



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE E
BIOTECNOLOGIE MEDICHE (DMMBM)**

Norme per l'utilizzo dello stabulario DMMBM

**NORME PER L'UTILIZZO DELLO STABULARIO
REGOLAMENTO INTERNO**
Università degli Studi di Napoli "Federico II"

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE
E BIOTECNOLOGIE MEDICHE
(DMMBM)**

RESPONSABILE DELLO STABULARIO	RESPONSABILE DEL BENESSERE ANIMALE	RESPONSABILE DEL BENESSERE ANIMALE
Dott.ssa Paola Ferraro	Prof.ssa Francesca Carlomagno	Prof. Tommaso Russo
<i>REDATTO</i>	<i>VERIFICATO</i>	<i>APPROVATO</i>

Riproduzione vietata. Nessuna parte del presente documento può essere riprodotta o diffusa con un mezzo qualsiasi senza l'autorizzazione del Dipartimento

**Procedure operative interne allo Stabulario del
Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche
dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II"**

Responsabile legale: Prof.ssa Francesca Carlomagno
Responsabile funzionale: Dott.ssa Paola Ferraro
Assistenza Veterinaria: Dott. Antonio Baiano
(Centro Servizi Veterinari Università degli Studi di Napoli "Federico II")

INDICE

STRUTTURA DELLO STABULARIO	PAG. 3
CAP.1 DESCRIZIONE DEGLI AMBIENTI	PAG. 4
CAP 2 REGOLAMENTAZIONE DELL'ACCESSO ALL'USO DELLO STABULARIO	PAG. 5
2.1 GESTIONE, ACQUISTO E MANTENIMENTO DEGL ANIMALI DA ESPERIMENTO E SPESE GENERALI DELLO STABULARIO	PAG. 5
2.2 ISTRUZIONI GENERALI PER ACCEDERE NELLO STABULARIO	PAG. 6
2.3 INGRESSO ANIMAL HOUSE PERSONALE SCIENTIFICO	PAG 7
2.4 TIPO DI BARRIERA	PAG. 7
2.5 CAMBIO INDUMENTI	PAG. 7
2.6 INDICAZIONI COMPORTAMENTALI ALL' INTERNO DELLO STABULARIO	PAG. 8
2.7 INTRODUZIONE MATERIALE	PAG. 9
2.8 UTILIZZO LABORATORI E SALE OPERATIVE	PAG. 9
CAP 3 ANIMALI	PAG. 10
3.1 PROCEDURA PER ORDINARE ANIMALI	PAG. 10
3.2 PROCEDURA PER INVIARE ANIMALI AD ALTRI ENTI DI RICERCA	PAG. 10
3.3 MANTENIMENTO DEGLI ANIMALI DA LABORATORIO	PAG. 11
3.4 PROGRAMMA DI CONTOLLI SANITARI	PAG. 11
3.5 GESTIONE SENTINELLE	PAG. 12
3.6 MODALITA' DI STABULAZIONE DEI TOPI	PAG. 12
SCHEMA 1	PAG. 13
GESTIONE XENOPUS LAEVIS	PAG. 14
BENESSERE E SALUTE DEGLI ANIMALI STABULATI	PAG. 15
INDICATORI NELLA VALUTAZIONE DEL BENESSERE/MALESSERE DEGLI ANIMALI	PAG. 16
ANIMALI NELLE PROCEDURE	PAG. 17
3.7 RICEVIMENTO NUOVI ANIMALI (RODITORI)	PAG. 17
3.8 RECEIVING AREA	PAG. 17
3.9 LOCALE DI QUARANTENA	PAG. 18
3.9.1 CAMBIO GABBIE QUARANTENA	PAG. 18
3.9.2 RICEVIMENTO MANGIME	PAG. 18
3.9.3 RICEVIMENTO SEGATURE	PAG. 18
CAP 4 FUNZIONI SVOLTE DA I TECNICI DI STABULARIO	PAG. 19
4.1 MANSIONI DEL TECNICO ADDETTO AL MANTENIMENTO DELLE COLONIE DI ANIMALI TRANSGENICI	PAG. 20
4.2 PROCEDURA PER L'ALLEVAMENTO COLONIE	PAG. 21
4.3 PRESCRIZIONI SPECIALI PER LA RIPRODUZIONE	PAG. 21
CAP 5 PROGRAMMI DI QUALIFICAZIONE, ADDESTRAMENTO DEL PERSONALE	PAG. 22
CAP 6 ESECUZIONE DEGLI ESPERIMENTI	PAG. 22
6.1 PROGRAMMAZIONE SETTIMANALE DEGLI ESPERIMENTI	PAG. 22
6.2 ANESTESIA	PAG. 22
6.3 ELIMINAZIONE UMANITARIA DEGLI ANIMALI	PAG. 23
CAP 7 OPERAZIONI DI PULIZIA E SANIFICAZIONE DEGLI AMBIENTI	PAG. 24
7.1 RACCOLTA RIFIUTI	PAG. 24
7.2 PRECAUZIONI DA SEGUIRE DURANTE LE OPERAZIONIDI PULIZIA	PAG. 26

7.3 PIANO TERRA	PAG.	26
7.4 PRIMO PIANO	PAG.	26
7.5 PULIZIA GABBIE PIANO TERRA	PAG.	27
7.6 PULIZIA GABBIE I PIANO	PAG.	27
CAP 8 OPBA	PAG.	28
CAP 9 APPARECCHIATURE	PAG.	29
CAP 10	PAG.	30
10.1 PIANO DI GESTIONE DELLE EMERGENZE DELL'AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA "FEDERICO II"	PAG.	30
10.2 RICHIESTA INTERVENTI SULLE APPARECCHIATURE	PAG.	30
CAP 11 SANZIONI	PAG.	31
Allegato A	PAG.	32
Allegato 1	PAG.	33
Allegato 2	PAG.	34
Allegato 3	PAG.	35
Allegato 4	PAG.	36
Allegato 5	PAG.	38
Allegato F	PAG.	39
Allegato G	PAG.	40
Allegato H	PAG.	41
Allegato L	PAG.	42
Allegato M	PAG.	43
Allegato N	PAG.	44
Allegato R	PAG.	45
Allegato X	PAG.	46
Allegato Y	PAG.	47
Allegato P	PAG.	48

Procedure operative interne allo Stabulario del Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Stabilimento utilizzatore: Stabulario autorizzato a Stabilimento utilizzatore con Decreto Ministeriale 42/2004-A. Stabulario ampliato con i locali posti al primo piano dello stesso edificio, e per i quali ha ricevuto l'autorizzazione a Stabilimento Utilizzatore con Decreto Ministeriale n° 165/2006-A del 17/11/2006. Autorizzazione alla stabulazione degli anfibi con Decreto Ministeriale n° 08/2010 – A in data 12/01/10.

Stabilimento allevamento: Stabilimento di Allevamento con Autorizzazione n° 29/48/C/04 rilasciata dal Comune di Napoli – ASL Napoli 1 Dipartimento di Prevenzione Unità Operativa Veterinaria Distretto 48, con estensione al I piano Prot. Comunale n° 15 del 06/08/08.

STRUTTURA DELLO STABULARIO

Lo Stabulario è ubicato nel sito di Cappella Cangiani dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" e si sviluppa su due piani. E' riportata la planimetria 1:100 di tutto il centro, Stabulari e Laboratori, con indicazione del tipo di attività svolte nei laboratori, delle destinazioni d'uso dei vari locali di servizio e con il numero di identificazione delle stanze di stabulazione in cui vengono alloggiati gli animali (topi 1, 2, 3 e 4).

L'area al pian terreno si estende su una superficie di circa 605 m².

I locali sono stati progettati in modo da offrire un ambiente appropriato alle specie ospitate, ottemperando alle condizioni di cui all'art.5, ed è autorizzato per il mantenimento delle seguenti specie: topi, ratti e anfibi. Le aree pulite sono mantenute in pressione positiva rispetto al corridoio ed all'ambiente esterno, con possibilità di creare un gradiente di pressione per i vari locali. I locali di permanenza degli animali, i laboratori e le sale per esperimenti, i locali di servizio, l'ambiente nei locali di permanenza degli animali e il loro controllo (ventilazione, temperatura, umidità, illuminazione, rumore, impianto allarme), nonché tutti gli orientamenti per la tutela degli animali (salute, quarantena, isolamento, ingabbiamento, alimentazione, acqua, ecc.) rispettano le indicazioni fornite dal DECRETO LEGISLATIVO del 4 marzo 2014, n. 26, attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici.

