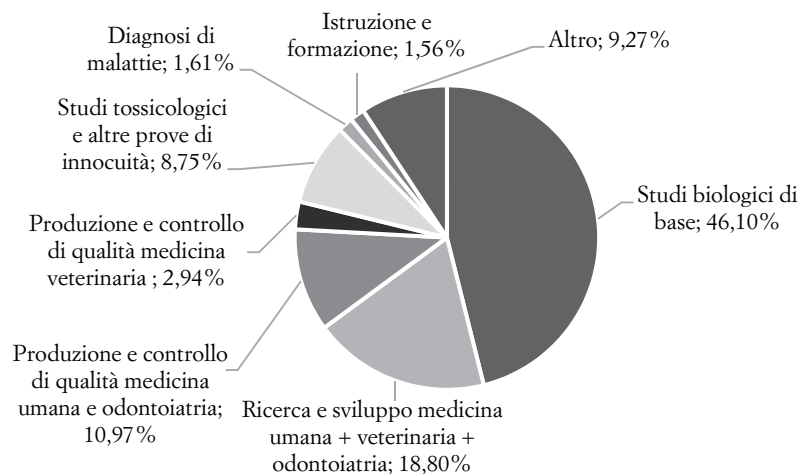
Quale è oggi l'impatto degli esperimenti scientifici con gli animali? Nell'ultimo *report* della Commissione Europea, pubblicato nel 2013 con i dati relativi al 2011³, si registra l'uso in Europa di circa 12 milioni di animali a scopo scientifico di cui la maggior parte impiegati per ricerche di biologia di base (Figura 1a, b).

Figura 1a – *Animali utilizzati nell'Unione Europea a scopo scientifico. Dati relativi all'anno 2011*



³ Commissione Europea (2013), *Relazione della Commissione al Consiglio e al Parlamento Europeo – Settima relazione sulle statistiche riguardanti il numero di animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici negli Stati membri dell'Unione europea*. SWD(2013) 497 final (http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/reports_en.htm).

Figura 1b – Scopo dell'uso di animali utilizzati nell'Unione Europea a scopo scientifico. Dati relativi all'anno 2011



Se si confrontano questi numeri con i dati del 2005, si scopre che l'industria farmaceutica ha ridotto gli esperimenti con animali del 40%, dimostrando che probabilmente gli investimenti sono stati dirottati proprio su altre tecnologie.

Per capire cosa sta succedendo, è necessario andare indietro nel tempo e studiare la storia dei test tossicologici. L'obbligatorietà dei test sugli animali per poter mettere in commercio un prodotto destinato ai consumatori nasce in seguito ad un caso molto grave avvenuto nel 1933, quando una donna perse la vista a causa di coloranti a base di anilina contenuti in un mascara. Ci sono stati altri casi simili e nel 1938 addirittura molti bambini sono morti in seguito all'ingestione di un eccipiente tossico contenuto in uno sciroppo per la tosse. Questi fatti hanno spinto la FDA (Food & Drug Administration) americana ad emanare la prima legge per cui si richiedeva obbligatoriamente test su animali per valutare la sicurezza di farmaci, cosmetici e additivi alimentari, prima di immetterli sul mercato. Questo provvedimento ha sicuramente contribuito a salvaguardare la salute di molte persone e probabilmente è servito a salvare parecchie vite umane. Ciononostante, sono passati quasi 80 anni e non possiamo più accontentarci dei risultati approssimativi che si ottengono con i test in vivo. È giunto il momento di cambiare, tenendo in considerazione che l'uomo non è un ratto di 70 Kg e che spesso dati fuorvianti ottenuti da sperimentazioni con animali hanno portato anche a decisioni sbagliate. Inoltre bisogna aggiungere che i test che utilizzano animali, sono troppo lunghi e costosi con la conseguenza di essere applicati solo per lo studio di in un esiguo nu-

mero di sostanze, lasciandone la maggior parte senza caratterizzazione tossicologica. Le differenze tra animali di diversa specie sono davvero tante. Non solo c'è una evidente disuguaglianza tra roditori e uomo per quanto riguarda la fisiologia in generale, ma bisogna anche considerare il modo con cui vengono condotti gli esperimenti, utilizzando animali standardizzati e a volte creati come artefatti genetici con cui si cerca di estrapolare i risultati sulla realtà estremamente variegata della popolazione umana. Se in passato gli animali hanno aiutato ad evidenziare problematiche gravi legate ad azioni tossiche sui processi biochimici di base, è anche vero che si sono collezionate una lunga serie di informazioni false. Per esempio, molti alimenti di base per l'uomo sono genotossici o cancerogeni in ratti e topi probabilmente perché questi animali non sono fatti per digerire alcuni ingredienti. Il cioccolato ad esempio, può risultare letale sui cani. È noto che l'aspirina, prodotta in milioni di compresse ogni anno per curare varie patologie e assunta anche da donne in gravidanza senza registrare effetti avversi gravi, è assolutamente sicura per l'uomo. Se fosse scoperta oggi non riceverebbe l'autorizzazione alla sperimentazione sull'uomo nelle prove cliniche in quanto tossica e teratogena su ratti, topi, conigli, cani, ecc. (Tabella 1).

