



# FORMAZIONE E TRAINING DEL PERSONALE COINVOLTO NELLE ATTIVITA' DI SPERIMENTAZIONE ANIMALE

## UTILIZZO DEGLI ANIMALI A FINI SCIENTIFICI

### Modulo 5

#### **Riconoscimento del dolore, della sofferenza, del distress -specifico per specie**

- **Sofferenza animale: riconoscere, valutare e prevenire**
- **Dolore sofferenza e identificazione degli *stressors***
- **Valutazione danno - beneficio – cenni su gravità delle procedure**
- **Analgesia e anestesia**
- **Eutanasia e metodi di soppressione umanitaria degli animali**



ORGANISMO PREPOSTO AL BENESSERE ANIMALE

giorno	ore	argomenti	docente
6	14-16	<b>Legislazione Europea e nazionale</b> -Legislazione europea principi generali -Legislazione italiana struttura e particolarità -Compiti e responsabilità delle figure operanti negli impianti di	ALBERTO PETROCELLI

21	16-18	<b>Riconoscimento del dolore, della sofferenza, del distress – specifico per specie</b> -Sofferenza animale: riconoscere, valutare, prevenire -Dolore sofferenza e identificazione degli <i>stressors</i>	ALBERTO PETROCELLI
		-Valutazione danno/beneficio, cenni su gravità delle procedure -Analgesia e anestesia -Eutanasia e Metodi di Soppressione umanitaria degli animali	

14	15-18	-Allevamento stabulazione e cura di animali (roditori e lagomani) -Igiene, risanamento, contenimenti microbiologici e controllo dei parametri ambientali (roditori) -Organizzazione dello stabulario e importanza del programma di cura e mantenimento degli animali (roditori) -Controllo sanitario e sicurezza degli operatori	ALBERTO PETROCELLI
21	15-16	<b>Allevamento e Organizzazione dello stabulario</b>	ALBA FASOLO
21	16-18	<b>Riconoscimento del dolore, della sofferenza, del distress – specifico per specie</b> -Sofferenza animale: riconoscere, valutare, prevenire -Dolore sofferenza e identificazione degli <i>stressors</i> -Valutazione danno/beneficio, cenni su gravità delle procedure -Analgesia e anestesia -Eutanasia e Metodi di Soppressione umanitaria degli animali	ALBERTO PETROCELLI
27	16-18	<b>Preparazione, realizzazione, pubblicazione dei risultati di studi in vivo: linee guida internazionali</b>	MONICA FORNI

La prova scritta (domande con risposta multipla V/F) si terrà mercoledì 3 giugno alle ore 14

# RICONOSCIMENTO DEL DOLORE E DEL DISTRESS



21/05/2020

# DOLORE - DEFINIZIONE

Il dolore può essere definito come una

**esperienza sensoriale spiacevole**

causata da **effettivo** o **potenziale** danno,

accompagnata da

**reazioni somatiche e viscerali,**

che determina

**modifiche del comportamento,** incluso quello **sociale,**

che possono essere specifiche per ciascun individuo animale.



## TERMINI E DEFINIZIONI RELATIVE AL DOLORE

### **NOXA:**

stimolo nocivo che danneggia un tessuto

### **NOCICETTORE:**

recettore preferenzialmente sensibile ad una noxa od ad uno stimolo potenzialmente nocivo

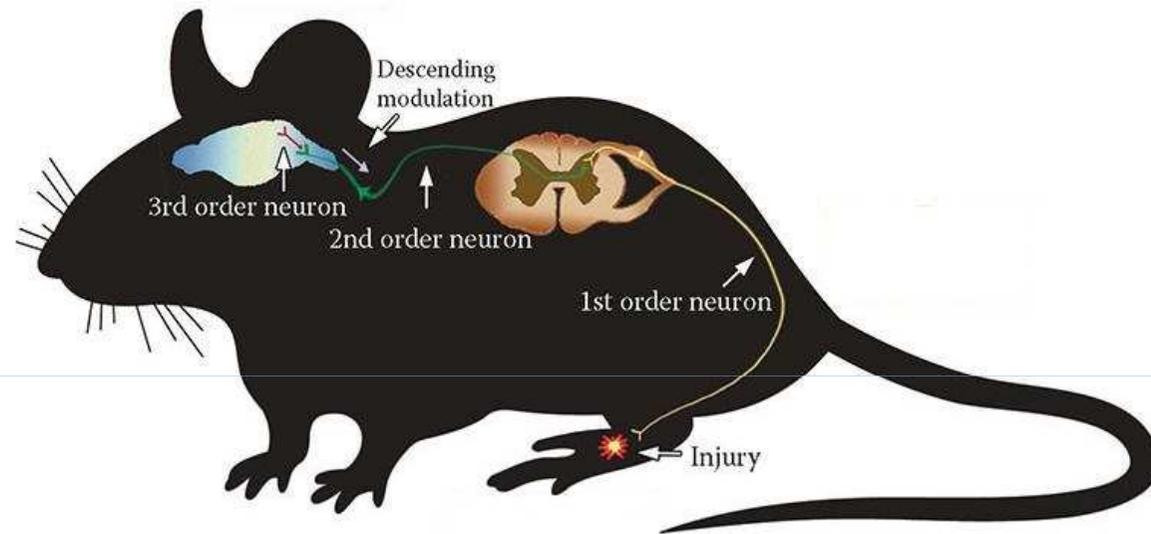
### **SOGLIA NOCICETTIVA:**

intensità sufficiente di stimolo nocivo in grado di attivare i nocicettori

### **SOGLIA DI TOLLERANZA DEL DOLORE:**

la maggiore intensità di stimolo dolorifico che un soggetto è preparato a tollerare

# NOCICEZIONE E DOLORE



La **nocicezione** è un sistema di allarme che informa della presenza di uno stimolo nocivo (**funzione di avvertimento**)

Quando gli stimoli nocicettivi raggiungono la corteccia cerebrale danno origine alla percezione del **dolore**

## CLASSIFICAZIONE DEL DOLORE

Il dolore può essere classificato in:

### **ACUTO:**

Dolore che scompare quando le lesioni del corpo guariscono. Ha un momento di inizio ben definito ed è normalmente associato a segni fisici obiettivi derivati dall'attività del sistema nervoso autonomo quali:

**tachicardia, ipertensione, dilatazione della pupilla e pallore delle mucose.**

### **ACUTO RICORRENTE:**

dolore **prolungato nel tempo** con **attacchi ripetuti** di dolore acuto;

### **CRONICO:**

dolore persistente **per oltre sei mesi.**

I sintomi del dolore cronico includono:

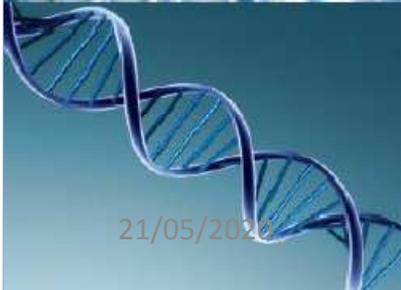
**depressione (abbattimento, ottundimento del sensorio), calo ponderale.**



## BENESSERE

### Definizione di benessere:

“Lo stato di un animale in relazione ai suoi **tentativi di adattarsi all'ambiente**”  
(*Broom 93, Poole 98*)



## STRESS - CLASSIFICAZIONE

### STRESS FISIOLÓGICO

STRESS deriva dal latino «**strictus**» e significa letteralmente «**serrato**» «**compresso**»:

è una **risposta adattativa** dell'organismo, non specifica, ad una serie di fattori che agiscono su di esso, provengono dall'ambiente e minano l'equilibrio interno.

(Hans Selye, «Nature» 1936)

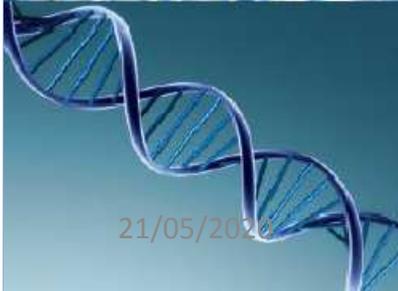
L'animale investe il

**MINIMO SFORZO** (risorsa) nella risposta adattativa e non ne è cosciente

L'adattamento conseguente rientra nella normalità

### DISCOMFORT:

minimo cambiamento nel livello adattativo dell'animale (leggera alterazione dell'omeostasi) come risultato di modificazioni biologiche, fisiche sociali o comportamentali.



21/05/2020

## STRESS - CLASSIFICAZIONE

### OVERSTRESS

L'animale converge

**SIGNIFICATIVI SFORZI** nella risposta adattativa e non è ancora cosciente dello sforzo che però può determinare alterazione di altri processi biologici

### DISTRESS (STRESS NEGATIVO)

L'animale converge

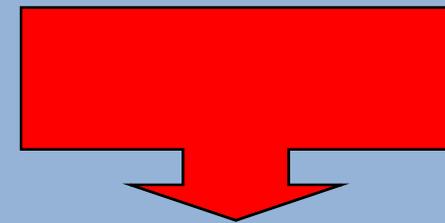
**SOSTANZIALI SFORZI** nella risposta adattativa ed è **probabilmente cosciente** dello sforzo determinando alterazione di processi biologici con conseguenze collaterali negative. Si ha quando gli stimoli stressanti instaurano un **logorio progressivo** fino alla rottura delle difese psicofisiche

Uno stato di **distress prolungato** o di notevole intensità può portare a **problemi comportamentali** (interazioni sociali, riproduzione, ...) od a **situazioni patologiche** (lesioni gastriche ed intestinali, immunosoppressione,...).

# STRESS - CLASSIFICAZIONE

## STIMOLI STRESSANTI

(psicologici, fisiologici, ambientali)



Benessere

Disagio

Stress acuto

Stress cronico

Distress

Comportamenti normali



Comportamenti maladattivi



**Interazioni sociali positive :**

il gioco, la dominanza, il riposo, allo-grooming

**Interazioni sociali negative :**

combattimenti, isolamento, BARBERING

21/05/2020

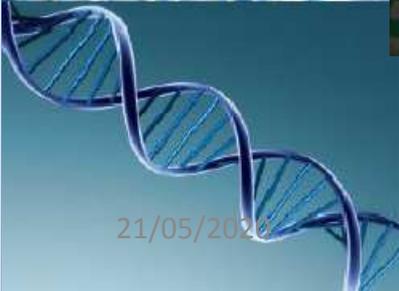
## VALUTAZIONE SINTOMI DI DOLORE E DISTRESS - STEREOTIPIE

### STEREOTIPIE:

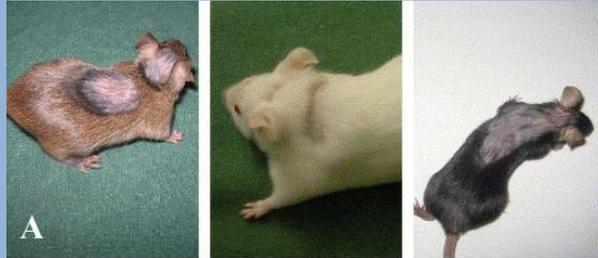
comportamenti ripetitivi causati da noia , frustrazione

### COMPORAMENTI ANOMALI:

irrequietezza, circling, stereotipie, letargie, vocalizzazioni, cannibalismo, riluttanza al movimento



# VALUTAZIONE SINTOMI DI DOLORE E DISTRESS - BARBERING



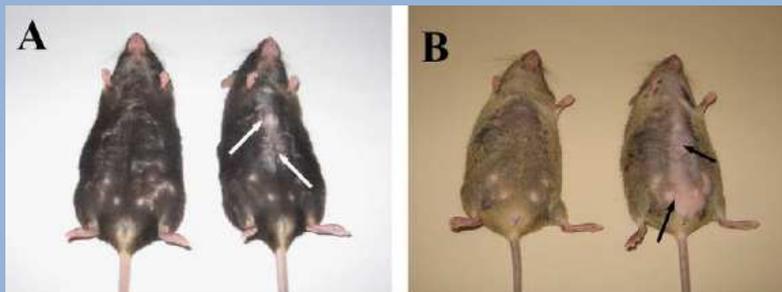
Sexual barbering



Social barbering



Social stress –evoked barbering



“Maternal” barbering

## VALUTAZIONE SINTOMI DI DOLORE E DISTRESS - PORFIRINA

Eccessiva produzione e accumulo di **pigmento rosa/rossastro** a livello oculare e nasale  
Può essere riscontrato anche a livello urinario



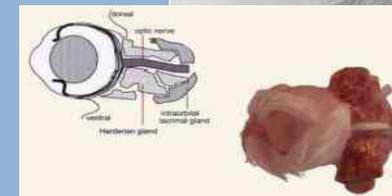
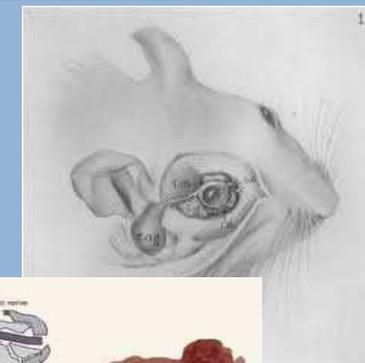
Le Porfirine sono un gruppo di pigmenti contenenti azoto e sono largamente diffuse nel regno animale e vegetale, fra di esse il gruppo **eme**, cofattore caratteristico delle **emoproteine**, quali l'**emoglobina**, i **citocromi**, la **catalasi** la **perossidasi**.