CAP.1 DESCRIZIONE DEGLI AMBIENTI

I criteri fondamentali con i quali sono realizzati i reparti di stabulazione sono quelli di assicurare agli animali da esperimento le condizioni ottimali, agevolando contemporaneamente le operazioni di servizio e di ricerca.

Lo stabulario si sviluppa su due piani, al piano terra sono presenti 5 ingressi adibiti al seguente uso:

- Ingresso del personale che dà accesso ai bagni-spogliatoi pulito e sporco (filtro personale uomini e donne) e quindi separatamente ai corridoi pulito e sporco. Lungo il corridoio pulito si trovano i laboratori e le stanze di stabulazione (area pulita).
- Ingresso con accesso all'area lavaggio consentito al personale addetto all'utilizzo della lavagabbie ed al personale tecnico autorizzato.
- Ingresso adibito al recupero dei rifiuti speciali e dei rifiuti derivanti dalle operazioni di stabulazione, nonché al recupero delle carcasse degli animali.
- Ingresso animali/materiali che dà accesso alla "receiving area" per:
gli animali acquistati o di provenienza nota destinati alla quarantena, il mangime e la lettiera da stoccare nei depositi adiacenti alla suddetta area, il materiale biologico da destinarsi ai laboratori interni;
- Uscita di sicurezza posta lungo il corridoio pulito, munita di porta antipanico.

La suddivisione dei reparti di stabulazione in camere che si aprono su due corridoi ("pulito" e "sporco") consente la pratica di disinfezioni periodiche a scopo preventivo con il semplice trasferimento degli animali da un locale a quello attiguo, e l'isolamento in caso di focolaio infettivo.

Sono presenti adeguati locali muniti di docce, lavelli, servizi igienici attraverso i quali si accede separatamente alle due aree "pulita" e "sporca".

L'ingresso nel corridoio pulito dà accesso sulla destra allo studio-archivio, e sulla sinistra, a seguire i laboratori, la sala trattamento, l'area del locale quarantena, il locale deposito mangime e lettiera e il locale deposito delle gabbie pulite.

Le aree destinate alla stabulazione dei topi sono 4. Ogni coppia di stanze di stabulazione è preceduta da un anteroom, arredata con tavoli da laboratorio per consentire la manipolazione dei topi durante operazioni quali: marcatura, prelievo ematico, osservazione e rilievo comportamenti anomali e/o segni di patologia, necroscopia.

Al corridoio sporco si potrà accedere solo uscendo dalle stanze di stabulazione, in tal modo il flusso pulito > sporco dovrà essere sempre unidirezionale.

L'area sporca, con ingresso indipendente, immette nel corridoio sporco sul quale ci sono le porte delle stanze di stabulazione. Il corridoio termina nell'area destinata allo stoccaggio materiali sporchi (gabbie, griglie, bottiglie, cappucci, ecc.) a cui segue l'area lavaggio per le operazioni di pulizia delle attrezzature dello stabulario e l'eventuale loro sterilizzazione mediante un'autoclave a doppia porta che si apre direttamente nell'area stoccaggio della zona pulita.

Il materiale pulito necessario per le operazioni di stabulazione dalla zona lavaggio è immesso all'interno dell'area pulita mediante lavagabbie e autoclave a doppia porta. Il percorso continua lungo i corridoi puliti del piano terra, dove il materiale destinato al pianterreno viene distribuito nelle stanze di stabulazione. Il restante materiale viene portato al primo piano mediante ascensore pulito e da qui attraverso i corridoi puliti è smistato alle stanze di stabulazione. Da queste stesse

stanze il materiale sporco sarà veicolato nella zona sporca attraverso la seconda porta di accesso al corridoio sporco.

CAP 2

REGOLAMENTAZIONE DELL'ACCESSO ALL'USO DELLO STABULARIO

La gestione dello Stabulario è affidata al Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche (DMMBM) e all'IEOS del C.N.R..

Allo scopo di ottimizzare l'utilizzo degli spazi di Stabulazione e gli ordini di animali, e di garantire il rispetto delle norme di legge e del presente regolamento, ogni ricercatore appartenente alle strutture afferenti di cui sopra che volesse utilizzare lo Stabulario e le attrezzature in esso presenti, dovrà presentare una richiesta scritta.

Il Responsabile dello Stabulario stabilirà la compatibilità della richiesta con la disponibilità di spazio e di personale. Nel caso in cui si accerti la fattibilità del progetto, sarà concordata la data di inizio delle attività. Quest'ultima dovrà essere rispettata con una tolleranza massima di 30 giorni. In caso contrario dovrà essere presentata una nuova richiesta.

2.1 GESTIONE, ACQUISTO E MANTENIMENTO DEGLI ANIMALI DA ESPERIMENTO E SPESE GENERALI DELLO STABULARIO

I costi relativi all'acquisto di animali, mangime, lettiera ed altri materiali di consumo (monouso, disinfettanti ambientali, materiali di supporto per attività di laboratorio e per interventi sperimentali sugli animali), sono a carico dei ricercatori responsabili del progetto.

Il Responsabile dello Stabulario concorderà con il ricercatore le necessità di materiali che saranno ordinati dal Dipartimento o Ente di appartenenza del ricercatore e spediti allo Stabulario.

Il Responsabile dello Stabulario accuserà ricevuta dei materiali e li destinerà alle esigenze della relativa sperimentazione.

Per gli esperimenti a lungo termine (mantenimento di colonie di transgenici e knock-out) verrà elaborato un modello di programmazione degli animali ogni 4 mesi, ed i buoni d'ordine relativi all'acquisto degli animali dovranno, prima di essere inoltrati, passare alla firma del Responsabile dello Stabulario. In tal modo si potrà procedere all'archiviazione dei dati mediante informatizzazione, ed al tempo stesso verrà controllato che la specie ed il numero di animali siano conformi a quanto dichiarato nel progetto inviato al Ministero della Sanità.

Non si possono ordinare animali senza avere presentato un progetto di ricerca, pertanto non saranno accettati nello Stabulario spedizioni di animali per sperimentazioni non preventivamente autorizzate.

2.2 ISTRUZIONI GENERALI PER ACCEDERE ALLO STABULARIO

L'accesso è consentito al seguente personale autorizzato:

Animal house staff: Responsabile dello Stabulario, veterinario, tecnici, stabularisti (addetti alla stabulazione, allevamento e controllo degli animali)

Accesso: Entrata principale
Zone consentite: Tutte

Engeneering staff: Tutti gli addetti alla manutenzione

Accesso: Entrata principale
Zone consentite: Corridoio pulito
Anteroom
Zona macchine
Corridoio pulito
Uffici
Laboratori

-Durante particolari operazioni di manutenzione l'accesso può essere autorizzato anche per le altre zone previa comunicazione.

-Tutte le operazioni di manutenzione sia ordinaria che straordinaria devono essere concordate e coordinate con il Responsabile Tecnico dello Stabulario allo scopo di evitare interferenze con le attività sperimentali e/o arrecare disturbo agli animali in stabulazione.

Ricercatori: tutti coloro che fanno sperimentazione *in vivo* per scopi di ricerca, devono inoltrare il proprio nominativo (con progetto di ricerca) al Responsabile Tecnico dello Stabulario che lo trasmetterà, al Centro Servizi Veterinari affinché sia sottoposto al parere dell'Organismo Preposto al Benessere Animale.

A ciascuno di essi sarà consegnato il regolamento dello Stabulario e le norme di sicurezza generali.

Accesso: Entrata principale
Zone consentite: Unità di Stabulazione di competenza
Laboratori

Visitatori: se autorizzati dal Responsabile dello Stabilimento Utilizzatore ed accompagnati dal personale dello Stabulario.

2.3 INGRESSO ANIMAL HOUSE PERSONALE SCIENTIFICO

- L'ingresso nell'Animal House è consentito alle sole persone autorizzate dal Responsabile dello Stabulario attraverso la compilazione dell'apposita modulistica riportata in allegato (All. A).
- Si accede nello Stabulario dagli spogliatoi che immettono nel corridoio pulito.
- Ad ogni Ricercatore o Gruppo di ricerca è assegnata una o più stanze di stabulazione per piccoli roditori.
- L'ingresso deve limitarsi alle sole stanze di appartenenza, mentre i laboratori sono ad uso comune.
- Per motivi igienico-sanitari è vietato accedere all'area sporca, nei locali di lavaggio, e nei locali di quarantena.
- Accertarsi sempre che tutte le porte siano chiuse per mantenere ottimale il sistema di pressurizzazione.

