

Principi di eutanasia in roditori e lagomorfi



Paolo Coluccio, DVM, PhD

LAS Specialist

Responsabile Benessere Animale TIGEM
(Telethon Institute of Genetics and Medicine)

Consulente Charles River Laboratories

Corso: BENESSERE DEGLI ANIMALI DA LABORATORIO E METODI ALTERNATIVI ALLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE

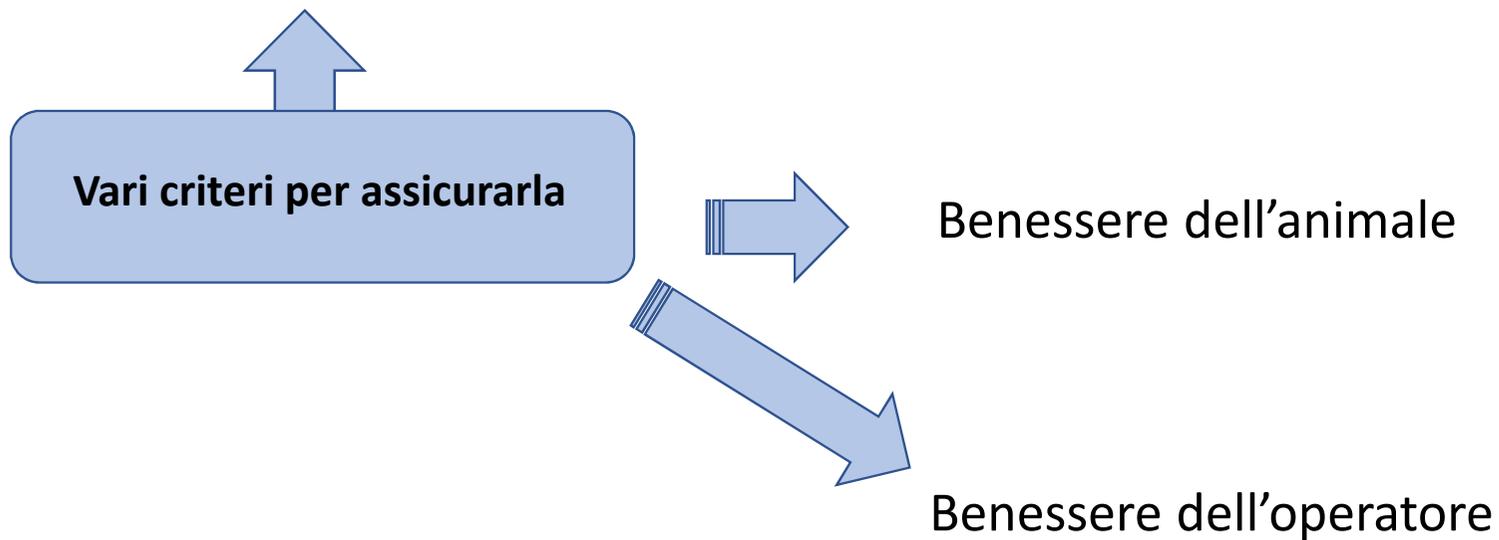
In sintesi

- Principi di base
- Aspetti comuni
- Attenzioni da rivolgere a determinate condizioni

- Analisi dei vari metodi

Eutanasia

- Buona Morte: morte serena e indolore
- È l'atto di indurre una morte con metodiche cd umanitarie



- Benessere dell'animale

- Evitare stress prima
- Evitare eccitamento durante
- Minimo contenimento
- Indurre perdita di coscienza rapida e indolore

- Rapida perdita di coscienza seguita dall'arresto cardiaco e respiratorio e infine dalla perdita delle funzioni cerebrali.



- Benessere dell'operatore

- Metodo semplice da effettuare
- Sicuro per l'operatore
- Esteticamente accettabile



* Tener conto delle implicazioni sui tessuti e a livello biochimico

*costi

Legislazione vigente

- Linee guida AVMA
 - Euthanasia of experimental animals (Commissione EU), 1997
 - Altre...
-
- **Direttiva Europea 63/2010**
 - **D.Lgs 26/2014:**
 - Allegato IV
 - Art. 1, comma3:
 - a) animali vertebrati vivi non umani, comprese:
 - 1) forme larvali capaci di alimentarsi autonomamente;
 - 2) forme fetali di mammiferi a partire dall'ultimo terzo del loro normale sviluppo;
 - b) cefalopodi vivi.