Queste molecole sono capaci di assorbire la luce ultravioletta.

Le Porfirine nella forma ossidata danno la caratteristica colorazione rosa-rossastra

Molte di queste porfirine si possono trovare nella **Ghiandola di Harder** (ghiandola lacrimale accessoria)

La produzione di porfirine aumenta con l'età



# VALUTAZIONE SINTOMI DI DOLORE E DISTRESS - PORFIRINA

## CROMODACRIORREA

Secrezione eccessiva di porfirine dal dotto lacrimale e dalle narici che si trasforma in croste riscontrabili a livello degli occhi e delle narici.

Si possono riscontrare anche sulle zampe e questo è dovuto alle azioni di **self-grooming**.

Normalmente queste secrezioni possono essere presenti in piccole quantità (fattori legati all'età)

## FATTORI STRESSOGENI:

- Scarsa o non corretta alimentazione
- deprivazione di acqua
- condizioni ambientali sfavorevoli (sostanze irritanti)
- infezione batterica o virale
- aggressività da gabbia, manipolazioni inappropriate
- dolore
- lesioni e patologie specifiche dell'occhio

**PORFIRINA** = rosa-rossastra/arancione  
**SANGUE** = Rosso scuro



# VALUTAZIONE SINTOMI DI DOLORE E DISTRESS

## Condizioni di **normalità**

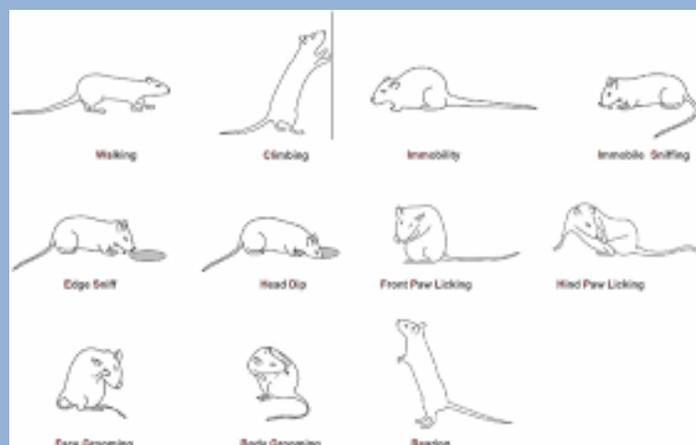


21/05/2020



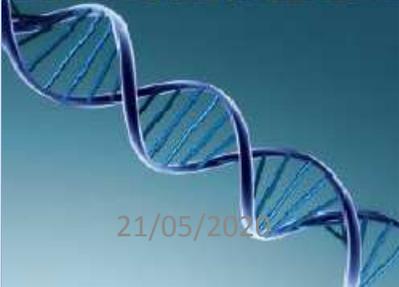
Animale manifesta le normali condizioni di comportamento:

- esplorativo
- alimentare
- sociale
- sessuale



## VALUTAZIONE SINTOMI DI DOLORE E DISTRESS

### Condizioni di alterazione fisica e psichica

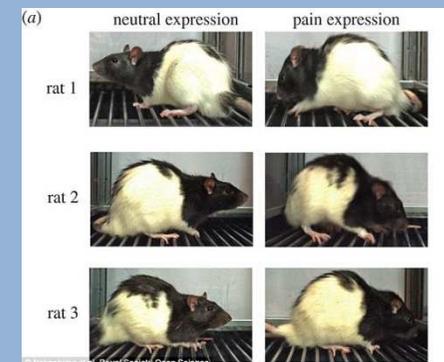
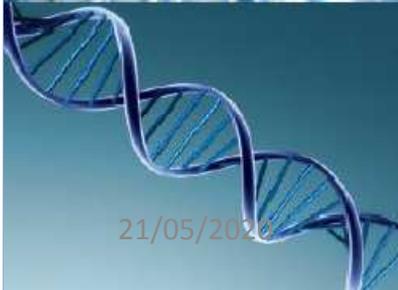


Animale manifesta le condizioni di comportamento **alterate**

# SOFFERENZA

Stato particolare **non assimilabile** al dolore o allo stress ma può essere la **conseguenza di uno o di entrambi di questi.**

Il dolore fisico e lo stress possono risultare nella sofferenza se questi sono di **sufficiente intensità e/o durata**



- PATOLOGIE DA **STABULAZIONE**

- PATOLOGIE DA **GABBIA**

- PATOLOGIE **ASSOCIATE AL MANAGEMENT**

# RICONOSCIMENTO DEL DOLORE

La rilevazione di aspetti **sintomatologici generali e particolari** indirizzeranno verso un

**SOSPETTO DI MALATTIA**

che dovrà essere confermato dalla **DIAGNOSI**

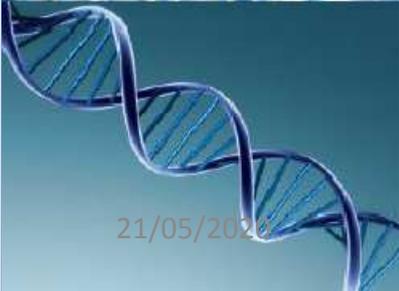
Si parla in genere di **SINDROMI:**

- RESPIRATORIE
- GASTRO-ENTERICHE
- CUTANEO-ARTICOLARI
- SISTEMA NERVOSO CENTRALE



## SINDROME RESPIRATORIA-SINTOMI

- Scolo nasale ed oculare più o meno evidente
- Dispnea
- Generale scadimento delle condizioni generali
- Stato di depressione che porta l'animale a isolarsi dal gruppo o a "rintanarsi"



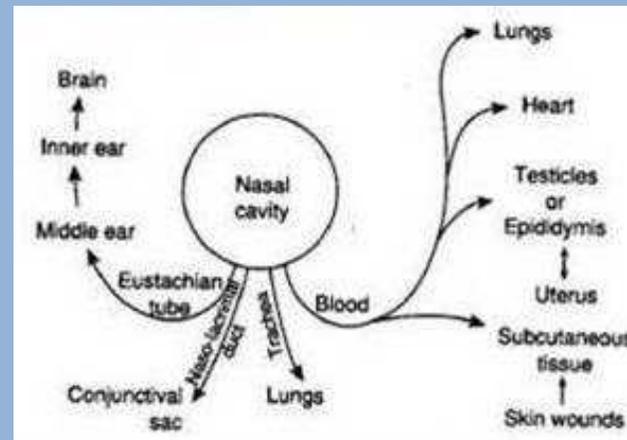
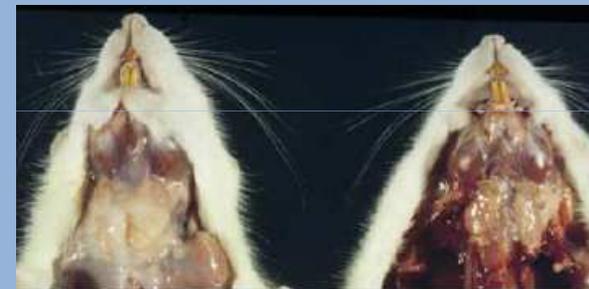
# SINDROME RESPIRATORIA - CAUSE

## VIRALI

- Sendai virus
- PVM (*Pneumonia Virus of Mice*)
- RCV ex SDAV (*Syalodacryoadenitis virus*)
- K Virus

## BATTERICHE

- Pasteurella pneumotropica*
- Mycoplasma pulmonis*
- Corynebacterium kutscheri*
- Klebsiella pneumoniae*
- Streptococcus pneumoniae*



# SINDROME RESPIRATORIA - CAUSE

## MANAGEMENT

Un problema respiratorio non indica necessariamente la presenza di uno o più microrganismi patogeni all'interno dello stabulario



Es:

**scarsa ventilazione e/o mancata sostituzione della lettiera per periodi prolungati** determina accumulo di **NH<sub>3</sub>** e conseguente **irritazione delle prime vie respiratorie**



# SINDROME GASTROENTERICA

Sintomatologia: malocclusione



-Feci semisolide

-Diarrea

-Disidratazione



Crescita incisivi  
esterno



Crescita incisivi  
interno



Diarrea



Disidratazione



Skin testing



Cachessia



Emaciazione

# SINDROME GASTROENTERICA-CAUSE

## VIRALI

- EDIM (*Epizootic Diarrhea of Infant Mice*)
- MHV (*Mouse Hepatitis Virus*)
- REO 3

\*Di più facile individuazione nelle colonie di allevamento (diarrea e mortalità neonatale)  
\*\*Presenza di feci oleose caratteristiche

## BATTERICHE

- Clostridium piliformis*
- Cytrobacter freundii* 4280
- Salmonella* spp
- Clostridium perfringens*

## PARASSITARIE

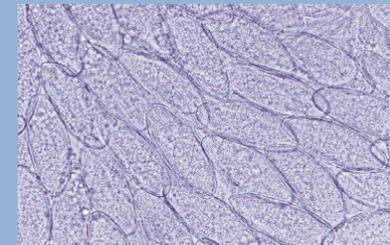
- Syphacia obvelata*
- Syphacia muris*
- Hymenolepis nana*
- Cocidi

## MANAGEMENT

- Acqua troppo fredda** all'arrivo in stabulario
- Mancanza di acqua



21/05/2020



## Ossiuri



# SINDROME CUTANEE E ARTICOLARI

Sintomatologia:

- Aree alopeciche diffuse
- Esfoliazioni cutanee
- Ulcerazioni cutanee
- traumi



21/05/2020

# SINDROME CUTANEE E ARTICOLARI-CAUSE

## VIRALI

-Ectromelia virus

Azione devastante sull'apparato tegumentario

Tutta la superficie dell'animale è interessata al processo patologico

Autoamputazione

## BATTERICHE

-*Corynebacterium kutscheri*\*

-*Streptobacillus moniliformis*

-*Staphylococcus aureus*

-*Mycoplasma arthritidis* \*\*\*

## -PARASSITARIE

-*Acari*



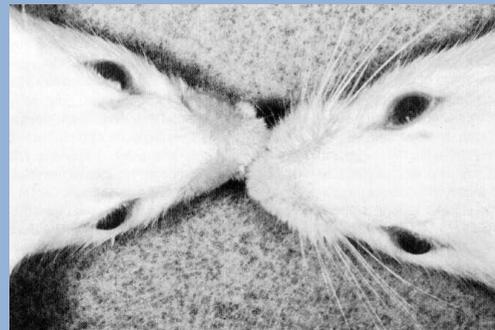
\*lesioni cutanee in topi atimici (ipercheratosi cutanea del topo nudo)

\*\*\*interessamento articolare con rigonfiamento e successiva ulcerazione

# SINDROME CUTANEE

## MANAGEMENT

- Alopecia di origine genetica
- Alopecie di origine ormonale
- Alopecie di origine comportamentale
- Traumi da "fighting"
- "Ring tail"
- Ulcere podali
- Traumi per errata manipolazione



21/05/2020

# SINDROME CUTANEE E ARTICOLARI-CAUSE

## MANAGEMENT

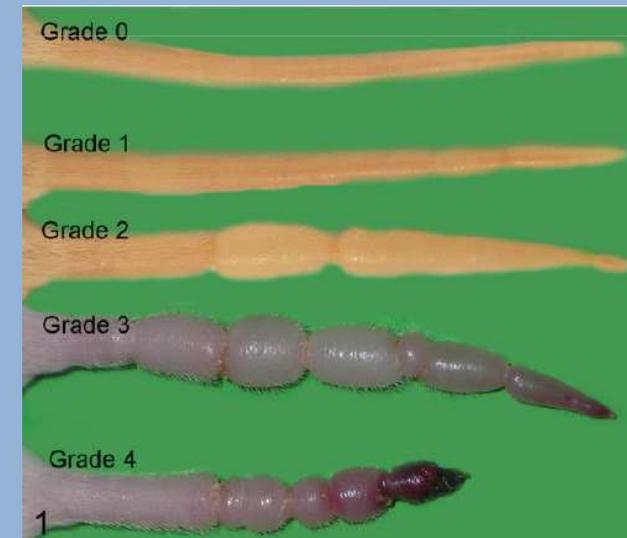
- Alopecia di origine genetica
- Alopecie di origine ormonale
- Alopecie di origine comportamentale
- Traumi da "fighting"
- "Ring tail"
- Ulcere podali
- Traumi per errata manipolazione