2.4 TIPO DI BARRIERA

Lo Stabulario si configura come una barriera classica per animali Specific Pathogen Free, in cui gli animali stabulati sono indenni da un certo numero di specifici microrganismi potenzialmente patogeni. Il concetto di barriera è un principio basilare nella gestione della qualità degli animali da laboratorio. Il tipo di barriera attuato scaturisce da misure igieniche volte a prevenire l'introduzione di microrganismi patogeni. Di "routine" viene praticata la disinfezione piuttosto che la sterilizzazione dei materiali e delle attrezzature, che comunque è praticata nel caso di animali immunodepressi e, periodicamente, è applicata alle attrezzature che vengono utilizzate per tutti gli altri animali, in quanto di gran lunga più sicura.

2.5 CAMBIO INDUMENTI

Indicazioni per tecnici di stabulario, ricercatori ed operatori.

Zona pulita.

- Tutti coloro che accedono allo Stabulario devono depositare camici di stoffa o altri indumenti (cappotti, giacche, ecc.) negli spogliatoi e quindi passare al filtro personale per indossare materiale monouso (camice, soprascarpe, guanti, copricapo, mascherina), nel caso in cui si lavori direttamente con gli animali, o un camice bianco da usare esclusivamente nello stabulario e copriscarpe, per accedere ai laboratori interni allo stesso. Appositi armadietti saranno disponibili per il deposito indumenti.
- Gli indumenti monouso al termine della giornata di lavoro andranno depositati negli appositi contenitori.
- Gli indumenti monouso vanno cambiati ogni qualvolta si renda necessario.

Zona sporca.

- L'accesso in quest'area è consentito alle sole persone autorizzate (staff dell'animal house e servizio manutenzione previa comunicazione).
- In quest'area è previsto il cambio giornaliero delle tute da lavoro (camice, soprascarpe ecc.) al termine delle operazioni di stabulazione e/o dei trattamenti, depositando gli indumenti nel contenitore della zona sporca.
- Indossare gli indumenti monouso e la mascherina antipolvere durante le operazioni di pulizia delle gabbie. Depositare il monouso nell'apposito contenitore presente nello spogliatoio della zona sporca.
- Qualora si renda necessario l'ingresso nella sola area sporca di personale estraneo all'animal house (servizi tecnici, ditta di pulizie, ricercatori), questi devono indossare camice, soprascarpe, guanti e mascherina antipolvere (presenti nello spogliatoio dell'area sporca). In uscita il materiale monouso deve essere depositato negli appositi contenitori dello stesso spogliatoio.
- Il personale che ha avuto accesso alla stanza di quarantena degli animali deve depositare il monouso nel contenitore presente nella stanza prima di uscire avendo cura di chiudere bene lo stesso e successivamente indossare nel corridoio contiguo il vestiario monouso.

2.6 INDICAZIONI COMPORTAMENTALI ALL' INTERNO DELLO STABULARIO

- Lavare le mani prima di entrare nelle aree di Stabulazione e in uscita.
- Evitare il più possibile di creare rumore poichè può costituire un'importante interferenza nella biologia dell'animale.
- Pulire accuratamente i piani di lavoro e le attrezzature eventualmente utilizzate dopo aver manipolato gli animali.
- Non arrecare danni alle strumentazioni e/o arredi.
- Non utilizzare l'uscita di sicurezza, se non in caso di assoluta e ben motivata necessità.
- Tenere il più possibile le porte chiuse. Una volta giunti nelle aree pulite non passare indistintamente da pulito a sporco e poi viceversa con le stesse soprascarpe.
- Non modificare per nessun motivo timers, termostati o altri interruttori senza preavvisare il personale dello Stabulario.
- Depositare eventuali carcasse di animali nel locale rifiuti della zona sporca.
- Non abbandonare materiale inerente la stabulazione (es: gabbie e bottiglie sporche) nelle stanze di mantenimento e/o nei laboratori, ma depositarlo a conclusione delle varie operazioni, sugli appositi carrelli presenti nella zona lavaggio (area sporca).
- Ricollocare al proprio posto strumenti, piccole attrezzature o materiale prelevato da altri locali.
- Non traslocare animali da una stanza di stabulazione ad un'altra e non farli uscire dallo Stabilimento utilizzatore senza preavvisare il personale dello Stabulario.
- Ogni gabbia deve essere corredata di apposito cartellino compilato in ogni sua parte ed aggiornato relativamente al numero degli animali realmente presenti nella gabbia.

2.7 INTRODUZIONE MATERIALE

Qualsiasi contenitore introdotto nello Stabulario deve riportare una etichetta recante tutte le indicazioni indispensabili all'identificazione della sostanza in esso contenuta, il cognome dell'utilizzatore, il Dipartimento di appartenenza e la data dell'introduzione (come peraltro indicato nelle norme di sicurezza vigenti) nonché l'eventuale data di scadenza. Qualora si dovesse rinvenire materiale non identificabile verrà isolato per gli opportuni provvedimenti.

Nel caso di sostanze infiammabili, tossico-nocive, cancerogene e/o mutagene, nonché agenti biologici, l'utente è tenuto a notificarne preventivamente l'introduzione al personale dello Stabulario che provvederà all'opportuno stoccaggio e a dare indicazioni sulle zone da utilizzare (appositamente predisposte per alcuni tipi di trattamento) sulla base di quanto stabilito dalla normativa vigente sulla sicurezza e salute.

Aghi e siringhe devono essere presenti nei locali solo quando necessari, quando si praticino iniezioni parenterali, prelievi di sangue o aspirazione di fluidi negli animali.

Anche per l'introduzione di apparecchiature o piccoli strumenti vale la regola della preventiva comunicazione allo Stabulario.

Per l'uso di isotopi radioattivi in sperimentazione animale bisogna essere autorizzati.

Per quanto riguarda l'introduzione del materiale da utilizzare per le operazioni di stabulazione viene seguito il seguente protocollo:

- le lettiere vengono introdotte all'interno dell'autoclave passante in quanto contenute all'interno di sacchi idonei
- il mangime irradiato e sottovuoto viene sanitzizzato esternamente attraverso un ciclo di lavaggio nella lavascaffali
- le bottiglie vengono prima lavate nella macchina lavabottiglie insieme ai cappucci e poi autoclavate per essere introdotte all'interno dello stabulario
- l'acqua di abbeverazione è microfiltrata attraverso un filtro HEPA.

2.8 UTILIZZO LABORATORI E SALE OPERATIVE

L'utilizzo dei laboratori e delle sale operative deve avvenire in modo programmato al fine di permettere a tutti gli utenti di svolgere i rispettivi trattamenti e/o interventi. Risulta pertanto indispensabile provvedere, con un certo anticipo, ad una prenotazione. Vanno seguite rigorosamente le indicazioni fornite e tutto deve essere lasciato pulito e ordinato.

CAP 3 ANIMALI

Gli esperimenti su animali possono aver luogo soltanto su animali da allevamento provenienti da stabilimenti fornitori autorizzati.

E' possibile introdurre animali provenienti da altri Stabulari purché venga esibita documentazione comprovante l'autorizzazione ministeriale o comunale, se allevati, e venga fornita dichiarazione veterinaria sullo stato di salute degli animali stessi. **NON VERRANNO ACCOLTI IN STABULARIO ANIMALI DI PROVENIENZA IGNOTA O ANIMALI PER I QUALI NON SIA STATO ESPLETATO QUANTO SOPRA INDICATO.**

3.1 PROCEDURA PER ORDINARE ANIMALI.

1. Da stabilimenti di produzione

Inviare via mail al Responsabile del benessere degli animali la richiesta di autorizzazione per ordinare gli animali utilizzando l'apposita modulistica (**Allegato 1**). La richiesta va inoltrata entro il martedì di ciascuna settimana; entro il giorno successivo il responsabile dello stabulario comunicherà via e-mail al richiedente (e in c/c al Medico Veterinario) l'avvenuta autorizzazione. All'atto del Buono d'ordine è opportuno che ciascun gruppo di ricerca valuti attentamente il numero di animali già presenti in Stabulario nell'ambito del proprio progetto al fine di ridurre i costi, evitare sprechi e limitare, laddove possibile, il numero di animali.