Art. 6 Metodi di soppressione

1. La soppressione degli animali avviene:

- a) con modalità che arrecano il minimo dolore, sofferenza e distress possibile;
- b) secondo i metodi di cui all'allegato IV;
- c) da personale competente ai sensi dell'articolo 23;
- d) negli stabilimenti di un allevatore, di un fornitore o di un utilizzatore.

2. Il Ministero può concedere deroghe all'applicazione dei metodi di soppressione cui all'allegato IV del presente decreto in uno dei seguenti casi:

- a) per consentire, in base a prove scientifiche, l'uso di un altro metodo considerato altrettanto umanitario;
- b) se è scientificamente provato che è impossibile raggiungere lo scopo della procedura ricorrendo a un metodo di soppressione descritto nell'allegato IV del presente decreto.

Eccezioni in situazioni di *emergenza* per motivi riconducibili al benessere animale, alla salute pubblica, alla sicurezza pubblica, alla salute animale o all'ambiente.

Quando permangono condizioni di sofferenza insostenibili, si procede immediatamente alla soppressione dell'animale con metodi umanitari sotto la responsabilità del medico veterinario designato. E' considerata sofferenza insostenibile quella che nella normale pratica veterinaria costituisce indicazione per l'eutanasia.

Metodi

- **Accettabili:**
producono una morte eticamente accettabile se usati da soli
- **Accettabili con condizioni:**
per loro natura o per una maggiore possibilità di errore dell'operatore potrebbero non produrre una morte eticamente accettabile
- **Non accettabili:**
non eticamente accettabili in ogni circostanza.



Allegato IV

Animali - osservazioni/metodi		Roditori	Conigli	
Overdose di anestetico		(1)	(1)	
Proiettile captivo		<input checked="" type="checkbox"/>		
Biossido di carbonio		(3)	<input checked="" type="checkbox"/>	
Dislocazione cervicale		(5)	(6)	
Colpo da percussione alla testa		(8)	(9)	
Decapitazione		(12)	<input checked="" type="checkbox"/>	
Elettrocuzione		<input checked="" type="checkbox"/>	(13)	
Gas inerti (Ar, N ₂)			<input checked="" type="checkbox"/>	
Colpo a proiettile libero con fucili, pistole e munizioni adeguate		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	



Requisiti (Condizioni)

- 1) Da utilizzarsi, se del caso, previa sedazione.
- 2) Da utilizzarsi solo per i grandi rettili.
- 3) Da utilizzarsi solo in quantità sufficiente. Da non utilizzare per roditori allo stato fetale e neonatale.
- 4) Da utilizzarsi solo per i volatili di peso inferiore a 1 kg. I volatili di peso superiore a 250 g vengono sedati.
- 5) Da utilizzarsi solo per i roditori di peso inferiore a 1 kg. I roditori di peso superiore a 150 g vengono sedati.
- 6) Da utilizzarsi solo per i conigli di peso inferiore a 1 kg. I conigli di peso superiore a 150 g vengono sedati.
- 7) Da utilizzarsi solo per i volatili di peso inferiore a 5 kg.
- 8) Da utilizzarsi solo per i roditori di peso inferiore a 1 kg.
- 9) Da utilizzarsi solo per i conigli di peso inferiore a 5 kg.
- 10) Da utilizzarsi solo sui neonati.
- 11) Da utilizzarsi solo per i volatili di peso inferiore a 250 g.
- 12) Da utilizzarsi solo se altri metodi non sono praticabili.
- 13) Necessita di attrezzature specifiche.
- 14) Da utilizzarsi solo sui suini.
- 15) Da utilizzarsi solo in ambiente naturale da tiratori esperti.
- 16) Da utilizzarsi solo in ambiente naturale da tiratori esperti quando altri metodi non sono praticabili.