Tabella 1 – *Dati relativi all'aspirina (Acido Acetilsalicilico) Disponibili anche nel database HSDB (<http://toxnet.nlm.nih.gov>)*

	LD50
Topo	250 mg/Kg
Ratto	300 mg/Kg
Cane	700 mg/Kg
Coniglio	1050 mg/Kg
Cavia	1075 mg/Kg
Criceto	3500 mg/Kg
	TDL_o
Uomo	500-3500 mg/Kg

LD50, Lethal Dose 50: dose di una sostanza, somministrata in una volta sola, in grado di uccidere il 50% (cioè la metà) di una popolazione campione di cavie.

TDL_o: La dose più bassa per causare un sintomo di qualunque natura anche lieve.

È chiaro che non si può pensare che i test in vivo sugli animali non fossero necessari quando sono stati introdotti come obbligatori 80 anni fa. Ora però è venuto il momento di cambiare perché gli effetti di base comuni a molte specie di animali sono per lo più noti ed è necessario spingersi oltre e affrontare il problema con tecniche più moderne ed efficienti, in grado di evidenziare tutti i problemi seri e specifici dell'uomo. Il vero motivo che spinge al cambiamento è il fatto che con i metodi tradizionali non si è assolutamente in grado di de-

finire alcuni rischi gravi, come il potenziale cancerogenico e la tossicità sul sistema riproduttivo. Autorevoli studi condotti sul confronto dei risultati del test di cancerogenicità effettuato su diverse specie di roditori hanno dimostrato una correlazione del 57%⁴.

Risulta difficile pensare che questa correlazione possa essere migliore tra ratto e uomo o topo e uomo. La dimostrazione è il caffè, che pur essendo cancerogeno per ratti e topi, studi epidemiologici dimostrano che sull'uomo ha un effetto opposto e, per esempio, il tumore al fegato è meno frequente in chi beve diverse tazze di caffè al giorno.

Dover gestire dati fuorvianti ottenuti dai test è un grosso problema e le statistiche sono allarmanti: a fronte di un investimento che va dai 4 agli 11 milioni di dollari per la ricerca e lo sviluppo di un nuovo farmaco, si ha il 95% di fallimenti delle sperimentazioni cliniche sui volontari. Molte sostanze, nonostante risultati promettenti ottenuti con gli animali, non riescono a confermare la medesima azione sull'uomo con un 40% di mancanza di efficacia e un 20% di effetti tossici sull'uomo non evidenziati con gli animali. Per esempio, ben 85 vaccini contro HIV sono risultati essere efficaci sugli animali, ma neanche uno è riuscito ad avere gli stessi effetti sull'uomo e ad oggi non esiste ancora nessun farmaco autorizzato per questo scopo.

L'idea è quella di sostituire i test tradizionali in vivo con sistemi integrati avanzati che studiano le sostanze attraverso esperimenti su cellule preferibilmente di origine umana, studi mirati di reattività chimica, modellistica al computer, valutazioni statistiche, ecc. L'approccio è complesso, ma fattibile. Il progresso ha permesso di superare gli esperimenti tradizionali 2D basati su un solo tipo di cellule, solitamente linee cellulari immortalizzate, coltivate su piastra petri. Ora si parla di sistemi 3D con sistemi che riproducono un tessuto umano e si utilizzano preferibilmente cellule staminali. Una vera rivoluzione destinata probabilmente a cambiare il segno della ricerca biomedica è in atto dal 2012, quando Shinia Yamanaka⁵ vince il premio Nobel della medicina per essere riuscito insieme ai suoi collaboratori a generare cellule staminali pluripotenti indotte a partire da fibroblasti adulti. In pratica, partendo da alcune cellule prelevate ad esempio dalla pelle di volontari, è possibile ottenere cellule staminali pluripotenti, cioè in grado di trasformarsi in qualunque cellula umana, comprese quelle nervose. È così che nasce presso CAAT tra i laboratori del John Hopkins il primo mini-cervello, un sistema multicellulare di 350 µm di diametro, perfettamente riproducibile e fisiologicamente attivo. Dato

⁴GOTTMANN E.-KRAMER S.-PFAHRINGER B.-HELMA C. (2001), *Data quality in predictive toxicology: reproducibility of rodent carcinogenicity experiments*. *Environ Health Perspect.* May; 109(5): 509-14.