# SINDROME CUTANEE E ARTICOLARI-CAUSE

## MANAGEMENT

- Alopecia di origine genetica
- Alopecie di origine ormonale
- Alopecie di origine comportamentale
- Traumi da "fighting"
- "Ring tail"
- Ulcere podali
- Traumi per errata manipolazione



Generalmente attribuita alla persistenza di **bassa umidità relativa** ed alta temperatura

# SINDROME CUTANEE E ARTICOLARI-CAUSE

## MANAGEMENT

- Alopecia di origine genetica
- Alopecie di origine ormonale
- Alopecie di origine comportamentale
- Traumi da "fighting"
- "Ring tail"

## -Ulcere podali

Necrosi indotta da eccessiva compressione  
Pavimento metallico , scarsa cura , obesità,

## -Traumi per errata manipolazione

- Nel CL forte muscolatura vs scheletro fragile
- L7 sito più comune di frattura

**Completa paralisi motoria degli arti inferiori  
e perdita del controllo sfinterico**



# SINDROME SNC

**Sintomatologia:**

**-Convulsioni**



# SINDROME SNC - CAUSE

## VIRALI

- LCM (*Lymphocytic Choriomeningitis*) (topo)
- GDVII (*Theiler's Mouse Encephalomyelitis*) (topo)
- Reo 3 (topo)
- MHV (topo)
- KRV-H11(*Kilham Rat Virus*) (ratto)

## BATTERICHE

- Mycoplasma neurolyticum*
- 
- Pseudomonas aeruginosa*

## MANAGEMENT

Mangimi **NON** prodotti in **GLP** che possono contenere:

- esteri fosforici**
- Metalli pesanti**
- Micotossine**
- contaminanti**



# VALUTAZIONE DEL DOLORE



21/05/2020

## VALUTAZIONE DEL DOLORE

Alcune procedure possono essere negli animali  
**causa di dolore e distress**

**Iniezioni ripetute o elevati volumi di iniezioni**  
Intradermiche o intraperitoneali, iniezioni di  
adjuvanti o sostanze irritanti

**Restrizione prolungata** (più di 1 ora)

**Schock elettrici o altri stimoli dolorosi**  
per i quali non c'è possibilità di fuga



## VALUTAZIONE DEL DOLORE

Alcune procedure possono essere negli animali causa di dolore e distress

**Paralisi o immobilità in animale cosciente**

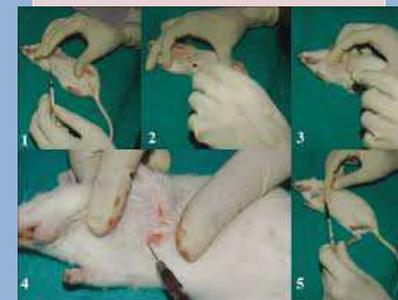
**Induzione di patologie infiammatorie**

**Lesioni cutanee non guaribili**

**Irradiazione ad alte dosi**

**Prelievi di sangue ripetuti che superino **più del 10% del volume totale** di sangue**

**Studi che richiedono il raggiungimento di uno stato di defezione avanzato o la morte come punto finale della sperimentazione**



# VALUTAZIONE DEL DOLORE – VALUTAZIONE PREVENTIVA

## OPBA

deve quindi contribuire alla prevenzione dell'insorgenza del dolore, della sofferenza che gli animali possono subire durante le procedure mediante:

- 1) La determinazione del **livello della gravità** delle procedure
- 2) La definizione degli **Humane endpoint**
- 3) La **giustificazione scientifica** dell'indispensabilità dell'esperimento proposto
- 4) La determinazione della **probabilità di successo** mediante l'analisi dei costi/benefici

## GRAVITA' DELLE PROCEDURE

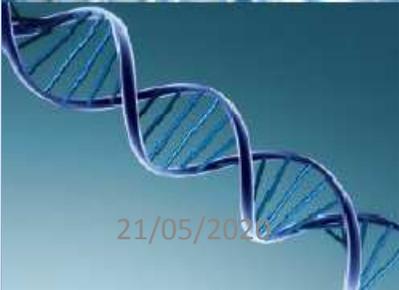
Determinata in base al livello di

**dolore**  
**sofferenza**  
**angoscia**  
**danno prolungato**

Cui sarà **PRESUMBILMENTE** sottoposto il singolo animale nel corso della procedura stessa

L'assegnazione della categoria di gravità si basa sugli

**EFFETTI PIU' GRAVI che RISCHIA di subire il singolo animale dopo che sono state applicate tutte le opportune tecniche di affinamento**



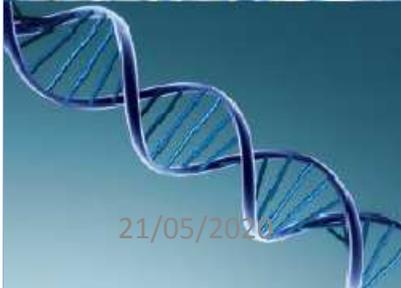


**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES



**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



# VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURE

## VALUTAZIONE DELLA GRAVITÀ - UN PROCESSO CONTINUO





Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## VALUTAZIONE DELLA GRAVITA' DELLE PROCEDURE

Il decreto L.vo 26/14 stabilisce che venga effettuata una **valutazione preventiva della gravità** di ciascuna procedura nell'ambito di un progetto (articolo 15) e che venga assegnata una classificazione della gravità che può essere :

D.Lgs. 26/14 - ALLEGATO VII

### CLASSIFICAZIONE DELLA GRAVITA' DELLE PROCEDURE

La gravita' della procedura e' determinata in base al livello di dolore, sofferenza, angoscia o danno prolungato cui sara' presumibilmente sottoposto il singolo animale nel corso della procedura stessa.

#### Sezione I: Categorie di gravita'

##### Non risveglio:

Le procedure condotte interamente in anestesia generale da cui l'animale non puo' riprendere coscienza sono classificate come "non risveglio".

##### Lieve:

Le procedure sugli animali che causano probabilmente dolore, sofferenza o angoscia lievi e di breve durata, nonche' le procedure che non provocano un significativo deterioramento del benessere o delle condizioni generali degli animali sono classificate come "lievi".

##### Moderata:

Le procedure sugli animali che causano probabilmente dolore, sofferenza o angoscia moderati e di breve durata, ovvero dolore, sofferenza o angoscia lievi e di lunga durata, nonche' le procedure che provocano probabilmente un deterioramento moderato del benessere o delle condizioni generali degli animali sono classificate come "moderate".

##### Grave:

Le procedure sugli animali che causano probabilmente dolore, sofferenza o angoscia intensi, ovvero dolore, sofferenza o angoscia moderati e di lunga durata, nonche' le procedure che provocano probabilmente un deterioramento grave del benessere o delle condizioni generali degli animali sono classificate come "gravi".



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

# VALUTAZIONE DELLA GRAVITA' DELLE PROCEDURE

D.Lgs. 26/14 - ALLEGATO VII

## CLASSIFICAZIONE DELLA GRAVITA' DELLE PROCEDURE

### Sezione II: Criteri di assegnazione

L'assegnazione della categoria di gravita' tiene conto di ogni intervento o manipolazione cui e' sottoposto un animale nell'ambito di una determinata procedura.

Essa e' basata sugli effetti piu' gravi che rischia di subire il singolo animale dopo che sono state applicate tutte le opportune tecniche di affinamento.

Allorche' si assegna una procedura a una determinata categoria si tiene conto del tipo di procedura e di una serie di altri fattori. Tutti questi fattori sono considerati caso per caso.

I fattori relativi alla procedura comprendono:

- tipo di manipolazione, gestione;
- natura del dolore, della sofferenza, dell'angoscia o del danno prolungato causati dalla procedura (in tutti i suoi elementi) e relativa intensita', la durata, frequenza e molteplicita' delle tecniche impiegate;

- sofferenza cumulativa nell'ambito della procedura;

- impedimento del comportamento naturale, dovuto tra l'altro a limitazioni delle norme in materia di alloggiamento, allevamento e cura.

<...> ai fini della classificazione di gravita' definitiva della procedura, si tiene conto anche dei seguenti

fattori aggiuntivi, valutati caso per caso:

- tipo di specie e genotipo;
- maturita', eta' e sesso dell'animale;
- esperienza di addestramento dell'animale con riferimento alla procedura;
- se l'animale e' destinato a essere riutilizzato l'effettiva gravita' delle procedure precedenti;
- metodi usati per ridurre o eliminare dolore, sofferenza, angoscia, tra cui il perfezionamento delle condizioni di alloggiamento, allevamento e cura;
- punti finali umanitari.

Nella sezione III sono riportati esempi di procedure assegnate a ciascuna delle categorie di gravita' in base a fattori relativi al tipo di procedura:

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2014/03/14/14G00036/sg>



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURE

Il ricercatore ha quindi l'obbligo di:

-Valutare sofferenza e dolore inflitti e gravità della procedura:

**Preventivamente,  
in corso d'opera  
Retrospectivamente**

-stabilire azioni correttive utili a impedire inutili sofferenze:

**Human end-points**

(esclusione dallo studio, affinamento procedura, trattamenti farmacologici e analgesici, sacrificio in extremis con metodi umanitari)

-eseguire una **valutazione retrospettiva critica**

-comunicare le informazioni statistiche sull'effettiva gravità del dolore, della sofferenza, angoscia o danno prolungato provati dall'animale.

Per potere attendere a tali obblighi indispensabile utilizzare strumenti appropriati:

**le schede di valutazione del dolore/benessere**



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**

# VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURE

Principali vantaggi del monitoraggio, della valutazione e della registrazione dell'effettiva gravità attraverso l'uso di

**schede di valutazione del dolore/benessere:**

**1) Attuare misure di perfezionamento e di ridurre la sofferenza (Humane end points);**

**2) Migliorare il benessere degli animali;**

**3) Migliorare la comunicazione**

**fra le persone responsabili dell'uso, della cura e del monitoraggio degli animali;**

Scheda 5: Numerical score sheet system  
General distress scoring system – ratto (Hawkins – Lloyd mod.)

Ratto n.	Progetto n.	Punteggio	Data intervento:	Scheda n.:	Data/ora	Data/ora	Data/ora	Data/ora
<b>Condizioni generali</b>								
- Normale		0						
- Grooming diminuito/assente		1						
- Mamello opaco e/o secrezioni occhio/nasali		2						
- Piloerezione e/o postura incurvata		3						
<b>Peso corporeo</b>								
- Normale o $\pm$ 5 %		0						
- $\pm$ 5-10 %		1						
- $\pm$ 10-20 %		2						
- $\pm$ 20-25 % e oltre		3						
<b>Segni clinici</b>								
- Valori normali (T°- freq C/R*)		0						
- Modeste variazioni		1						
- T° $\pm$ 1°C e/o valori C/R > 30 %		2						
- T° $\pm$ 2°C e/o valori C/R > 50 %		3						
<b>Comportamento spontaneo</b>								
- Normale		0						
- Modeste variazioni		1						
- Sensorio depresso e/o isolamento		2						
- Stato di agitazione o immobilità, lamenti e/o automutilazioni		3						
<b>Comportamento provocato</b>								
- Normale		0						
- Lieve variazione		1						
- Moderata variazione		2						
- Reagisce violentemente o stato comatoso		3						
<b>Punteggio</b>								
- Se è stato valutato "3" più di una volta, aggiungere un punto per ogni "3"		2-5						
- Totale		0-20						

\* C/R : frequenza cardiaca e respiratoria

Humane endpoint

0-4: normale

5-9: monitorare con attenzione; considerare utilizzo di analgesici

10-14: sofferenza; consultare medico veterinario, provvedere con opportuni presidi, considerare endpoint

15-20: sofferenza marcata; concordare eutanasia con medico veterinario, riconsiderare protocollo

Scheda 4: Binary score sheet system  
Modello di trapianto eterotopico di cuore – ratto (Morton-mod.)