Allegato IV

Possono essere utilizzati metodi diversi da quelli elencati nella tabella:

- a) su animali non coscienti, a condizione che l'animale non riprenda conoscenza prima della morte;
- b) su animali impiegati nella ricerca nel settore agricolo, qualora la finalità del progetto preveda che gli animali siano tenuti in condizioni analoghe a quelle degli animali negli allevamenti commerciali; tali animali possono essere soppressi conformemente alle disposizioni di cui all'allegato I del regolamento (CE) n. 1099/2009 del Consiglio, del 24 settembre 2009, relativo alla protezione degli animali durante l'abbattimento .

Allegato IV

La soppressione degli animali è completata mediante uno dei seguenti metodi:

- a) conferma dell'arresto permanente della circolazione;
- b) distruzione del cervello;
- c) dislocazione del collo;
- d) dissanguamento;
- e) conferma dell'insorgenza del rigor mortis .

Quando?

fini della ricerca

Sedativi o anestetici di supporto

**Specifica manipolazione
e contenimento**

Training nello specifico metodo

principi

**Conoscenza comportamento normale
e biologia dell'animale**

No gruppi nuovi

Provvedere acqua e cibo

**Aspetti legali, etici, sanitari
e di sicurezza delle procedure**

Ambiente appropriato



Handling and Restraint

Metodi che non li prevedono

Evitare eccessivo disturbo

Esecuzione immediatamente dopo lo spostamento

Esecuzione attenta e svolta da operatore competente

Influenzano il grado di stress

Assistenza se non si è esperti

Indossare DPI

COMPORTAMENTO

- *minimizzare lo stress dell'animale.*

Dolore- Paura- Distress

- Vocalizzazioni
 - Dibattersi
 - Tentativi di fuga
 - Difesa o Aggressione
 - Salivazione
 - Urinare o Defecare
 - Dilatazione pupillare
 - Tachicardia
 - Contrazione della muscolatura scheletrica con: brividi, tremori ed altri spasmi muscolari
-
- immobilità



Dislocazione cervicale

- Obiettivo è causare danni estesi e rottura del midollo spinale cervicale e del tronco cerebrale dislocando e comprimendo le vertebre cervicali
- 1) Da utilizzarsi solo per i roditori di peso inferiore a 1 kg. I roditori di peso superiore a 150 g vengono sedati.
 - 2) Da utilizzarsi solo per i conigli di peso inferiore a 1 kg. I conigli di peso superiore a 150 g vengono sedati



Vantaggi e Svantaggi



- Il metodo è rapido se condotto correttamente e permette che i tessuti siano ottenuti rapidamente e senza contaminazioni con agenti chimici.
- Non sono necessari strumenti particolari o agenti chimici.
- La procedura è sicura per l'operatore che manipola e mantiene l'animale correttamente durante la stessa.
- Se condotto in maniera errata la morte può non essere immediata.
- Si può verificare emorragia nei polmoni dopo la morte e il tronco cerebrale e il cervelletto possono danneggiarsi così come il midollo spinale.
- Il personale può essere riluttante ad eseguirla perché stressante (manipolazione diretta).

Biossido di Carbonio

Produce acidosi tissutale e perdita di coscienza seguita da morte per collasso cardio respiratorio

- La CO₂ dovrebbe essere erogata con bombole in modo controllato così che gli animali siano esposti a concentrazioni crescenti di gas.
- Un approccio alternativo è quello di usare un agente anestetico come isofluorano per produrre perdita di coscienza, seguito dalla somministrazione di CO₂.

Solo per i roditori >7gg.



Vantaggi e Svantaggi



- L'uso della CO_2 permette eutanasia di un grande numero di roditori per volta.
- Semplice da usare e non lascia residui chimici nei tessuti.
- Gli animali perdono coscienza in modo relativamente rapido (<2 minuti)
- Prima di perdere coscienza la CO_2 può causare paura e ansia.
- Sebbene la CO_2 sia poco costosa, l'apparato ad hoc potrebbe essere costoso.
- I neonati sono poco sensibili agli effetti della CO_2 e il metodo non dovrebbe essere usato in roditori di meno di 7 giorni.
- La morte non sopravviene rapidamente.