2. Da altro stabulario

L'arrivo deve essere sempre concordato con il Responsabile del benessere degli animali e con il Medico Veterinario. Il Ricercatore titolare di progetto di ricerca è tenuto a comunicare tramite mail (almeno 1 settimana prima dell'arrivo) al Responsabile del benessere degli animali la provenienza, il numero degli animali, la specie, il ceppo, il titolo del progetto e la data di arrivo e **fornire copia del certificato sanitario con gli ultimi esami sierologici effettuati.**

Il Medico Veterinario, una volta visionato il certificato sanitario, comunica al Ricercatore eventuali profilassi, trattamenti o precauzioni da adottare prima o all'arrivo degli animali.

3.2 PROCEDURA PER INVIARE ANIMALI AD ALTRI ENTI DI RICERCA

La richiesta per l'invio di animali verso altri centri di ricerca deve essere inoltrata via mail al Responsabile del benessere degli animali almeno una settimana prima del giorno della partenza. Nella richiesta devono essere indicati il nome del Responsabile del Progetto di ricerca, il numero di animali, la specie, il ceppo, la data di partenza, il motivo della spedizione, il nome e indirizzo del destinatario. Sarà cura del Medico Veterinario fornire il certificato sanitario.

Il trasferimento di animali vivi presso altre strutture è consentito solo se la struttura che accoglie gli animali è autorizzata in base alla normativa vigente. Sarà richiesta lettera di accettazione.

3.3 MANTENIMENTO DEGLI ANIMALI DA LABORATORIO

a) Istruzioni generali:

- Deve sempre essere mantenuto il sistema di identificazione animali e gabbie quando viene rimosso l'animale dalle gabbie per un qualsiasi motivo (cambio lettiera e trattamento).
- Controllare lo stato di salute degli animali e comunicare tempestivamente al Responsabile ogni comportamento anormale.
- Il numero degli animali presenti nello Stabulario deve essere quotidianamente registrato per cui avere cura di annotare sull'apposito registro presenze decessi e/o trasferimenti.

Il numero di topi presenti in ogni gabbia è determinato dalla superficie della gabbia, dall'età dei topi, dal sesso e dalla presenza di cucciolate.

Dopo avere lavorato con gli animali assicurarsi che la gabbia sia ben chiusa e ridisporre il microisolatore correttamente.

Viene utilizzato del materiale di arricchimento come la lana di carta e le "house mouse" utilizzati, rispettivamente, la prima per la nidificazione e le seconde per creare un microambiente adeguato al riposo ed alla riproduzione. Tale materiale, previo lavaggio e disinfezione, è soggetto a rotazione.

L'arricchimento ambientale costituisce un obbligo di legge.

Il programma di arricchimento ambientale è sottoposto a revisione annuale, in base alla quale può subire integrazioni o modifiche in considerazione dei progressi scientifici.

Eventuali eccezioni possono essere ammesse solo se espressamente autorizzate.

3.4 PROGRAMMA DEI CONTROLLI SANITARI

Gli animali ospitati nello stabulario SPF, vengono controllati con frequenza minima di 3 mesi e massima di 6 mesi, mediante l'esecuzione di test microbiologici, al fine di effettuare controlli per l'individuazione dei principali patogeni murini, a tal fine si ricorre all'utilizzo di animali sentinella.

La scelta dei patogeni da indagare viene effettuata in accordo con le linee guida internazionali date dalla Federation of European Laboratory Animal Science Associations. Mentre per la scelta della metodologia, PCR, sierologia, esami culturali ecc., si valuteranno e si aggiorneranno le metodiche in relazione allo sviluppo scientifico delle stesse.

Inoltre possono essere eseguiti esami in caso di sospetti o per conferme diagnostiche.

Gli animali introdotti nello stabulario devono essere tenuti in quarantena prima di essere sottoposti alle procedure. Le stanze destinate alla quarantena sono munite di rack con gabbie a ventilazione individuale e cappucci filtranti (microisolatori in cui il ricambio d'aria è costante e continuo), ciò consente la stabulazione di animali con un differente stato sanitario, di differenti ceppi ed origine.

Inoltre la quarantena è tenuta a pressione negativa rispetto l'esterno.

I risultati dei controlli periodici e quelli degli esami non routinari vengono registrati ed aggiornati attraverso la compilazione dell'Health monitoring report, disponibile presso l'archivio dello stabilimento.

3.5 GESTIONE SENTINELLE

Gli animali sentinella con le seguenti caratteristiche:

- Età superiore alle 4 settimane (per evitare le interferenze dovute all'immunità passiva materna) e non oltre le 20 settimane.
- Soggetti immuno-competenti (soggetti immunodepressi danno risposte immunitarie non attendibili dal punto di vista diagnostico).
- Devono appartenere allo stesso ceppo degli animali stabulati (i diversi ceppi possono manifestare una differente suscettibilità al medesimo agente).
- Se presenti animali immuno depressi scegliere come sentinelle ceppi correlati.
- Le loro gabbie vanno tenute nel punto più basso del castello.

Al momento del cambio, la lettiera nuova dovrà essere composta dal 70% da materiale pulito e dal 30% da lettiera sporca proveniente, a rotazione, da altre gabbie del rack.

Il mangime e dove possibile l'acqua dovrà provenire come per la lettiera da altre gabbie del castello.

Dopo circa 6/8 settimane gli animali saranno sottoposti ad esami sierologici in numero tale da garantire un risultato statisticamente significativo.

3.6 MODALITA'DI STABULAZIONE DEI TOPI

Gli animali sono alloggiati in gruppo, salvo che per necessità sperimentali o per prescrizione veterinaria, in gabbie di materiale plastico, rispettando i parametri relativi al rapporto superficie della gabbia/peso dell'animale come richiesto dalla normativa vigente (schema 1), con lettiera costituita da materiale rispondente ai requisiti di legge, con potere assorbente l'urina e le deiezioni, decontaminata e priva di polveri. Nello schema 1 sono riportati i valori di riferimento dei principali parametri ambientali. Un programma di manutenzione degli impianti assicura il mantenimento di tali parametri.

GESTIONE XENOPUS LAEVIS

Gli animali sono alloggiati in gruppo, salvo che per necessità sperimentali o per prescrizione veterinaria, nelle vasche poste nel rack, rispettando i parametri relativi al rapporto superficie della vasca, profondità, in relazione alla lunghezza dell'animale come richiesto dalla normativa vigente, tabella 2. L'acqua dev'essere sottoposta a controlli periodici al fine di garantire il mantenimento dei parametri ambientali (All.4).

I controlli degli anfibii devono essere giornalieri, così come devono essere periodiche le registrazioni dei principali parametri dell'acqua.

TAELLA2

PRINCIPALI PARAMETRI AMBIENTALI BIOLOGICI E FIOLOGICI DI Xenopus	
PARAMETRI ACQUA	Xenopus sp
TEMPERATURA	20- 24 °C
ALCALINITÀ	50 mg/lt
PH	6.5 – 8.5
SALINITÀ	0.4 mg/lt (ppt)
CONDUCIBILITÀ	50-100 µS
NITRITI (NO ₂)	< 1 mg/lt
NITRATO (NO ₃)	< 50 mg/lt
CLORO	= 0 mg/lt
CO ₂	< 5 mg/lt
PROFONDITÀ	
PROFONDITÀ MINIMA DELL' ACQUA NELLA VASCA IN RELAZIONE ALLA LUNGHEZZA DEL CORPO (in cm) (DL 26/2014- ALL 3 TAB 9.2)	< a 6 cm prof min -6 cm ³ da 6 a 9 cm prof min 8-cm > di 9 fino a 12 cm prof min 10 cm > 12 cm prof min 12,5 cm
SUPERFICIE	
SUPERFICIE MIN D'ACQUA (cm ²)	< a 6 cm sup min 160 cm ² da 6 a 9 cm sup min 300-cm ² > di 9 fino a 12 cm sup min 600-cm ² > 12 cm sup min 920-cm ²
CICLO LUCE/BUIO	12-14 / 12-10 Con passaggio graduale (circa 20 min) da una fase alla successiva.

BENESSERE E SALUTE DEGLI ANIMALI STABULATI

Nel caso sussistano problemi particolari circa le condizioni di salute degli animali in esperimento contattare tempestivamente il Veterinario ed in sua assenza il Responsabile dello Stabulario, o chi ne fa le veci al momento, che provvederà alla consulenza e all'assistenza dovuta. Da parte del personale dello stabulario andrà attuato un controllo giornaliero del benessere, secondo gli indicatori inseriti nello Schema 1 e delle condizioni generali degli animali secondo il seguente schema: testa, collo, schiena, arti e ventre, ano, prepuzio, vulva e superficie esterna di ogni animale, per verificare l'assenza di lesioni, formazioni o secrezioni.