Ratto n.: IR2	Progetto n.: C 15	Scheda n.: 01			
Data dell'intervento: 27/03/05	Peso corporeo pre-operatorio (g): 300				
Data	27/03	28/03	28/03	29/03	29/03
Giorno	0	1	1	2	2
Ora	16:20	08:30	12:00	16:30	11:00 16:32
<b>A distanza</b>					
Inattivo	-	-	-	-	-
Isolamento	-	-	-	-	-
Rannicchiato	-	-	-	-	-
Postura incurvata	+/-	-	-	-	-
Addome infossato	-	-	-	-	-
Mantello arruffato	+/-	-	-	-	-
Frequenza/tipo di respirazione*	n.d."	60 N	60 N	70 R	85 R 85 A
Mancato grooming	-	-	-	-	-
Andatura rigida	-	-	-	-	-
<b>Alta manipolazione</b>					
Sensorio depresso	-	-	-	-	-
Ridotto/mancato riflesso di raddrizzamento	-	-	-	-	-
Inappetenza	-	-	-	-	-
Adipsia	-	-	-	-	-
Peso corporeo (g)	300	295	290	291	265 250
% variazione (+/-) rispetto all'inizio			-3.00%		-11.60% -16.70%
Temperatura corporea (°C)	37.3	37.8	37.4	38.1	36.1 35.1
Secrezioni occhio/naso: O/N	-	-	-	-	-
Orifizi imbrattati (ano, app. urinario) A/U**	-	-	-	-	-
Assenza di feci	-	-	-	-	-
Diarrea	-	-	-	-	-
Disidratazione (plica cutanea)	-	-	-	-	-
Clonosi mucose/estremità M/E	-	-	-	-	-
Lamenti	-	-	-	-	-
Somministrati farmaci sperimentali S/N <sup>o</sup>	N	S	N	N	S N
Altri					
Battito cuore eterotopico <sup>o</sup>	4+	4+	4+	4+	4+ 4+
Giudizio complessivo: nulla da segnalare	√	√			
Segni operatori	AD	LDO	AD	AD	LDO LDO

Non

\* Non disponibile

\* Respiro: R = rapido, S = superficiale, A = affannoso, N = normale.

\*\* Ano / App. urinario

<sup>o</sup> SI / No

<sup>o</sup> 4+, 3+, 2+, 1+, (4+ ottimale)

Humane endpoint

- Manifestazione persistente ( $\geq$  48 ore) di segni di malessere => informare il medico veterinario

- Inappetenza, adipsia, diarrea, disidratazione marcata ( $\geq$  48 ore) => eutanasia

- Perdita di peso  $\geq$  20 % => informare il medico veterinario

- Perdita di peso  $\geq$  25 % => eutanasia

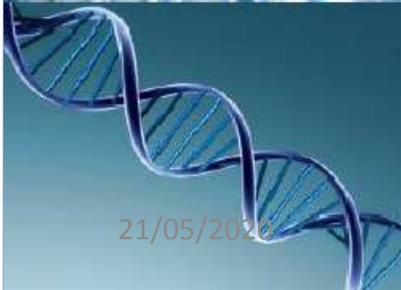
21/05/2020



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## SCHEDE DI VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURE

Le osservazioni sono articolate nelle sei seguenti

**macro-categorie:**

**ASPETTO**

Macro-categorie	Aspetti sui quali concentrare l'attenzione nell'osservazione degli animali	Indicatori specifici da monitorare
Aspetto	Condizione fisica	Aumento/ calo ponderale
		Obesità
		Magrezza
		Punteggio di valutazione della condizione fisica, se disponibile
	Stato del mantello e della cute	Piloerezione
		Mantello arruffato/ assenza di <i>grooming</i> (cura di sé)
		Mantello untuoso
		Alopecia/perdita di pelo
		Disidratazione: perdita di elasticità e turgore della cute ( <i>skin tenting</i> )
		Lesioni della cute: tumefazione; crosta; ulcerazione; lesione/ferita
		Tracce di feci o di urina
	Scarico	Oculare; nasale; uro-genitale; secrezioni di porfirina in alcune specie, ad esempio il ratto
Occhi	Infossati o "spenti" Chiusi/socchiusi Danno/lesione oculare (ad esempio ulcera corneale)	
Bocca	Salivazione Malocclusione/denti sporgenti	
Altro	Espressione facciale di dolore: ad es. occhi socchiusi e naso protuberante ( <i>nose bulge</i> ) nei topi Costrizione addominale Gonfiore di una parte del corpo, ad esempio addome gonfio	



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**

## SCHEDE DI VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURE

Le osservazioni sono articolate nelle sei seguenti  
**macro-categorie:**  
**COMPORAMENTO**

Macro-categorie	Aspetti sui quali concentrare l'attenzione nell'osservazione degli animali	Indicatori specifici da monitorare
Comportamenti	Interazione sociale	Alterazioni del temperamento normale: interazioni apprensive/aggressive con altri animali; ansietà (ad esempio marcate reazioni di fuga, tendenza a nascondersi) Isolamento o ritiro dagli altri animali nel gruppo sociale
	Comportamenti indesiderabili	Comportamento ripetitivo/ stereotipie Taglio di pelo e vibrisse ( <i>barbering</i> ) nei roditori, <i>tricotillomania</i> Aumento dell'aggressività verso gli esseri umani o altri animali
	Postura e mobilità	Postura anomala Andatura anomala, claudicazione, mancanza di movimento/letargia/riluttanza a muoversi se stimolato Movimenti non coordinati Addome retratto; testa reclinata
	Altro	Tremori Crisi/convulsioni/spasmi Vocalizzazioni; spontanee o evocate ( <i>Nota: alcune specie, ad esempio i roditori, vocalizzano di solito nella gamma ultrasonica e pertanto le vocalizzazioni udibili sono particolarmente preoccupanti. Anche le vocalizzazioni dei conigli sono in genere inaudibili per l'orecchio umano, a meno che l'animale non sia in stato di distress</i> ).
Indicatori procedura-specifici	Vengono definiti in base al singolo progetto, ai suoi potenziali effetti avversi e ai relativi indicatori previsti.	In un modello EAE gli indicatori potrebbero essere, ad esempio: coda atonica; debolezza degli arti posteriori, debolezza degli arti anteriori, paralisi, incontinenza urinaria.
Osservazioni libere	Ogni piano di valutazione della gravità dovrebbe comprendere una sezione per registrare qualsiasi osservazione relativa a impatti negativi imprevisi sul benessere degli animali.	

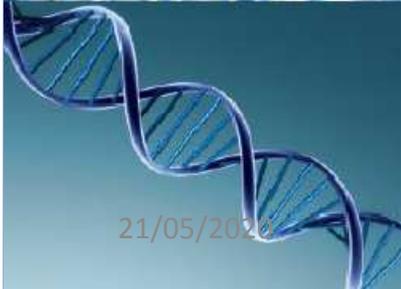


**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES



**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## SCHEDE DI VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURE

Le osservazioni sono articolate nelle sei seguenti  
**macro-categorie:**  
**FUNZIONI CORPOREE**

Macro-categorie	Aspetti sui quali concentrare l'attenzione nell'osservazione degli animali	Indicatori specifici da monitorare
Funzioni corporee	Respirazione	Respirazione accelerata (tachipnea)
		Respirazione difficoltosa (iperpnea)
		Respirazione molto difficoltosa (dispnea)
		Respirazione con ansimazione o emissione di altri suoni
	Assunzione di cibo/acqua	Aumentata/ridotta
	Temperatura corporea	Ipertermia/ipotermia; misurazioni della temperatura corporea, se disponibili (effettuate ad es. per mezzo di microchip o dispositivi telemetrici, termometri a contatto o senza contatto); colore delle estremità nei roditori
	Sensi	Indebolimento della vista, dell'udito e dell'equilibrio
Ambiente	Ambiente di stabulazione, ivi compresi lettieri, materiale per i nidi, elementi utilizzati per l'arricchimento ambientale	Presenza e consistenza delle feci
		Giaciglio bagnato, ad esempio a causa di poliuria
		Presenza di vomito o sangue
		Utilizzo o meno da parte dell'animale degli elementi forniti per l'arricchimento ambientale, ad es. materiale per i nidi, blocchi da rosicchiare



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**

# VALUTAZIONE RETROSPETTIVA

effettuata al termine della sua esecuzione (articolo 39) contribuisce :

- 1) Al miglioramento della qualità scientifica dei dati conseguente al miglioramento del benessere;
- 2) All'approfondimento delle conoscenze sulla valutazione della gravità e dei segni clinici utili anche per la progettazione di studi futuri;
- 3) Al perfezionamento dei corsi di formazione

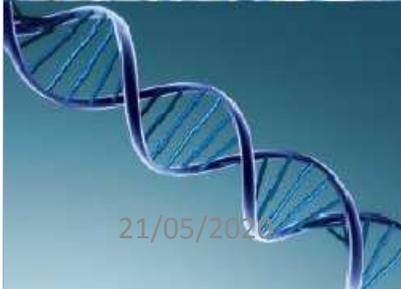
<p>Schema per la raccolta di informazioni ai fini della Valutazione retrospettiva</p>					
<p>Riferimenti di ricerca: Progetto di Titolo Numero autorizzazione Nominativo Resp. Progetto)</p>		<p>Quali benefici sono derivati dal lavoro svolto finora e si prevedono ulteriori benefici?</p>		<p>(tra cui lo sviluppo/la consolidazione di nuove tecniche in vitro o in silico) che potrebbero sostituire in tutto o in parte l'uso degli animali?</p>	
<p><b>SEZIONE 1 - Ricerca</b></p>		<p>La durata del progetto è stata appropriata per il raggiungimento degli obiettivi? In caso contrario specificare le motivazioni.</p>		<p><u>Riduzione</u> Il progetto è stato rivalutato per consentire l'ulteriore riduzione dell'uso previsto di animali?</p> <p>I modelli utilizzati erano ancora i più appropriati?</p>	
<p>Gli obiettivi del progetto sono stati realizzati? Spiegare brevemente se e in quale misura gli obiettivi definiti nella domanda sono stati realizzati.</p> <p>Ci sono stati altri risultati significativi?</p> <p>Se gli obiettivi non sono stati conseguiti, fornire le motivazioni.</p>		<p><b>Sezione 2 - Uso degli animali e gravità delle procedure</b></p>		<p>Il numero di animali utilizzati era adeguato per le analisi statistiche (ovvero insufficiente / eccessivo)? Con approcci diversi si potrebbe ridurre ulteriormente l'uso di animali?</p>	
		<p>Declarare il numero e le specie di animali utilizzati strettamente all'effettiva gravità delle procedure.</p> <p>Come si rapportano alle stime indicate nella domanda? In caso di differenze, fornire una spiegazione.</p>		<p><u>Perfezionamento</u> Elencare eventuali misure di perfezionamento introdotti nel corso del progetto per ridurre i danni arrecati agli animali.</p>	
		<p><b>Sezione 3 - Attrazione del principio di sostituzione</b></p>		<p>I dati possono essere ridotti ulteriormente?</p>	
		<p><u>Scatizzazione</u> Ci sono stati degli sviluppi nel campo scientifico interessato</p>			
				<p>Le procedure sperimentali (vie di somministrazione / campionamento, chirurgia) possono essere perfezionate ulteriormente?</p> <p>Si potrebbero migliorare i sistemi di monitoraggio degli animali?</p> <p>Le schede di punteggio, ovvero i protocolli di valutazione del benessere si sono dimostrati validi?</p> <p>Si potrebbero perfezionare i punti finali umanitari?</p> <p>Si potrebbero perfezionare i metodi di eutanasia?</p>	
				<p><b>Note</b> Compilazione a cura del responsabile del progetto di ricerca. Compilare la colonna di destra. Usare il font Times New Roman 11</p>	



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/6/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## VALUTAZIONE RETROSPETTIVA- SEZ.1 RISULTATI

Schema per la raccolta di informazioni ai fini della Valutazione Retrospettiva di un progetto di ricerca

Riferimenti Progetto di ricerca: Titolo Numero autorizzazione Nominativo (Resp. Progetto)	
<b>SEZIONE 1 – Risultati</b>	
Gli obiettivi del progetto sono stati realizzati? <i>Spiegare brevemente se e in quale misura gli obiettivi definiti nella domanda sono stati realizzati.</i>	<b>RAGGIUNGIMENTO O MENO DEI RISULTATI</b>
Ci sono stati altri risultati significativi?	
Se gli obiettivi non sono stati conseguiti, fornire le motivazioni.	