Overdose di anestetico iniettabile

- Usati a dosi più elevate di quelle per anestesia
- Quelli più adatti hanno poca differenza tra la dose anestetica e quella eutanassica
- Eventuale uso di anestetico locale
- Usare un ago di piccolo diametro riduce la sofferenza immediata ma diminuisce la velocità di infusione

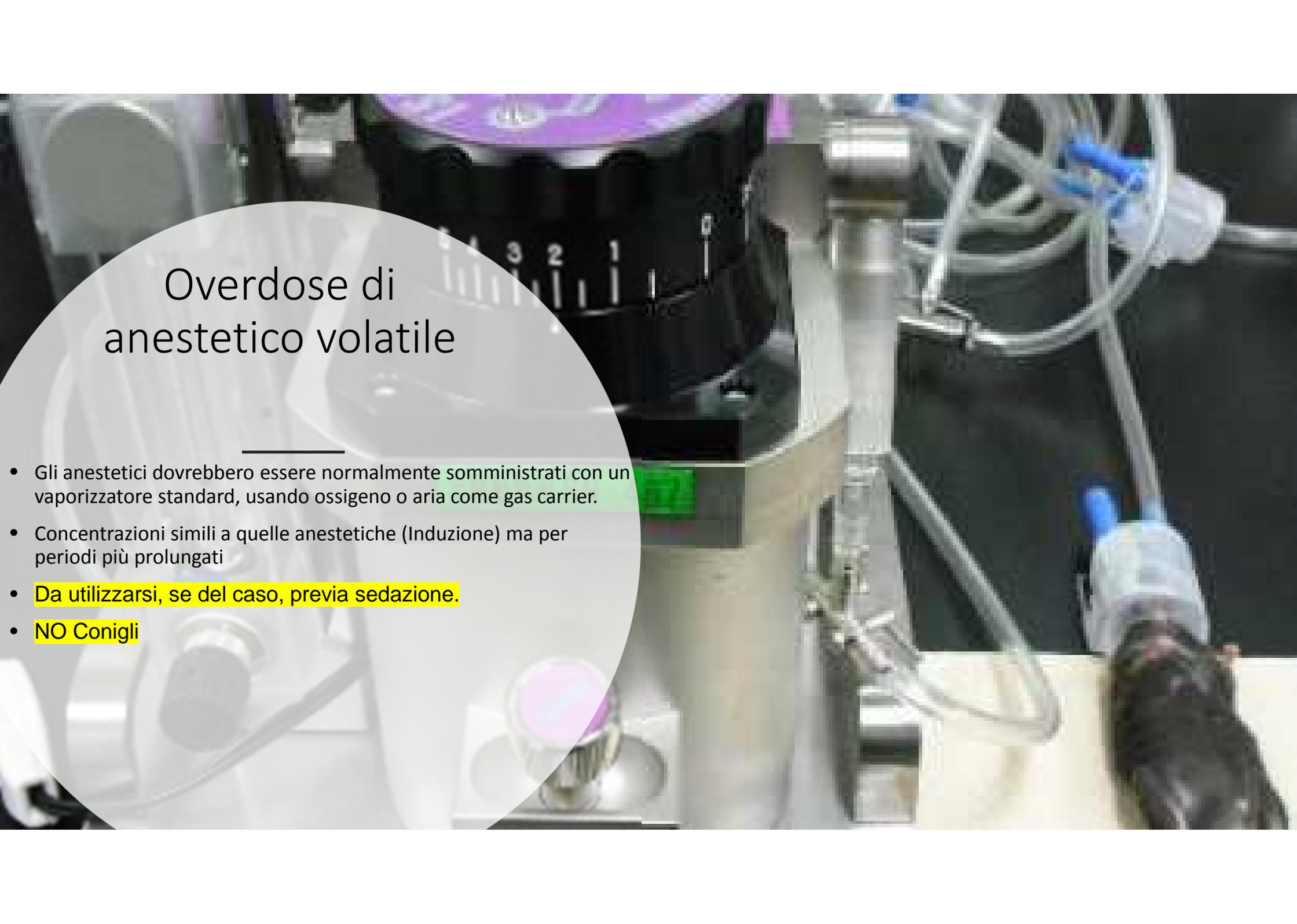


Da utilizzarsi, se del caso, previa sedazione

Vantaggi e Svantaggi



- L'IV è tecnicamente complicata ma facile da padroneggiare se con adeguato training.
- La somministrazione IV di anestetico risulta in effetti rapidi e produce una buona e rapida perdita di coscienza
- L'IP è tecnicamente più semplice. L'IP richiede un mantenimento meno duraturo.
- Training su animali appena sacrificati
- L'IP può essere associata a dolore dell'iniezione e risultare in una più lenta perdita di coscienza e un più lento tempo per morire.
- L'IV richiede un maggiore contenimento che può risultare stressante.
- Molti degli anestetici sono droghe da abuso.



Overdose di anestetico volatile

- Gli anestetici dovrebbero essere normalmente somministrati con un vaporizzatore standard, usando ossigeno o aria come gas carrier.
- Concentrazioni simili a quelle anestetiche (Induzione) ma per periodi più prolungati
- **Da utilizzarsi, se del caso, previa sedazione.**
- **NO Conigli**

Vantaggi e Svantaggi



- Gli anestetici volatili moderni sono relativamente non irritanti e poco avversi ai roditori rispetto la CO₂.
- Relativamente sicuri
- CO₂ dopo che gli animali hanno perduto coscienza accelera il processo.