Rilevazioni comportamentali: aspetto vigile, portamento equilibrato sulle quattro zampe, interesse e reazione verso l'ambiente circostante, massa corporea adeguata e ben distribuita, atteggiamento posturale adeguato.

Qualsiasi alterazione rilevata comporta l'immediato allontanamento dalla stanza della o delle gabbie interessate nel locale di isolamento.

Pervenuti nel locale di isolamento gli animali interessati vanno separati dagli altri presenti nella gabbia e va effettuato anche un cambio della lettiera del mangime e dell'acqua. Le gabbie vanno sistemate nel rack munite di cappuccio/ filtro. L'operazione deve essere annotata e segnalata al Veterinario dello Stabulario.

INDICATORI NELLA VALUTAZIONE DEL BENESSERE/MALESSERE DEGLI ANIMALI

INDICATORI ANATOMICI:
<p>Aspetto della pelliccia -Pelo normale, brillante, senza segni di alopecia ne zone di colorazione anomala intorno agli occhi, perineo, rilievo di ferite, ulcerazioni cutanee, presenza di croste, rilievo di secrezioni (attorno agli occhi ed agli orifizi), rilievo di rigonfiamenti o protuberanze.</p> <p>Aspetto delle ferite chirurgiche margini accollati, aspetto asciutto, punti di sutura presenti, assenza di secrezioni.</p> <p>Posizione di dispositivi impiantati (pompe, cateteri...)</p>
<p>Conformazione addome- dilatato, fianchi incavati, rilievi ossei evidenziati</p>
<p>Osservazione di arti, occhi, orecchie, coda (ring tail)</p> <p>Aspetto degli occhi normale – occhi aperti, non infossati non traslucidi; no evidenze di secrezioni nasali o oculari. Valutazione del colorito</p>
<p>Feci normali, diarrea</p>
INDICATORI COMPORTAMENTALI
<p>Riduzione del consumo di acqua e cibo</p>
<p>Stato del sensorio- l'animale appare vigile, mobile e non isolato dai suoi compagni nel box.</p> <p>Gli animali appaiono distribuiti uniformemente nella gabbia (Temperatura ambiente corretta) appaiono raggruppati (Temperatura ambiente bassa)</p>
<p>No segni di stress alla manipolazione</p>
<p>Nessuna evidenza di postura alterata-Nessuna evidenza di andatura instabile, debolezza o rigidità muscolare,</p>
<p>Aspetto della lettiera, troppo sporca, troppo pulita, eccessivamente umida</p>
<p>Utilizzo del materiale di arricchimento</p>
<p>Cure parentali - costruzione nido, accudimento nidiata, cannibalismo, riporto dei cuccioli all'interno del nido, accrescimento dei nati.</p>
<p>Comportamento sociale, segni di combattimento tra maschi, barbering tra le femmine, tempo trascorso a tolettarsi</p>
<p>Attività locomotoria – nessuna evidenza di spasmi, tremori, convulsioni, paralisi, brividi, riflessi rallentati o assenti, presenza di movimenti stereotipati, freezing (immobilità)</p>
<p>Respirazione normale senza evidenza di dispnea, assenza di rumori respiratori udibili (rantoli)</p>

ANIMALI NELLE PROCEDURE

Si possono eseguire esclusivamente le procedure per le quali si è autorizzati. Dopo il loro arrivo gli animali non possono essere utilizzati prima che siano trascorsi 7 giorni dal loro ingresso nello stabulario e prima di essere stati esaminati dal Veterinario. L' inizio e la fine delle procedure e il numero di animali sottoposti a procedure dev'essere annotato sul registro. Prima di sottoporre gli animali a procedure classificate, come moderate e gravi, occorre darne preventiva comunicazione al Veterinario.

Il Veterinario segue il decorso degli animali durante l'esecuzione delle procedure e comunica al responsabile del progetto eventuali problematiche riguardanti lo stato clinico degli animali sottoposti a procedure sperimentali e le risoluzioni da intraprendere.

3.7 RICEVIMENTO NUOVI ANIMALI (RODITORI)

Il locale "ricevimento" è situato in modo che gli animali in arrivo non devono attraversare le aree di sperimentazione; allo stesso modo gli animali sacrificati o la lettiera sporca non devono accedere dal locale "ricevimento". Introdurre gli imballi sempre dall'area di accettazione.

- Prima di introdurre gli imballi verificare l'integrità delle scatole e dei filtri e la presenza dei documenti di trasporto.
- Procedere ad opportuna sanitizzazione degli imballi:
 - nebulizzazione di una soluzione disinfettante/detergente nel passbox prima dell'ingresso in stabulario.
- verificare che la fornitura sia conforme a quanto richiesto dallo sperimentatore sia dal punto di vista sanitario che delle specifiche della fornitura. In caso contrario avvertire immediatamente il Responsabile.

3.8 RECEIVING AREA

Indossare indumenti monouso.

Assicurarsi che le scatole siano integre e che gli animali ricevuti corrispondano all'ordine fatto, controllare l'etichetta sulla scatola la specie, il ceppo, il peso, l'età ed il sesso.

Controllare attraverso la finestra di ispezione l'eventuale presenza di animali morti o di lesioni e lo stato della lettiera (lettiera eccessivamente bagnata)

Prendere in carico copia dei documenti di spedizione e certificato sanitario di accompagnamento.

Spruzzare le scatole filtro con soluzione disinfettante presente nella zona ricevimento.

Passare le scatole così trattate all'operatore di stabulario che si trova nei locali di quarantena.

Sanificare la receiving area con soluzione disinfettante.

3.9 LOCALE DI QUARANTENA

Indossare indumenti monouso.

Prendere in carico le scatole.

Aprire le scatole sotto la stazione di cambio posta all'interno della stanza di quarantena.

Controllare che il numero, il sesso ed il peso degli animali corrisponda all'ordine fatto.

Controllare la superficie esterna di ogni animale per verificare l'assenza di lesioni o secrezioni secondo il seguente schema: testa e suoi orifizi, collo, schiena, arti e ventre, ano, prepuzio e vulva.

Rilevazioni comportamentali: aspetto vigile, portamento equilibrato sulle quattro zampe, interesse e reazione verso l'ambiente circostante, massa corporea adeguata e ben distribuita, atteggiamento posturale adeguato. Qualsiasi irregolarità deve essere annotata e segnalata al Veterinario dello Stabulario. L'animale deve essere prontamente isolato e posto in gabbia con microisolatore.

Assegnare ad ogni animale o gruppo di animali una gabbia di stabulazione con apposito cartellino recante le seguenti indicazioni: specie, ceppo, data di arrivo, sesso, peso, età, nome del ricercatore che li ha richiesti, fornitore.

Distribuire acqua e mangime.

Tenere gli animali in stretta osservazione per 7 gg.

3.9.1 CAMBIO GABBIE QUARANTENA

Le gabbie sporche provenienti dal locale quarantena sono trasferite nell'anteroom esterna mediante box di passaggio. Qui vengono rimosse le segature e imbustate, le gabbie vengono trasferite nella zona lavaggio.

3.9.2 RICEVIMENTO MANGIME

- All'arrivo assicurarsi dell'integrità dei contenitori, verificare se la quantità e la qualità della dieta corrispondono all'ordine emanato.
- Stoccare immediatamente il mangime nell'apposita stanza climatizzata, controllare la data di confezionamento e rispettare durante lo stoccaggio l'ordine cronologico d'arrivo, al fine di utilizzare prima il mangime con data antecedente.

3.9.3 RICEVIMENTO SEGATURE

- All'arrivo assicurarsi dell'integrità dei sacchi, verificare se la quantità ed il tipo corrispondono all'ordine emanato ed alla bolla di accompagnamento.
- Stoccare immediatamente le segature nell'apposita stanza.

- In casi particolari (topi immunodepressi), prima dell'utilizzo sterilizzare a 121°C per 30' avendo cura di inserire delle sonde (strips con spore) all'interno del sacco.
- Depositare i sacchi trattati nel deposito gabbie sterili.