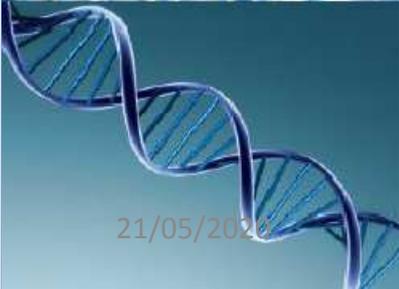


**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES



**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## VALUTAZIONE RETROSPETTIVA- SEZ. 2 USO ANIMALI E GRAVITA' PROCEDURE

<p><i>Quali benefici sono derivati dal lavoro svolto finora e si prevedono ulteriori benefici?</i></p> <p><i>La durata del progetto è stata appropriata per il raggiungimento degli obiettivi?</i></p> <p><i>In caso contrario specificare le motivazioni.</i></p>	
<p>Sezione 2 – Uso degli animali e gravità delle procedure</p>	
<p><i>Dichiarare il numero e le specie di animali utilizzati unitamente all'effettiva gravità delle procedure.</i></p> <p><i>Come si rapportano alle stime indicate nella domanda? In caso di differenze, fornire una spiegazione.</i></p>	<p><b>Numero totale degli animali utilizzati e registrazione effettiva della gravità della procedura</b></p>
<p>Sezione 3 – Attuazione del principio delle tre R</p>	
<p><u>Sostituzione</u></p> <p><i>Ci sono stati degli sviluppi nel campo scientifico interessato</i></p>	



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES



**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## VALUTAZIONE RETROSPETTIVA- SEZ. 3- ATTUAZIONE PRINCIPIO 3R

*(tra cui lo sviluppo/la convalida di nuove tecniche in vitro o in silico) che potrebbero sostituire in tutto o in parte l'uso degli animali?*

### Riduzione

*Il progetto è stato rivalutato per consentire l'ulteriore riduzione dell'uso previsto di animali?*

*I modelli utilizzati erano ancora i più appropriati?*

*Il numero di animali utilizzati era adeguato per le analisi statistiche (ovvero insufficiente / eccessivo)? Con approcci diversi si potrebbe ridurre ulteriormente l'uso di animali?*

### Perfezionamento

*Elencare eventuali misure di perfezionamento introdotti nel corso del progetto per ridurre i danni arrecati agli animali.*

*I danni possono essere ridotti ulteriormente?*

**Verifica dell' applicazione  
delle 3 R**

**RIDUZIONE**

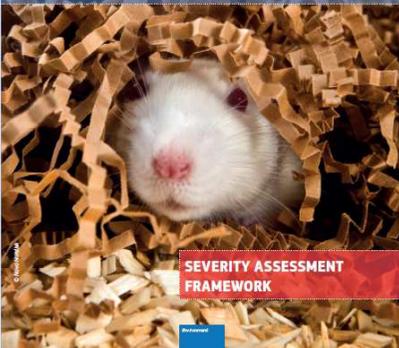
**Verifica dell' applicazione  
delle 3 R**

**PERFEZIONAMENTO**



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES



**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## VALUTAZIONE RETROSPETTIVA- SEZ. 3- ATTUAZIONE PRINCIPIO 3R

**Verifica dell' applicazione  
delle 3 R**

**PERFEZIONAMENTO**

*Le procedure sperimentali (vie di somministrazione / campionamento, chirurgia) possono essere perfezionate ulteriormente?*

*Si potrebbero migliorare i sistemi di monitoraggio degli animali?*

*Le schede di punteggio, ovvero i protocolli di valutazione del benessere si sono dimostrati validi?*

*Si potrebbero perfezionare i punti finali umanitari?*

*Si potrebbero perfezionare i metodi di eutanasia?*

**Note**

**Compilazione a cura del responsabile del progetto di ricerca.**

**Compilare la colonna di destra.**

**Usare il font Times New Roman 11**



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK

## HUMANE END POINT - DEFINIZIONE

Un **humane endpoint** può essere definite come:

L'**indicatore clinico più precoce** di (potenziale) dolore, angoscia e sofferenza che, nel contesto di una giustificazione morale e rispettando gli **endpoint scientifici**,

può essere utilizzato per **eliminare o alleviare** la condizione di malessere adottando azioni “correttive” come:

Esclusione del soggetto sofferente dallo studio, trattamento terapeutico ed analgesico, sacrificio in extremis.  
(Hendriksen and Morton, 1999).

Il principio alla base degli HE è **di definire una serie di punti chiari**, prevedibili e irreversibili di intervento che, pur consentendo la raccolta di dati scientifici validi, limitano la “**quantità**” della sofferenza a cui può andare incontro un animale.



## HUMANE ENDPOINT - DEFINIZIONE

*“Il punto in cui lo*

*stato di dolore e/o distress*

*di un animale viene*

*interrotto, minimizzato o ridotto*

*mediante azioni quali:*

*- soppressione eutanasica,*

*- interruzione delle procedure sperimentali*

*- esecuzione di trattamenti*

*atti ad alleviare dolore e/o distress”*

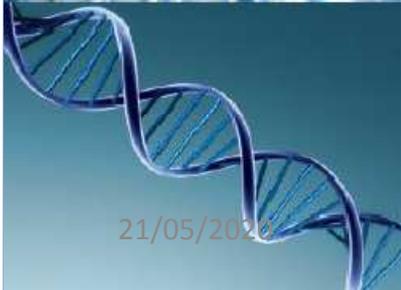
**(CCAC - Canadian Council on Animal Care 1998)**



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

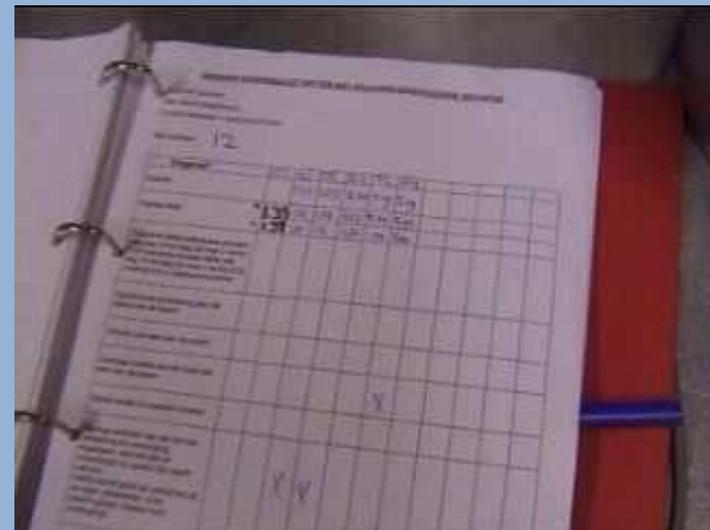
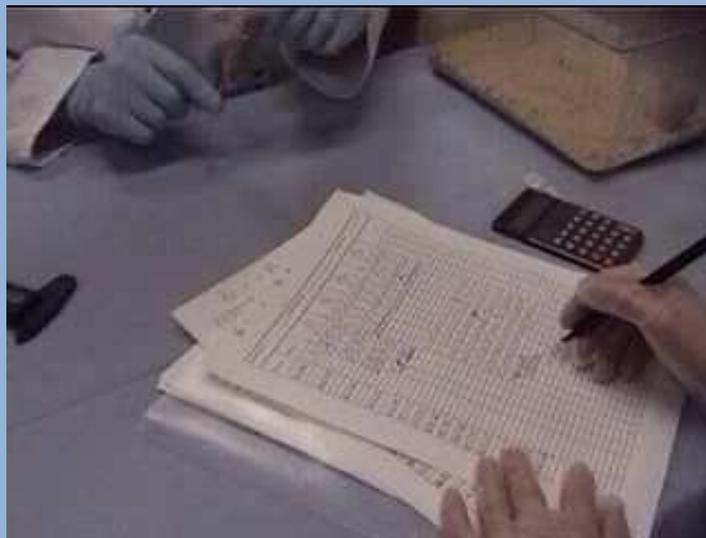
SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT

- Tiene conto nel contempo di esigenze di carattere:
  - **scientifico** (dati predittivi e significativi)
  - **morale** (evitare sofferenze inutili)
  - **legale** (proibito il dolore intenso e/o protratto)
- L'importanza dei criteri di valutazione, basati su:
  - parametri quantitativi, **misurabili**
  - parametri qualitativi, **osservabili**





Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

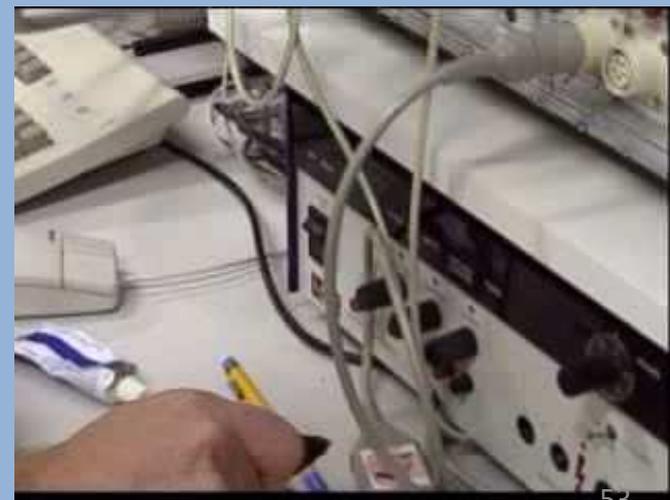
## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUANTITATIVI

- **Peso corporeo** (aumento o diminuzione)
- **Temperatura corporea** (aumento o diminuzione)
- Ematologia (biochimica, emocromo, dosaggio di ormoni)
- Esame delle feci (dosaggio di ormoni)
- Dimensioni di una neoformazione (tumore, flogosi)
- Altro

Variazione **peso corporeo**  
(aumento o diminuzione)



Variazione **temperatura corporea**  
(aumento o diminuzione)

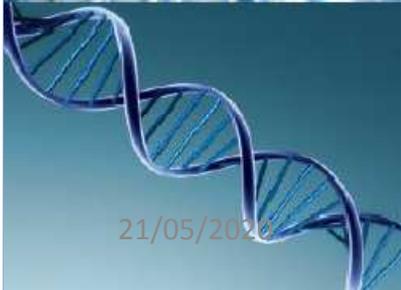




**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUANTITATIVI

- Peso corporeo (aumento o diminuzione)
- Temperatura corporea (aumento o diminuzione)
- Ematologia (biochimica, emocromo, dosaggio di ormoni)
- Esame delle feci (dosaggio di ormoni)
- **Dimensioni di una neoformazione** (tumore, flogosi)
- Altro

**Variazione dimensioni  
neoformazione**



**Variazione dimensioni a seguito di  
processo infiammatorio**



54



# HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUALITATIVI

- **Condizioni generali di salute**  
(ottimali, buone, discrete, scadenti, molto scadenti)

**ottimali, buone,**  
discrete, scadenti, molto scadenti

ottimali, buone,  
**discrete,** scadenti, molto scadenti





Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUALITATIVI

- **Condizioni generali di salute**  
(ottimali, buone, discrete, scadenti, molto scadenti)

ottimali, buone,  
discrete, **scadenti**, molto scadenti

ottimali, buone,  
discrete, scadenti, **molto scadenti**





Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUALITATIVI

### - Stato del sensorio

(vigile e reattivo, v. e mediamente reattivo, v. e scarsamente reattivo, v. ma non reattivo, incosciente)

**vigile e reattivo**, v. e mediamente reattivo,  
v. e scarsamente reattivo, v. ma non reattivo, incosciente



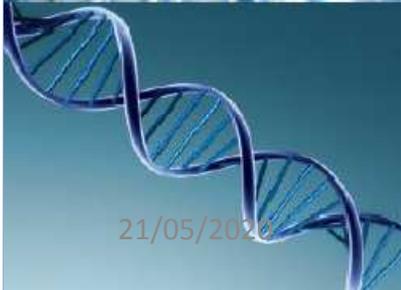
57



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUALITATIVI

### - Stato del sensorio

(vigile e reattivo, v. e mediamente reattivo, v. e scarsamente reattivo, v. ma non reattivo, incosciente)

vigile e reattivo, **v. e mediamente reattivo**,  
v. e **scarsamente reattivo**, v. ma non reattivo, incosciente