⁵YAMANAKA S. (2012), *Induced pluripotent stem cells: past, present, and future*. *Cell Stem Cell*, 10(6): 678-684.

che la partenza arriva da cellule adulte, significa che questo mini-cervello riproduce un sistema che condivide la stessa mappa genica del donatore. Un passo importantissimo verso la medicina personalizzata che può aiutare a capire il contributo genetico del singolo individuo sull'insorgenza di particolari malattie.

Da non trascurare anche la possibilità di utilizzare sistemi robotizzati per gli esperimenti in vitro che offrono l'opportunità di lavorare su larga scala con una elevata riproducibilità. È l'esempio del progetto ToxCast, con cui negli Stati Uniti sono stati valutati gli effetti tossicologici di circa 1.000 sostanze ciascuna testata su un centinaio di tipi di cellule. Ora siamo nella fase chiamata Tox21 con 10.000 sostanze applicate a con 25 metodi diversi. Questo sistema si sta rivelando molto efficace per un primo screening nonché molto utile anche nello sviluppo di molecole nuove.

Questo non significa che, sostituendo i test sugli animali con test in vitro, improvvisamente si risolvono tutti i problemi. Assolutamente bisogna evitare di commettere lo stesso errore che si è fatto, e si sta proseguendo in ambito biomedico, e cioè di accettare per buono qualunque risultato si ottenga sugli animali senza prima analizzare la validità del modello usato, la riproducibilità e tutti i possibili errori sistematici che si possono compiere. Per quanto riguarda i modelli cellulari, bisogna analizzare diverse problematiche come la mancanza di ossigeno in una provetta o la discontinuità nella disponibilità di nutrienti, la differente funzionalità a cui si adattano le cellule quando non sono inserite in un tessuto in cui devono avere un compito preciso, la riproducibilità del fenotipo cellulare, le contaminazioni incrociate, l'eventuale interferenza della sostanza da testare con il media o i materiali utilizzati nella cultura cellulare, l'origine tumorale di molte linee cellulari, ecc. Questo è il motivo per cui si è promosso lo studio e la divulgazione delle Good Cell Culture Practice (GCCP) pubblicate la prima volta nel 2005⁶ e recentemente aggiornate per includere le esigenze necessarie alla manipolazione delle cellule staminali⁷.

Per concludere si può affermare che il progresso scientifico in questo settore sta viaggiando con l'acceleratore al massimo. Negli Stati Uniti si è coniato il termine "tecnologie del 21° secolo" per indicare i nuovi metodi basati su cellule umane e senza l'utilizzo di animali vivi, mentre nel Regno Unito si parla di NAT (*Non Animal Technologies*, tecnologie senza animali) per indicare una opportunità per una crescita economica importante nei prossimi 10 anni. Tut-

⁶ COECKE S.-BALLS M.-BOWE G. *et al.* (2005), *Guidance on good cell culture practice. a report of the second ECVAM task force on good cell culture practice. Altern Lab Anim*, 33(3): 261-287.

⁷ PAMIES D., BAL-PRICE A., SIMEONOV A. ET AL. (2016), *Good Cell Culture Practice for stem cells and stem-cell-derived models*. ALTEX. Aug 23. doi: 10.14573/altex.1607121. [Epub ahead of print].

to questo indica un cambio totale di prospettiva, perché non si tratta di sostituire gli animali con alcune cellule per fare gli stessi esperimenti. Se l'uomo non è un ratto di 70 Kg, non è neanche un agglomerato di cellule. Quello che si sta cercando di fare è di abbandonare metodi soggettivi perché basati sulla risposta del singolo animale e dall'interpretazione di un operatore, a un approccio che si prefigge di capire il reale meccanismo sull'uomo con sistemi automatizzati. Il fine è ambizioso, ma non impossibile, grazie alla tecnologia in grado di proporre qualcosa di avanzato e inimmaginabile anche solo 20 anni fa⁸.

⁸HARTUNG T. (2013), *Food for Thought Look Back in Anger – What Clinical Studies Tell Us About Preclinical Work*. ALTEX, 30(3): 275-291.