FUNZIONI SVOLTE DAI TECNICI DI STABULARIO

Il personale tecnico assegnato allo stabulario svolge le seguenti mansioni:

- Cambio lettiera e mangime programmati.
- Controllo e registrazione dei parametri ambientali.
- Controllo delle condizioni generali degli animali secondo il seguente schema:
testa, collo, schiena, arti e ventre, ano, prepuzio, vulva e superficie esterna di ogni animale per verificare l'assenza di lesioni, formazioni o secrezioni.
Rilevazioni comportamentali: aspetto vigile, portamento equilibrato sulle quattro zampe, interesse e reazione verso l'ambiente circostante, massa corporea adeguata e ben distribuita, atteggiamento posturale adeguato. Qualsiasi alterazione rilevata comporta l'immediato allontanamento dalla stanza della o delle gabbie interessate nel locale di isolamento. L'operazione deve essere annotata e segnalata al Veterinario dello Stabulario.
- Lavaggio delle attrezzature dello stabulario, giornaliero:
gabbie, griglie, bottiglie di abbeverazione, cappucci in acciaio delle bottiglie, rack e filtri copricappuccio;
- Utilizzo macchinari automatici per la pulizia del materiale di cui sopra e utilizzo autoclave per la sterilizzazione del seguente materiale: tute, casacche, pantaloni, calzari, lettiera, bottiglie e cappucci in acciaio.
- Pulizia periodica come da registro regolarmente firmato, della lavagabbie e di tutte le attrezzature, scaffalature e piani di lavoro presenti nella zona lavaggio.
- Svuotamento box di stoccaggio delle gabbie sporche, giornaliero.
- Rimozione della lettiera sporca dalle gabbie e preparazione di queste ultime per il lavaggio insieme a griglie, bottiglie e cappucci (quotidianamente).
- Procedure giornaliere di decontaminazione ed introduzione dei materiali attraverso le barriere come: passaggio del materiale all'interno della zona pulita mediante lavagabbie (gabbie, griglie, cappucci mangime, materiale per l'arricchimento) ed autoclave (bottiglie, lettiera, tute, casacche e cappucci).
- Ricevimento e stoccaggio dei materiali di consumo.
- Sostituzione filtri per l'acqua di abbeverazione.
- Comunicazione al Responsabile dello Stabulario circa l'approvvigionamento del materiale di consumo in via di esaurimento (vestiario del personale, monouso in genere, detersivi, disinfettanti ecc.), del mangime, della lettiera, dei cartoni gialli e dei bidoni rigidi (questi ultimi destinati allo smaltimento rispettivamente delle lettiere sporche e delle carcasse di animali conservate nel freezer a -20°C).
- Ricevimento e magazzinaggio del suddetto materiale negli appositi spazi e/o stanze destinate all'uso.
- Controllo del carico e dello scarico materiali con annotazione delle eventuali variazioni numeriche rispetto al buono d'ordine.
- Controllo dello stato di conservazione del mangime consegnato, destinato agli animali da esperimento, con verifica della scadenza.
- Controllo dello stato di conservazione della lettiera e dell'integrità dei sacchi.
- Smaltimento nelle apposite aree dei rifiuti di stabulario
- Manutenzione impianti nonché manutenzione e controllo dell'efficienza delle apparecchiature preposte
- Qualora necessario interventi di manutenzione sulla doccia ad aria presente nella zona pulita.

4.1 MANSIONI DEL TECNICO ADDETTO AL MANTENIMENTO DELLE COLONIE DI ANIMALI TRANSGENICI:

- ESAME VISIVO PERIODICO DEI SOGGETTI DELLA COLONIA.
- TECNICHE DI ALLEVAMENTO.
- PIANIFICAZIONE DEGLI ACCOPPIAMENTI PER SODDISFARE LE ESIGENZE SPERIMENTALI DEI RICERCATORI.
- ACCOPPIAMENTI PROGRAMMATI PER OTTENERE FEMMINE GRAVIDE A STADI DETERMINATI.
- SVEZZAMENTO E SESSAGGIO DEI CUCCIOLI.
- CONTROLLO DELLA PROLE PER DIFETTI DI CRESCITA O DEFICIT MACROSCOPICI.
- SCELTA DEI MIGLIORI RIPRODUTTORI MEDIANTE ANALISI DELLA PROGENIE E DELL'AVVENUTO ACCOPPIAMENTO.
- COMUNICAZIONE MENSILE DELLA SITUAZIONE NUMERICA DETTAGLIATA DELLA COLONIA E AGGIORNAMENTO IN PROGRESS AL RESPONSABILE TECNICO DELLO STABULARIO.
- TRASFERIMENTO MUTAZIONE IN BACKGROUND GENETICI DEFINITI ATTRAVERSO SUCCESSIVI REINCROCI (7-10 BACK-CROSS).

4.2 PROCEDURA PER L'ALLEVAMENTO COLONIE

L'allevamento e mantenimento di animali transgenici è consentito esclusivamente se è previsto nel progetto di ricerca approvato. E' a cura del Responsabile del progetto di ricerca individuare, nell'ambito del personale che partecipa al progetto, uno o più componenti che provvedono:

- a) agli accoppiamenti (non prima delle 8 settimane di vita);
- b) a comunicare al Medico Veterinario e al Responsabile del Benessere il numero di cuccioli nati in modo da registrarli nell'apposito registro;
- c) alla numerazione e genotipizzazione (a partire dai 15/20 gg);
- d) allo svezzamento, sessaggio e separazione dei cuccioli (a partire dai 30 gg di età);
- e) alla comunicazione mensile della situazione numerica della colonia al Responsabile del benessere degli animali e al Medico Veterinario.

4.3 PRESCRIZIONI SPECIALI PER LA RIPRODUZIONE

I riproduttori di entrambi i sessi e per entrambe le specie, topo e ratto, non possono avere un età inferiore ai 50gg.

- Gli accoppiamenti e le espansioni delle colonie vanno concordati con il Responsabile del benessere e il Medico Veterinario. Tenendo conto degli spazi disponibili.
- Le femmine gravide e i maschi riproduttori di ratto vanno tenuti in gabbie singole.
- Non più di 2 femmine gravide di topo possono essere stabulate insieme, nella stessa gabbia.
- I maschi riproduttori di topo vanno tenuti in gabbie singole.
- I maschi in accoppiamento vanno separati dalle rispettive femmine prima del parto.
In caso di riproduzione in arem, separare le femmine gravide.
- Il rapporto massimo di M/F per gli accoppiamenti in arem è di 1/3 sia per i topi che per i ratti.
- Le nidiate di topo e ratto vanno svezzate a 30 gg. dalla nascita, e i componenti separati per sesso e marcati se necessario.
- La genotipizzazione e marcatura degli animali non può essere effettuata prima dei 15gg. di età.

La marcatura tramite amputazione delle falangi, tacche, targette o fori auricolari vanno eseguite sotto anestesia e le ferite vanno disinfettate adeguatamente. Inoltre vanno comunicate preventivamente al Veterinario delegato.

- La genotipizzazione tramite amputazione di una porzione di coda o delle falangi va eseguita sotto anestesia e le ferite vanno disinfettate e cauterizzate. Inoltre vanno comunicate preventivamente al Veterinario delegato.
- Alle femmine in riproduzione deve essere fornito un adeguato materiale per la costruzione del nido (vedi "Programma di arricchimento").
- Le nascite vanno tempestivamente comunicate al responsabile del progetto e al veterinario e riportate sul cartellino e nel registro di allevamento.

CAP 5

PROGRAMMI DI QUALIFICAZIONE E ADDESTRAMENTO DEL PERSONALE

I programmi di qualificazione ed addestramento del personale vengono effettuati secondo uno schema generale illustrativo delle norme di sicurezza, e delle prassi di laboratorio (protocolli di lavoro), includendo il corretto modo di operare secondo GLP (Good Laboratory Practice), l'utilizzo di SOP (Standard Operating Procedure) e MOS (Metodiche Operative Standard), nonché il corretto uso dei sistemi informatici.

Il Responsabile dello Stabulario convoca, con cadenza trimestrale, il personale di stabulario per aggiornamenti relativi alle nuove direttive in materia di sperimentazione animale, fornendo linee guida sulle procedure di stabulazione e trattamento degli animali da laboratorio.

In particolare il personale con profilo tecnico verrà istruito sui ceppi animali allevati nello Stabulario ed utilizzati per fini sperimentali, sui quali vengono fornite conoscenze di anatomia, elementi di fisiologia ed etologia, patologia animale ed elementi di diagnostica, tecniche autoptiche, comportamento animale, tecniche di stabulazione, igiene e controllo sanitario, procedure sperimentali, nozioni di anestesia ed eutanasia, interventi su animali ovvero prelievi di liquidi biologici e somministrazione di sostanze, manipolazione di sostanze sperimentali, soluzioni e solventi.