58



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUALITATIVI

**Repertorio comportamentale**  
(normale, ridotto o accentuato, stereotipie)

**Normale, ridotto o accentuato, stereotipie**



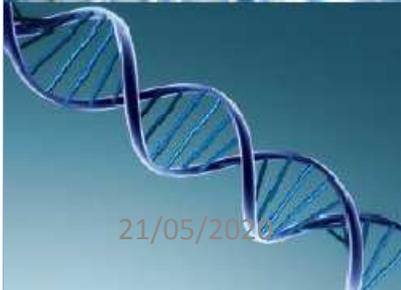
59



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## HUMANE ENDPOINT-PARAMETRI QUALITATIVI

### Repertorio comportamentale (normale, ridotto o accentuato, stereotipie)

Normale, ridotto o accentuato, **stereotipie**





**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 609/86 OF THE COUNCIL  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**

# SCORE SHEET SYSTEMS

Specifici *forms* o tabelle da utilizzare in pratica per la raccolta e registrazione di rilievi clinici, biochimici o comportamentali effettuati

Di seguito viene riportato un esempio di scheda di valutazione clinica per l'osservazione quotidiana dei ratti artritici

Data:	Giorno 1	Giorno 2	Giorno 3	Giorno 4
<b>Aspetto</b>				
Peso corporeo				
Assenza di <i>grooming</i>				
Disidratazione				
<b>Funzioni corporee</b>				
Dispnea				
Tachipnea				
<b>Comportamento</b>				
Riluttanza a muoversi				
Letargia/apatia				
Immobilità				
Vocalizzazione				
<b>Indicatore specifico relativo alla procedura</b>				
Punteggio zampa artritica (cfr. Tabella 2)				
<b>Altre osservazioni</b>				
(Testo libero)				
<b>Punteggio totale</b>				

**Nota:** ciascun indicatore è stato valutato secondo registrato il punteggio "1" alla voce "assenza di *grooming*" riportassero rispettivamente il punteggio "3" e "2" (evitare il più possibile sofferenze gravi e, dall'altro, sufficienti, onde evitare l'ulteriore ricorso ad animali

Tabella 1. Sistema di valutazione degli indicatori utilizzati nella scheda di valutazione clinica

Aspetto	Punteggio
Calo ponderale normale < 5%	0
Calo ponderale 5-10%	1
Calo ponderale 11-15%	2
Calo ponderale 16-20%	3
Calo ponderale 20% +	HEP
Assenza di <i>grooming</i>	1
Cute avvizzita /disidratazione	1
<b>Funzioni corporee</b>	
Dispnea	2
Tachipnea	1
<b>Comportamento</b>	
Riluttanza a muoversi	1
Letargia/apatia	2
Immobilità persistente < 24h	3
Immobilità >24h	HEP
Vocalizzazione alla manipolazione	1
Vocalizzazione, animale teso e nervoso alla manipolazione	2
Vocalizzazione al movimento/spontanea	3
<b>Indicatore specifico relativo alla procedura</b>	
Punteggio zampa artritica (Tabella 2)	0-8

Tabella 2. Indicatore specifico relativo alla procedura: punteggio zampa artritica

0	Normale
1	Eritema e gonfiore a carico di una caviglia
2	Eritema e gonfiore a carico della caviglia e della metà prossimale delle articolazioni tarsali
3	Eritema e gonfiore a carico della caviglia e di tutte le articolazioni tarsali fino alle articolazioni metatarsali
4	Eritema e gonfiore a carico dell'intera zampa, incluse le dita



severity scores of 4



severity scores of 3



severity scores of 2

Questo sistema di valutazione dell'artrite utilizzato come indicatore procedura-specifico si fonda su livelli crescenti di gonfiore ed eritema *per articolare*. I punteggi sono basati sull'esame obiettivo e sull'ispezione visiva e sono utilizzati per calcolare un indice dell'artrite, definito come la somma dei punteggi riportati per entrambi gli arti posteriori.

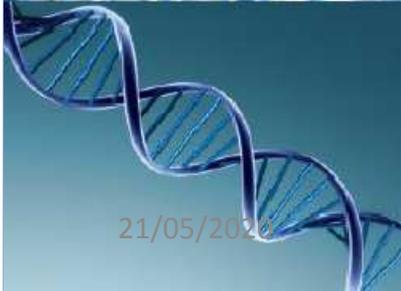
HEP: viene applicato il punto finale umanitario (HEP), indipendentemente dalla presenza o assenza di altri segni clinici



**Caring for animals**  
aiming for better science

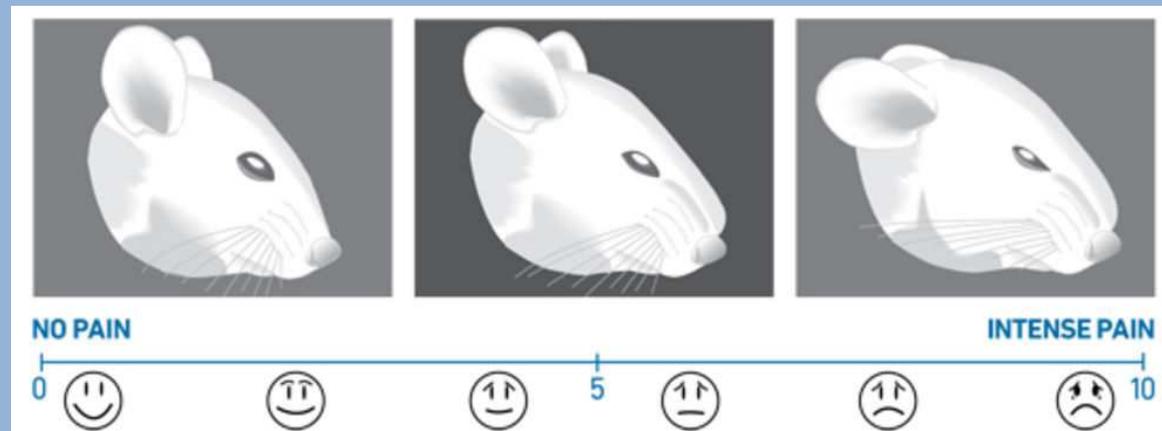
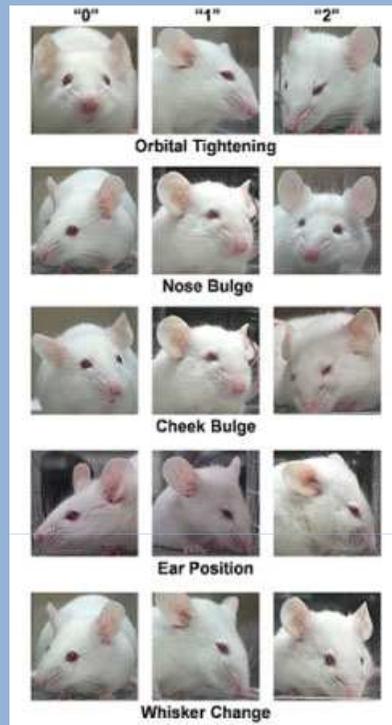
DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**



21/05/2020

## SCORING-GRIMACE SCALE



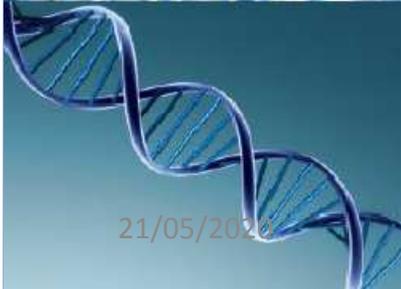


## Caring for animals aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

### SEVERITY ASSESSMENT FRAMEWORK

Reference



21/05/2020

# BCS- BODY CONDITION SCORE

	<p><b>BC1 - Mouse is emaciated.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Skeletal structure extremely prominent; little or no flesh cover.</li> <li>• Vertebrae distinctly segmented</li> </ul>
	<p><b>BC2 - Mouse is underconditioned.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Segmentation of vertebral column evident.</li> <li>• Dorsal pelvic bones are readily palpable.</li> </ul>
	<p><b>BC3 - Mouse is well-conditioned.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vertebrae and dorsal pelvis not prominent; palpable with slight pressure.</li> </ul>
	<p><b>BC4 - Mouse is overconditioned.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Spine is a continuous column.</li> <li>• Vertebrae palpable with only firm pressure.</li> </ul>
	<p><b>BC5 - Mouse is obese.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mouse is smooth and bulky.</li> <li>• Bone structure disappears under flesh and subcutaneous fat.</li> </ul>

A "+" or "-" can be added to the body condition score if additional increments are necessary (i.e. ...2+, 2, 2-...)

Body condition scoring is a quick and easy methodology that is useful in assessing animal health. It is particularly helpful when body weight might not reflect body condition (e.g. presence of tumours, ascites, organomegaly, pregnancy). Simply run your finger over the sacral area and score the animal according to the chart.

	<p><b>BC 1</b></p> <p>Mouse is emaciated.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Skeletal structure extremely prominent; little or no flesh cover.</li> <li>• Vertebrae distinctly segmented.</li> </ul>
	<p><b>BC 2</b></p> <p>Mouse is underconditioned.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Segmentation of vertebral column evident.</li> <li>• Dorsal pelvic bones are readily palpable.</li> </ul>
	<p><b>BC 3</b></p> <p>Mouse is well-conditioned.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vertebrae and dorsal pelvis not prominent; palpable with slight pressure.</li> </ul>
	<p><b>BC 4</b></p> <p>Mouse is overconditioned.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Spine is a continuous column.</li> <li>• Vertebrae palpable only with firm pressure.</li> </ul>
	<p><b>BC 5</b></p> <p>Mouse is obese.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mouse is smooth and bulky.</li> <li>• Bone structure disappears under flesh and subcutaneous fat.</li> </ul>

A "+" or "-" can be added to the body condition score if additional increments are necessary (i.e. ...2+, 2, 2-...)

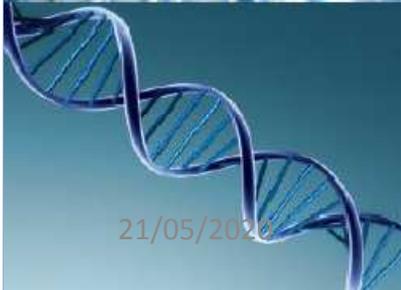
63



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 609/86 ON PROTECTION OF ANIMALS USED FOR SCIENTIFIC PURPOSES

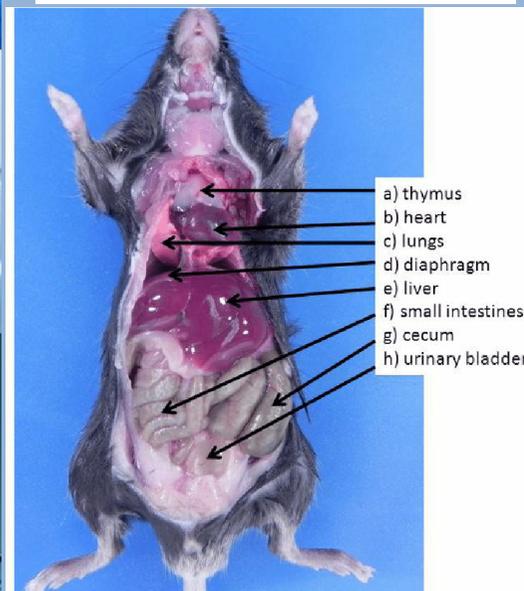
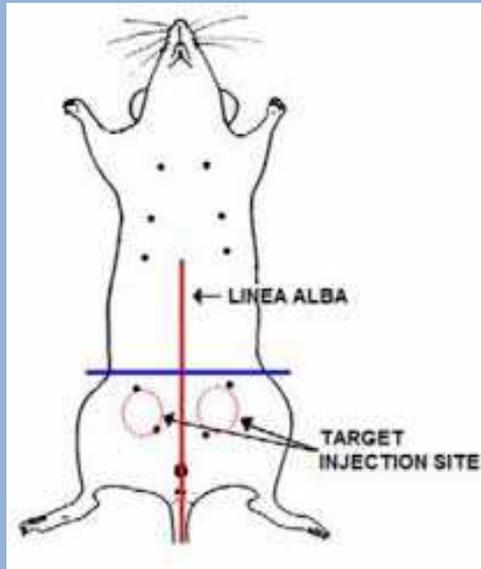
SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

# ESEMPI DI VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURA

## PROCEDURA DI INIEZIONE INTRAPERITONEALE



### TECNICA

l'iniezione deve essere eseguita nel **quadrante addominale inferiore destro**



### POTENZIALI RISCHI

danneggiare gli **organi interni**

### TECNICHE DI AFFINAMENTO

Per evitare di perforare la **vescica** bisogna iniettare **lateralmente alla linea mediana**;

l'ago **NON** deve essere inserito **orizzontalmente** (fra la cute e la parete addominale) o **verticalmente** (rischio di danneggiare i **reni**)

Ago va **inclinato di circa 30°** per evitare la perforazione degli organi contenuti in cavità addominale



**Caring for animals**  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

**SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK**

# ESEMPI DI VALUTAZIONE GRAVITA' PROCEDURA

ESEMPIO SCHEMA VALUTAZIONE GRAVITA' DELLE PROCEDURE PROGETTO: Titolo progetto    Obiettivi PDR: obiettivi progetto.