- Sebbene i tessuti contengono residui di anestetico dopo la morte, questi rapidamente scompaiono.
- Tempo adeguato per fare effetto in modo che l'animale non si riprenda
- Poiché la morte è lenta ci può essere ipossia tissutale.
- Può essere molto lenta
- Apparecchiature costose
- Farmaci costosi

Decapitazione

interruzione della continuità del tronco encefalico



Vantaggi:

- Rapida perdita di coscienza
- Metodica rapida
- No residui nei tessuti

Svantaggi:

- Manipolazione e contenimento stressanti
- Tecnica visivamente sgradevole

- 1) Solo se altri metodi non sono praticabili
- 2) No Conigli.

Colpo di percussione alla testa



Trauma al cervello per colpo al cranio su superficie dura o con oggetto contundente

- Per prevenire dolore la percussione deve essere effettuata rapidamente e con sufficiente forza

- 1) Da utilizzarsi solo per i roditori di peso inferiore a 1 kg.
- 2) Da utilizzarsi solo per i conigli di peso inferiore a 5 kg.

Vantaggi e Svantaggi



- Il metodo è rapido se condotto correttamente
- Tessuti senza contaminazioni con agenti chimici
- Combinare la percussione con la dislocazione cervicale assicura una rapida perdita di coscienza e una morte rapida
- Non sono necessari strumenti particolari o agenti chimici
- La procedura è sicura per l'operatore che manipola e mantiene l'animale correttamente
- Il personale può essere riluttante ad eseguirla perché percepita stressante (esteticamente sgradevole)
- Il trauma al cranio e al cervello la rende inidonea se servono tessuti cerebrali

Altri metodi

- Azoto e Argon: No conigli
- Proiettile captivo: No roditori
- Elettrocuzione: No roditori