CAP 6

ESECUZIONE DEGLI ESPERIMENTI

6.1 PROGRAMMAZIONE SETTIMANALE DEGLI ESPERIMENTI

Inviare via mail al Medico Veterinario (e in c/c al responsabile del benessere degli animali) entro il venerdì ore 12.00 il programma degli esperimenti che si intendono eseguire nella settimana successiva. Per tale comunicazione utilizzare l'apposito modulo (**Allegato 2**).

Le persone che effettuano esperimenti o quelle persone che si occupano direttamente o con compiti di controllo di animali utilizzati in esperimenti devono avere un'istruzione ed una formazione adeguata.

La persona che esegue l'esperimento o ne ha la supervisione deve inoltre avere una formazione scientifica attinente alle attività sperimentali di sua competenza ed essere in grado di manipolare e curare gli animali di laboratorio.

Pertanto studenti, tirocinanti, specializzandi, borsisti, e contrattisti alla prima esperienza di sperimentazione animale non possono svolgere alcun tipo di manipolazione se non assistiti da personale qualificato facente parte del progetto di ricerca. Qualsiasi attività che implichi l'utilizzo di animali da parte delle suddette categorie deve avvenire sotto la diretta responsabilità del titolare di ciascun progetto di ricerca che, in caso di inadempienze, è tenuto all'assolvimento di eventuali sanzioni.

6.2 ANESTESIA

Tutti gli esperimenti svolti nello “Stabilimento Utilizzatore” devono essere effettuati sotto anestesia generale o locale secondo le indicazioni fornite dal Veterinario Responsabile.

Nello Stabulario, come debitamente dichiarato al Ministero della Sanità, possono quindi essere effettuati solo trattamenti su animali “adeguatamente anestetizzati” (anestesia locale oppure generale, conformi alla pratica veterinaria).

6.3 ELIMINAZIONE UMANITARIA DEGLI ANIMALI

Ogni metodo umanitario di eliminazione degli animali esige conoscenze ottenibili soltanto attraverso una formazione specifica. Contattare comunque il Veterinario per problemi particolari di soppressione in relazione specifiche sperimentazioni.

CAP 7 OPERAZIONI DI PULIZIA E SANIFICAZIONE DEGLI AMBIENTI

7.1 RACCOLTA RIFIUTI

I rifiuti devono essere raccolti in modo differenziato sulla base delle indicazioni fornite dalle normative vigenti. In particolare i contenitori da collocare secondo necessità nelle varie aree dello Stabulario quali, anteroom, animal room, laboratori, receiving area e quarantena sono:

- Contenitori in cartone per i rifiuti speciali (rifiuti ospedalieri, garze, cotone, carta assorbente con liquidi biologici ecc.), che andranno rimossi giornalmente. Chiuso il contenitore va veicolato lungo il corridoio sporco e stoccato nell'area sporca.
- Carta e plastica andranno riposti esclusivamente nei sacchetti neri.
- Contenitori in plastica per aghi e bisturi da rimuovere una volta pieni veicolandoli lungo il corridoio sporco.
- Contenitori in cartone con busta per gli indumenti monouso. I contenitori vanno chiusi e rimossi una volta riempiti.
- Il materiale potenzialmente infetto va deposto esclusivamente nei contenitori per rifiuti speciali.

Le carcasse vanno rimosse giornalmente e depositate nel freezer a -20°C, posizionato lungo il corridoio sporco, e stoccate nell'apposito contenitore rigido per essere smaltite. Ricordare di compilare il registro scarico interno dei rifiuti dello stabulario indicando sull'apposito modulo (**Allegato 3**) la data del ritiro, il numero di cartoni gialli e i bidoni rigidi smaltiti.

Tali informazioni saranno riportate sul registro rifiuti rilasciato dalla Direzione Sanitaria e compilato dal Responsabile funzionale.

Anteroom:

Giornalmente rimuovere i rifiuti.

Trattare il piano di lavoro con soluzione disinfettante (FADION) giornalmente. Sanificare a settimane alterne pareti e pavimenti utilizzando acqua, ipoclorito e Fadion, ed ogni lunedì utilizzare in sostituzione il Virkon's per pareti, pavimenti e tutte le superfici.

Animal room:

Vale quanto detto per l'anteroom.

Spolverata settimanale rack.

Pulizia vetri cappe mensilmente con Fadion.

Zona preparazione lettiera:

Vale quanto detto per l'anteroom.

Rimozione giornaliera rifiuti.

Zona sporca lavaggio:

Pulizia giornaliera pavimenti.

Pulizia giornaliera lavagabbie con Fadion.

Pulizia e disinfezione della zona lavaggio.

Pulizia vetri finestre mensilmente con Fadion.

Rimozione e stoccaggio giornaliero dei rifiuti dell'area in questione e dei rifiuti derivanti dall'animal room.

Receiving area (sporca).

Disinfezione e pulizia quarantena a settimane alterne con ipoclorito e Virkon's.

Tutte le operazioni di pulizia degli ambienti sopra citate, sono regolarmente annotate su registri sui quali il personale addetto alle specifiche mansioni, appone la firma (All. 5).

I suddetti registri sono periodicamente visionati dal Responsabile Tecnico dello Stabulario.

7.2 PRECAUZIONI DA SEGUIRE DURANTE LE OPERAZIONI DI PULIZIA

- Indossare indumenti monouso durante le pulizie.
- Non scambiare gli accessori per le pulizie dell'area sporca con quelli dell'area pulita.
- Non accedere dall'area sporca a quella pulita e viceversa.
- Verificare l'integrità dei pavimenti.
- Indossare guanti pesanti per le pulizie nella zona lavaggio gabbie.
- Indossare la mascherina nella zona lavaggio gabbie durante la pulizia delle stesse.
- Indossare indumenti monouso quando si procede al lavaggio gabbie.
- Non disturbare gli animali con rumori violenti.

7.3 PIANO TERRA

INTRODUZIONE MANGIME E LETTIERA.

Mangime e lettiera possono essere introdotte nella zona pulita, dopo disinfezione, esclusivamente attraverso l'apposita autoclave passante. Dopo l'ingresso il materiale viene stoccato nei rispettivi depositi.

Per i materiali non autoclavabili l'accesso avviene dopo la disinfezione delle superfici con appositi disinfettanti (Fadion, Fenplus ecc), sempre attraverso l'autoclave passante.

INTRODUZIONE GABBIE E GRIGLIE

Gabbie e griglie possono accedere alla zona pulita esclusivamente, dopo lavaggio, attraverso l'apposita lavagabbie. Dopo l'ingresso vengono stoccate nei rispettivi depositi.

7.4 PRIMO PIANO

INTRODUZIONE MANGIME E LETTIERA.

Mangime e lettiera possono essere introdotte nella zona pulita, dopo disinfezione, esclusivamente attraverso l'apposita autoclave passante. Il materiale giunge al piano esclusivamente attraverso l'ascensore pulito.

Per i materiali non autoclavabili l'accesso avviene dopo la disinfezione delle superfici con appositi disinfettanti (Fadion, Fenplus ecc) , sempre attraverso l'autoclave passante.

Il materiale giunge al piano esclusivamente attraverso l'ascensore pulito.

INTRODUZIONE GABBIE E GRIGLIE

Gabbie e griglie possono accedere alla zona pulita esclusivamente, dopo lavaggio, attraverso l'apposita lavagabbie.

L'ingresso al piano avviene esclusivamente attraverso l'ascensore pulito.

7.5 PULIZIA GABBIE PIANO TERRA

ZONA PULITA

Le gabbie vengono cambiate una volta a settimana sotto cappa, nell'animal room, si effettua contestualmente il cambio biberon e rifornimento mangime, lunedì mattina e venerdì mattina viene eseguito il controllo dell'acqua, nel caso di colonie con particolari patologie il cambio gabbia potrebbe avvenire con maggiore frequenza.

Le gabbie sporche provenienti dalle stanze "Topi 1" e "Topi 2" vanno sistemate sull'apposito carrello, imbustate, prima di farle uscire dalla stanza per essere trasferite nel Box filtro gabbie adiacente alle stanze. Le gabbie sporche verranno poi prelevate dall'operatore addetto alla zona sporca. Le operazioni di pulizia dalle stanze "Topi 3" e "Topi 4" seguono le procedure come sopra descritte. Le gabbie sporche vengono trasferite nel Box filtro 2 adiacente.

ZONA SPORCA

Le gabbie giunte nella zona sporca vengono svuotate della lettiera sporca.