Identificazione animali: SPECIE, CEPPPO, SESSO,ETA'

Tempo	Procedure previste dal Progetto	Effetti avversi	Modalità per ridurre al minimo la sofferenza	Endpoints
T0 (inizio procedura)	Iniezione intraperitoneale (dosaggio e volume)	insorgenza di processi infiammatori e/o danni agli organi della cavità addominale a seguito di inoculazione di sostanze irritanti o fredde, a seguito della elevata velocità di inoculazione o come conseguenza di un errato sito di inoculazione o di un errato angolo di inclinazione dell'ago nel sito di inoculazione.	inoculazione lenta della sostanza portata a temperatura ambiente e/o corporea, individuazione corretta del sito di inoculazione, utilizzo di aghi corti, introduzione dell'ago nel sito di inoculazione con un angolo di inclinazione di circa 30° per evitare la perforazione degli organi contenuti in cavità addominale.	Manifestazione di segni di dolorabilità addominale
tX (2 iniezione)	Iniezione intraperitoneale (dosaggio e volume)	insorgenza di processi infiammatori e/o danni agli organi della cavità addominale a seguito di inoculazione di sostanze irritanti o fredde, a seguito della elevata velocità di inoculazione o come conseguenza di un errato sito di inoculazione o di un errato angolo di inclinazione dell'ago nel sito di inoculazione.	inoculazione lenta della sostanza portata a temperatura ambiente e/o corporea, individuazione corretta del sito di inoculazione, utilizzo di aghi corti, introduzione dell'ago nel sito di inoculazione con un angolo di inclinazione di circa 30° per evitare la perforazione degli organi contenuti in cavità addominale.	Manifestazione di segni di dolorabilità addominale

**VALUTAZIONE LIVELLO DI GRAVITA': MODERATA**

L'iniezione intraperitoneale rientra nella categoria **LIEVE**: Allegato VII, sezione III punto f) somministrazione, per via sottocutanea, intramuscolare, intraperitoneale, mediante sonda ed endovenosa attraverso i vasi sanguigni superficiali, di sostanze con effetto lieve o nullo e in volumi nei limiti appropriati alla taglia e alla specie dell'animale;

Nota:

Per la valutazione del potenziale danno agli animali, sono stati accuratamente presi in considerazione i **potenziali effetti negativi legati alla non corretta esecuzione della procedura di inoculazione** che potrebbero determinare insorgenza di processi infiammatori e/o danni agli organi della cavità addominale a seguito di inoculazione di sostanze irritanti o fredde, a seguito della elevata velocità di inoculazione o come conseguenza di un errato sito di inoculazione o di un errato angolo di inclinazione dell'ago nel sito di inoculazione.

Per la valutazione della gravità della procedure si è tenuto conto degli effetti più gravi che rischia di subire il singolo animale dopo che sono state applicate tutte le opportune tecniche di affinamento e la sofferenza cumulativa derivante da più iniezioni intraperitoneali programmate



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK

## ESEMPIO DI VALUTAZIONE- ALLEGATO VI punto 20

### 20. Dichiarazioni riferite all'articolo 13, comma 2 del decreto

#### 20.1

- a. Sostituzione (*Dichiarazione che la specie animale di cui si farà uso sono quelle a più basso sviluppo neurologico, nonché della mancanza di metodi alternativi, compatibili con l'obiettivo del progetto di ricerca*).
- b. Riduzione (*Massima riduzione del numero di animali utilizzati, compatibile con gli obiettivi del progetto di ricerca*).
- c. Affinamento (*Ottimizzazione della metodica per ridurre la sofferenza imposta all'animale durante l'esecuzione delle procedure*).

Per la valutazione del potenziale danno agli animali, sono stati accuratamente presi in considerazione i potenziali effetti negativi legati alla non corretta esecuzione della procedura di inoculazione che potrebbero determinare insorgenza di processi infiammatori e/o danni agli organi della cavità addominale a seguito di inoculazione di sostanze irritanti o fredde, a seguito della elevata velocità di inoculazione o come conseguenza di un errato sito di inoculazione o di un errato angolo di inclinazione dell'ago nel sito di inoculazione.

A questi potenziali rischi si è posto rimedio richiedendo di procedere con l'inoculazione lenta della sostanza portata a temperatura ambiente e/o corporea e con l'individuazione corretta del sito di inoculazione, con l'utilizzo di aghi corti e con l'introduzione dell'ago nel sito di inoculazione con un angolo di inclinazione di circa 30° per evitare la perforazione degli organi contenuti in cavità addominale.

#### d. Rapporto danno/beneficio

Se dunque le procedure proposte in questo progetto possono essere fonte di dolore e sofferenza lievi e di breve durata per gli animali, i benefici per l'uomo ricavati dai risultati di questi esperimenti si presume possano essere sicuramente maggiori rispetto al dolore imposto all'animale durante le procedure.



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK

## ESEMPIO DI VALUTAZIONE- ALLEGATO VI punto 21

**21. METODOLOGIA E TECNICA DELL'ESPERIMENTO** *(Va spiegato dettagliatamente il protocollo sperimentale, con particolare riferimento alle fasi che prevedono la manipolazione degli animali- frequenza, tipo di trattamenti, prelievi, ecc.)*

21.1 Criteri di selezione del campione *(indicare le modalità di selezione del campione, specificando i criteri di inclusione e l'eventuale suddivisione dell'unità campionaria in gruppi).*

21.2 Considerazioni statistiche *(descrivere come è stato determinato il numero di animali necessari per lo studio).*

**21.3 Tecnica di esecuzione delle procedure** *(descrivere il protocollo sperimentale con particolare riferimento alle procedure indicate di seguito).*

Per l'esperimento verranno utilizzati Tot animali (ceppo, sesso, età) , di cui 10 riceveranno la sostanza X e 10 la sostanza di controllo.

Il trattamento prevede la somministrazione di 200 ug di anticorpo ogni tre giorni tramite iniezioni intraperitoneali per due settimane secondo la seguente tecnica di somministrazione:

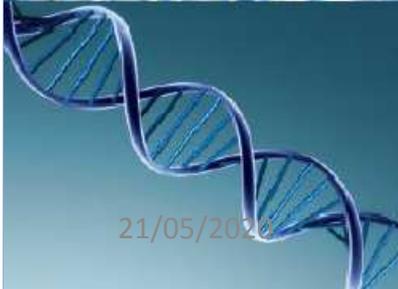
- 1) Individuare la linea mediana dell'animale e mentalmente suddividere in quadranti l'addome. In particolare il quadrante inferiore destro è il sito più appropriato per le iniezioni vista l'assenza di strutture anatomiche importanti
- 2) Utilizzare una siringa di dimensioni adeguate e ago appropriato (25G), iniettare la sostanza in addome (200ug in 0,2 ml)
- 3) Alternare le iniezioni nei due quadranti inferiori (destra e sinistra) per evitare ripetute somministrazioni nello stesso sito di inoculazione



Caring for animals  
aiming for better science

DIRECTIVE 2003/60/EC  
ON PROTECTION OF ANIMALS USED  
FOR SCIENTIFIC PURPOSES

SEVERITY ASSESSMENT  
FRAMEWORK



21/05/2020

## ESEMPIO DI VALUTAZIONE- ALLEGATO VI punto 24

### 24. Effetti avversi e misure per ridurre, evitare ed attenuare qualsiasi forma di sofferenza per l'animale dalla nascita alla morte.

*Descrivere i potenziali effetti negativi che la procedura può determinare sull'animale (es. dolore, stress, perdita di peso, febbre, anemia, deficit neurologici, comportamenti anomali o altri sintomi clinici di stress acuto o cronico o deficienze nutrizionali).*

*Indicare se questi effetti possono essere ridotti e/o annullati con la somministrazione di analgesici o altri farmaci e in caso contrario, indicare perché ciò non è possibile.*

I trattamenti previsti da questo progetto si limitano alle iniezioni intraperitoneali e prelievi ematici eseguiti previa anestesia generale con isofluorano. La somministrazione di anticorpo per la rimozione dei neutrofilici non comporta alcun effetto collaterale.

I potenziali effetti avversi che la procedura può determinare sono sostanzialmente legati alla tecnica errata di somministrazione.

Se non eseguita correttamente infatti gli effetti potrebbero essere:

- a) Peritonite e/o invaginazione delle anse intestinali a seguito di inoculazione di sostanze irritanti o fredde e a seguito della elevata velocità di inoculazione.  
A questo potenziale rischio si rimedia procedendo con l'inoculazione lenta della sostanza portata a temperatura ambiente e/o corporea;
- b) Perforazione della vescica, dei reni o di altri organi contenuti in cavità addominale a seguito dell'inoculazione della sostanza utilizzando un sito di inoculazione errato o per effetto dell'angolo di inclinazione dell'ago non corretto. A questo potenziale rischio si rimedia individuando correttamente il sito di inoculazione (quadrante inferiore destro lateralmente alla linea mediana per non perforare le vescica), utilizzando aghi corti e introducendo l'ago con un angolo di inclinazione di circa 30° per evitare la perforazione degli organi contenuti in cavità addominale.

# ANESTESIA E ANALGESIA



## D.Lgs.26/14 Art.14 - ANESTESIA

1. Sono **vietate** le procedure **che non prevedono anestesia o analgesia**, qualora esse **causano dolore intenso a seguito di gravi lesioni all'animale**, ad eccezione delle procedure per la sperimentazione di anestetici ed analgesici.

2. Fatto salvo quanto previsto dal comma 1, sono **consentite le procedure condotte in assenza di anestesia generale o locale secondo quanto disposto dalla legislazione o farmacopea nazionale, europee o internazionali,**

ovvero qualora si ritiene che l'anestesia e' per l'animale **piu' traumatica** della stessa procedura

ovvero risulta essere **incompatibile** con le finalita' della stessa.



## D.Lgs. 26/14 Art.14 - ANESTESIA

3. **Cessati gli effetti dell'anestesia** o quando questa **non sia praticabile**, gli animali sono immediatamente **sottoposti a un trattamento analgesico** adeguato o ad un **altro metodo appropriato** per ridurre la percezione del dolore o della sofferenza, purché **compatibile con le finalita'** della procedura.

4. **Non e' consentito** fare uso di alcun mezzo, ivi compresi agenti di blocco neuromuscolare\*, volto ad **impedire o limitare l'espressione del dolore senza assicurare un livello adeguato di anestesia o di analgesia.**

In questi casi e' obbligatoriamente fornita una giustificazione scientifica corredata da informazioni dettagliate sull'efficacia del protocollo anestesiológico o analgesico.

5. Al termine della procedura sono intraprese azioni appropriate allo scopo di ridurre al minimo la sofferenza dell'animale.