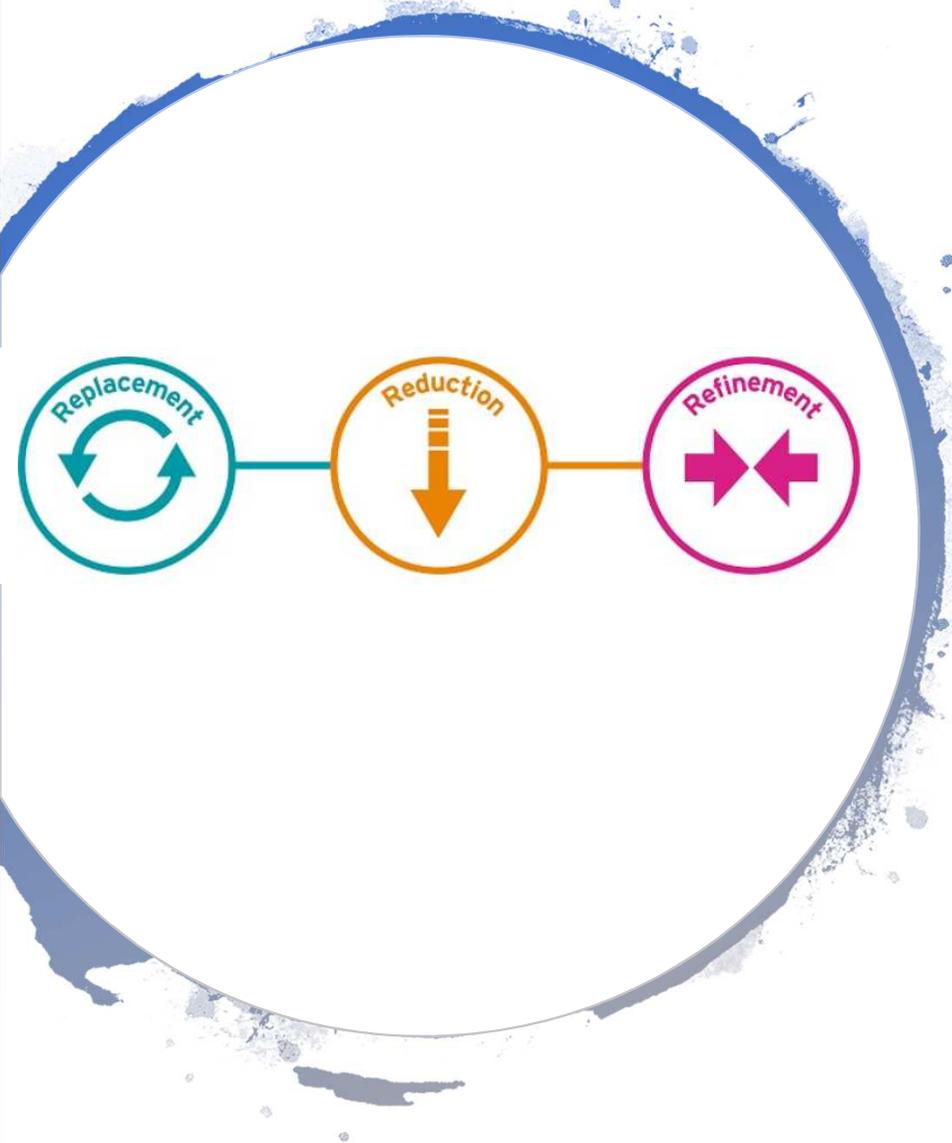
Neonati e Feti

- Hanno un'alta resistenza all'ipossia e al CO₂ fino a 7gg di vita.
- NO CO₂
- Iniezione overdose di anestetico è rapidamente efficace
- La dislocazione cervicale è efficace ma praticamente difficoltosa rispetto all'adulto a causa delle ridotte dimensioni
- La decapitazione usando una lama da bisturi o forbici affilate è solitamente più semplice da eseguire
- Se i feti sono in utero e la madre si può sacrificare lo si fa con metodo ammesso e i feti moriranno per ipossia

Eutanasia a 3R

Coloro che sopprimono gli animali possono implementare tutte le 3R in differenti modi

- Condivisione organi e tessuti in BDN sostituendo l'uso di altri animali (Replacement e Reduction)
- La selezione dei metodi migliori di eutanasia permette migliori dati e spesso riduce il numero di animali in toto (Refinement):
 - Manipolazione attenta riduce lo stress
 - Scelta del metodo che causa il minimo dolore e distress
 - Aggiornamento (vedi Studi sull'uso di CO2)



The image is a composite. On the left, a large, smooth, grey stone sits on green grass. A black line drawing of a cat's face is etched into the stone. A dark, semi-transparent overlay covers the left side of the stone, containing the text 'Milo' in a large, stylized font and the main message below it. On the right, a newspaper is visible, with some text and a large graphic of a hand pointing. The overall composition suggests a connection between nature, art, and media.

Ogni animale che
utilizziamo vive nei lavori
che pubblichiamo

References: flairelearning.com

paolo.coluccio@crl.com