Le segature rimosse devono essere scaricate nel contenitore presente.

Dopo essere state svuotate le gabbie saranno lavate nell'apposita lavagabbie che mediante cicli di lavaggio alternati di acqua calda e detersivi elimina i residui biologici rimasti e procede alla loro sanificazione.

7.6 PULIZIA GABBIE I PIANO

ZONA PULITA

Le gabbie vengono cambiate una volta a settimana sotto cappa, nell'animal room, si effettua contestualmente il cambio biberon e rifornimento mangime, lunedì mattina e venerdì mattina viene eseguito il controllo dell'acqua, nel caso di colonie con particolari patologie il cambio gabbia potrebbe avvenire con maggiore frequenza.

Le gabbie sporche provenienti dalle singole stanze vanno sistemate sull'apposito carrello prima di farle uscire dalla stanza attraverso la porta di accesso alla zona sporca. Verranno poi prelevate dall'operatore addetto alla zona sporca e trasferite con l'ascensore alla zona lavaggio.

ZONA SPORCA

Le gabbie giunte nella zona lavaggio vengono svuotate dalla lettiera sporca.

Le segature rimosse devono essere scaricate nel contenitore presente.

Dopo essere state svuotate le gabbie saranno lavate nell'apposita lavagabbie che mediante cicli di lavaggio alternati di acqua calda e detergenti elimina i residui biologici rimasti e procede alla loro sanificazione.

Ogni settimana i racks vanno spolverati e ogni 15 giorni vanno puliti e sanificati.

Tutte le operazioni di pulizia sopra citate, sono regolarmente annotate su registri sui quali il personale addetto alle specifiche mansioni, appone la firma (All. 4 per p. terra e I piano).

I suddetti registri sono periodicamente visionati dal Responsabile Tecnico dello Stabulario.

CAP 8

OPBA

Le funzioni essenziali dell'Organismo Preposto al Benessere Animale sono:

- Revisione dei progetti di ricerca al fine di considerare la rilevanza degli esperimenti proposti per l'avanzamento delle conoscenze tenendo conto delle esigenze specifiche dell'istituzione e delle linee di ricerca.
- Revisione dei protocolli al fine di valutare se il modello animale proposto, il numero di animali, lo stato di salute e le condizioni sperimentali siano ottimali per la validità dei risultati, e se siano state considerate, inoltre, possibili alternative.
- Revisione delle procedure sperimentali al fine di controllare la severità degli esperimenti, il grado di stress e sofferenza.
- Valutazione della preparazione professionale dell'utente nella sperimentazione animale nel rispetto delle leggi vigenti e delle direttive istituzionali.

CAP 9
APPARECCHIATURE

**SI ALLEGA L'ELENCO DELLE ATTREZZATURE CON LE INDICAZIONI DI QUELLI SEGUITI DA DITTE IN OUTSOURCING E QUELLI SEGUITI DALL'UFFICIO TECNICO DEL
POLICLINICO**

ELENCO DELLE APPARECCHIATURE PER STABULARIO ACQUISTATE DAL CENTRO DI ECCELLENZA

- Scaffali a 64 posti (n.23);
- Scaffali a 24 posti (n.7);
- Scaffali per gabbie ventilate singolarmente (n. 1)
- Sistema per microiniezione di embrioni;
- Autoclave CISA 1115512P/E/TS/SO N.F.8221
- Macchina lavascaffali 9LAVSCV902WP matr. IO14
- Macchina lavabottiglie 9LBTR101 matr. IO41
- Stazione di pulizia Top Flow 2 9STPG01 matr. 14575
- Stazione di cambio gabbie Biosafety BS48 9CACGBS48 matr. 0260205
- Cappa flusso laminare Centro di Eccellenza CEINGE cod.00335
- Stazione riempimento bottiglie con sistema filtr. Acque9RB102 matr. I013
- Unità ventilazione Slim –Line BOXUNCP04 matr. I028
- Sistema filtrazione acque;
- Carrelli acciaio inox a 2 ripiani (n.5);
- Sistema per anestesia gassosa;
- Doccia d'aria
- Armadietti spogliatoio (n.10);
- Postazioni scrivania (n. 3)
- 2 Personal Computer + 1 stampante
- Laboratorio colture cellulari completo:
n. 2 Stazioni a flusso laminare + 3 incubatori + microscopio invertito
+ centrifughe + bagnetti termostatici
- 4 cappe a flusso laminare
- Ecografo

Per le apparecchiature affidate a ditte in outsourcing si allegano le schede di registrazione degli interventi (Allegati X e Y)

CAP 10

10.1 PIANO DI GESTIONE DELLE EMERGENZE DELL'AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA "FEDERICO II"

Per ognuno dei seguenti eventi: Incendio, Emergenza sanitaria, Eventi naturali, Attentato terroristico, è depositato presso lo studio dello Stabulario, a cura del Servizio di Prevenzione e Protezione, un manuale di immediata consultazione da parte del personale dello stabilimento, custodito nell'archivio dello suddetto studio in un armadio dedicato alle Procedure dello Stabulario.

10.2 Richiesta interventi sulle apparecchiature

In caso di rilievo di malfunzionamento delle apparecchiature e/o degli impianti, la procedura prevede di riferire direttamente al Responsabile Tecnico dello stabulario che provvederà ad attivare la procedura, in assenza di quest'ultimo è disponibile presso l'ufficio dello stabulario l'elenco dei vari referenti con relativo numero di telefono e fax onde garantire l'immediato intervento. E' riportato in allegato la scheda di registrazione delle richieste di intervento da parte degli operatori dello stabulario (All. R). La stessa scheda sarà controfirmata dal personale designato per i turni di reperibilità nei giorni festivi.

a) BLACKOUT ELETTRICI:

Presso l'ufficio dello Stabulario nell'archivio dedicato alle Procedure dello Stabulario è depositata la relazione dell'Ufficio Tecnico dell'Azienda, in cui sono riportati i piani di azione messi in atto a seguito, in regime normale e di emergenza, di blackout delle linee di alimentazione elettrica, dei quadri di illuminazione e f.m. a servizio delle unità di trattamento aria, del piano terra e primo piano dello stabulario su citato.

b) DIFFORMITA' DEI PARAMETRI AMBIENTALI:

La registrazione giornaliera dei parametri ambientali di temperatura ed umidità è riportata nell'apposita scheda di registrazione depositata presso l'archivio dello studio (All. M e N). Se sono rilevate deviazioni dai parametri ambientali richiesti dalla normativa il Tecnico operativo rileva e comunica al Responsabile dello Stabulario le difformità, e provvede ad inviare una richiesta di intervento mediante fax (si allegano fac-simili dei fax per T e U, all. F e G). Il piano operativo degli interventi della ditta in outsourcing per gli interventi sull'impianto di condizionamento (All. H) con l'Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II è depositato presso l'ufficio dello Stabulario nell'archivio dedicato alle Procedure dello Stabulario.

In assenza del Responsabile il tecnico di turno è autorizzato ad avviare la procedura di segnalazione del malfunzionamento.

IL PERSONALE DELLA SEZIONE STABULARIO HA IL COMPITO ED IL DOVERE DI CONTROLLARE CHE TUTTO VENGA SVOLTO SECONDO QUANTO STABILITO NEL RISPETTO DELLE NORMATIVE VIGENTI

Nei giorni festivi, la registrazione e la comunicazione di eventuali anomalie è a cura del personale formato ed informato sull' applicazione del presente regolamento per quanto concerne l'attuazione delle procedure di emergenza da attuare nel caso si verifichi quanto riportato al capitolo 10. Tale personale è inserito in un apposito elenco disponibile presso lo studio dello stabulario nell'archivio Procedure (All.P).

Al di fuori dell'orario di lavoro il controllo dei parametri ambientali avviene mediante sistema di rilevazione automatico tramite sensori collegati a lampeggiante posto al di fuori dello stabulario e a commutatore telefonico che va ad allertare le persone designate ad intervenire.

c) INTERVENTI DI NATURA TECNICA:

L'apposita modulistica (All. L) è depositata presso l'ufficio dello Stabulario nell'archivio dedicato alle Procedure dello Stabulario e consente di contattare in tempi brevi, mediante fax, il Servizio Attività Tecniche e Manutentive, per problemi di natura edile e/o idraulica.

**CAP 11
SANZIONI**

Le sanzioni previste (siano esse amministrative e/o penali) sono quelle riportate dal D.Lvo n.26 e quelle riportate nel codice disciplinare dell'Ateneo.