\*impiegati per ottenere il rilassamento muscolare senza portare all'anestesia



# ANESTESIA E ANALGESIA

Perdita completa della sensibilità di una parte o di tutto l'organismo indotta da farmaci capaci di deprimere l'attività del tessuto nervoso sia a livello centrale che periferico

## ANESTESIA LOCALE

anestesia limitata ad una localizzazione specifica

## ANESTESIA GENERALE:

Perdita della coscienza oltre che della sensibilità

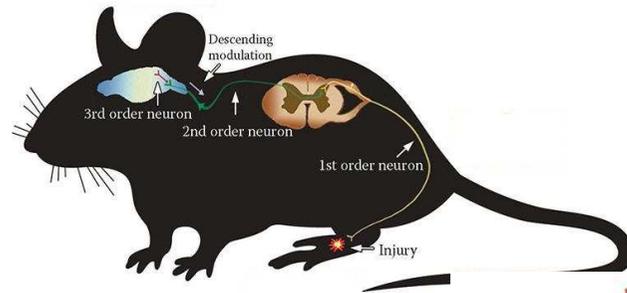
**Processo reversibile**

che ha lo scopo di :

-fornire un mezzo di contenimento adeguato e sicuro per poter effettuare i diversi procedimenti clinici riducendo al minimo il dolore



# ANESTESIA E ANALGESIA



*Perception*  
inhibited by

- Opioids
- Benzodiazepines
- $\alpha_2$ -agonists
- Anesthetics

*Modulation*  
inhibited by

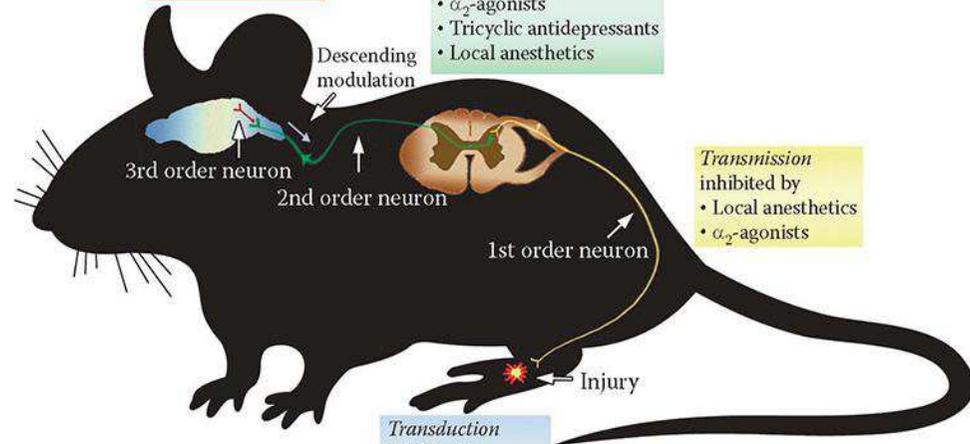
- NSAIDs
- NMDA antagonists
- Opioids
- $\alpha_2$ -agonists
- Tricyclic antidepressants
- Local anesthetics

*Transmission*  
inhibited by

- Local anesthetics
- $\alpha_2$ -agonists

*Transduction*  
inhibited by

- Local anesthetics
- Capsaicin
- NSAIDs
- Corticosteroids
- Opioids



# ANESTESIA GENERALE

- ANESTESIA **INALATORIA**

- ANESTESIA **INIETTIVA**

- ANESTESIA **MISTA**

**Induzione:** farmaco EV/SC/IP

+

**Mantenimento** : gas o vapori anestetici

Dell'anestesia mista fa parte la:

**“ ANESTESIA BILANCIATA”**



# STADI ANESTESIA GENERALE

## STADIO I :

È detto stadio dell'analgesia o del movimento volontario e dura dalla somministrazione iniziale del farmaco alla perdita della coscienza. **L'analgesia non è profonda.**

## STADIO II :

stadio del delirio o del movimento involontario;  
c'è perdita di coscienza: Dura dalla perdita di coscienza all'assunzione di un tipo di respiro regolare.  
Ci possono essere vocalizzazioni, scialorrea, vomito.

## STADIO III :

stadio dell'anestesia chirurgica ed è caratterizzato da incoscienza con progressiva depressione dei riflessi (4 sottostadi in base alla profondità dell'anestesia).

## STADIO IV :

stadio di pre- morte.  
**S.N.C. molto depresso**, il respiro cessa,  
il cuore batte solo per un breve periodo, ipotensione grave,  
midriasi e rilassamento degli sfinteri.



# PROFONDITA' ANESTESIA

Indipendentemente dal tipo di anestetico selezionato è importante poter **valutare e controllare la profondità** dello stato anestetico indotto allo scopo di assicurare che l'anestesia non sia

**troppo leggera,**

per evitare all'animale la percezione degli stimoli dolorosi,

**troppo profonda**

per evitare un decesso da sovradosaggio .

I criteri che consentono di determinare la profondità dell'anestesia sono vari:

- **attività riflessa;**
- **modifiche nel tipo ritmo e profondità degli atti respiratori;**
- **alterazioni del ritmo cardiaco e della pressione sanguigna;**
- **reazione a stimoli dolorosi e altri.**



# VALUTAZIONE PROFONDITA' ANESTESIA

Per valutare se un animale è a un livello sufficiente di anestesia si possono evocare i **seguenti riflessi**:

**Riflesso del raddrizzamento:**  
l'animale posto in decubito dorsale, tende a girarsi in posizione quadrupedale;

**Riflesso palpebrale:**  
l'animale ammicca quando vengono toccati gli angoli interni o esterni degli occhi;



## VALUTAZIONE PROFONDITA' ANESTESIA

Per valutare se un animale è a un livello sufficiente di anestesia si possono evocare i seguenti riflessi:

**Riflesso caudale:**

pinzettando lievemente la coda con le dita o con una pinzetta l'animale muove la coda e occasionalmente vocalizza;



## VALUTAZIONE PROFONDITA' ANESTESIA

### Riflesso della deglutizione:

l'animale deglutisce in seguito alla lieve trazione della lingua o a una leggera pressione della zona della gola;



### Riflesso podale:

l'animale ritrae e flette l'arto quando un dito o l'area interdigitale viene pinzata leggermente;



## VALUTAZIONE PROFONDITA' ANESTESIA

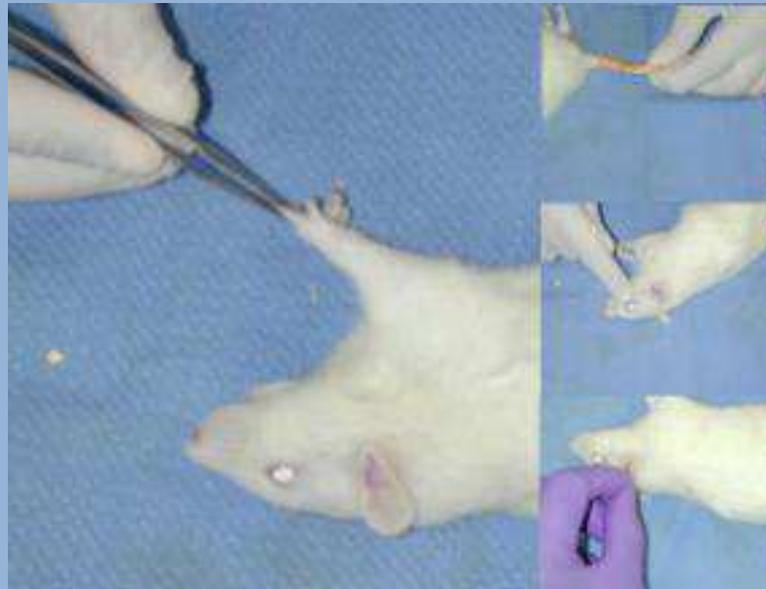
### Riflesso auricolare:

l'animale, in genere coniglio e cavia; scuote la testa se viene pinzato il padiglione auricolare.



La perdita del **riflesso del raddrizzamento** e del **riflesso podale** sono in pratica le valutazioni maggiormente utili nei roditori e nei conigli.

Questi riflessi sono perduti in maniera graduale.



# VALUTAZIONE DELLA PROFONDITA' DELL'ANESTESIA GENERALE

## INDICI VITALI:

- frequenza e ritmo **cardiaco**
- frequenza ritmo e profondità del **respiro**
- polso arterioso
- **colore delle mucose**
- riempimento capillare
- diametro pupillare e **risposta alla luce**
- pressione intraoculare



# FREQUENZA E RITMO CARDIACO

Si valuta:  
- strumentalmente  
- palpazione polso

- stetoscopio  
- elettrocardiografo  
- sonda esofagea

TOPO: FC = 570

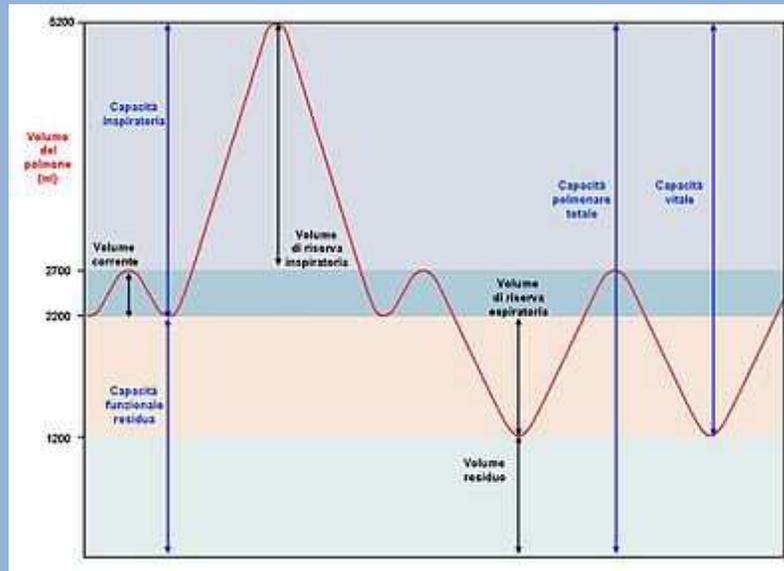
RATTO: FC = 400

ANESTETICI: maggior parte **riduce la F.C. del 10%**  
alfa 2 stimolanti : riduce del 50%  
cicloesamine : aumenta del 10-20%

**DERIVATI ALOGENATI:**  
(Alotano, Isoflurano, Sevofluorano)  
predispongono il miocardio  
all'azione aritmica delle  
catecolamine



## FREQUENZA, RITMO E PROFONDITA' DEL RESPIRO



**VOLUME TIDALICO ( $V_t$ ):**  
volume di aria  
inspirata o espirata in un  
atto respiratorio

**VOLUME DI RISERVA INSPIRATORIO:**  
rappresenta il volume che può essere  
inspirato **al di là del  $V_t$**  ed  
è circa 6 volte il  $V_t$ .

**VOLUME DI RISERVA ESPIRATORIO:**  
rappresenta il volume che può essere  
**emesso forzatamente oltre alla  
normale espirazione**  
ed è circa 2 volte il  $V_t$

**VOLUME RESIDUO:**  
è quello che **rimane dopo una massima  
espirazione forzata** ed ammonta  
approssimativamente a 2 volte il  $V_t$ .



## FREQUENZA, RITMO E PROFONDITA' DEL RESPIRO

### FREQUENZA RESPIRATORIA:

il numero di volte che un animale respira in un minuto.

$$\text{VOLUME MINUTO (Vm)} = V_t \times \text{F.R.}$$

La profondità del respiro corrisponde alla misura del  $V_t$ .

TOPO:      FR= 163       $V_t = 0.15 \text{ ml}$        $V_m = 24 \text{ ml}$

RATTO:      FR= 90       $V_t = 1,4 \text{ ml}$        $V_m = 120 \text{ ml}$

Tutti gli anestetici **diminuiscono il  $V_m$  di un 20-50%** in quanto riducono la capacità dei mm. intercostali di espandere adeguatamente il torace (riduzione del  $V_t$ ) e riducono la F.C. per azione diretta sul centro respiratorio.

**Generalmente, per un breve lasso di tempo, durante l'induzione si osserva un aumento della F.R. o un periodo di apnea dovuto alla interferenza dell'anestetico con il centro respiratorio.**



## COLORE DELLE MUCOSE

in corso di anestesia :

Rosa pallido

Bianco pallido

eccessiva vasocostrizione  
periferica conseguente ad uno  
**shock cardiogeno, emorragia** o  
ad un  
**riflesso algico**

Cianotico

scarsa ossigenazione



### RIEMPIMENTO CAPILLARE

Metodo alternativo per la valutazione della pressione arteriosa in mancanza di uno sfigmomanometro.

La **maggior parte degli anestetici**, esclusi le cicloesamine, hanno un **effetto depressore sul miocardio** che si traduce in una **diminuzione della pressione arteriosa**.



## DIAMETRO PUPILLARE E RISPOSTA ALLA LUCE



### DIAMETRO PUPILLARE E RISPOSTA ALLA LUCE

Se il cervello rimane carente nella circolazione o nell'ossigenazione per **pochi minuti ne consegue un danno permanente.**

Una delle prime aree colpite dall'ipossia cerebrale è **la visione ed il controllo pupillare** verso la luce.

Durante l'anestesia si controlla il diametro pupillare puntando una luce sulla pupilla: se

**OSSIGENAZIONE CEREBRALE è ADEGUATA**

si restringe sia la pupilla centrata dalla luce, sia quella contro laterale.



# TECNICA ANESTETICA

Deve:

- causare un minimo disagio
- fornire un **adeguato livello di analgesia**
- procurare un **recupero tranquillo**, privo di effetti collaterali
- tecnica **facile e veloce** da effettuare

La risposta ad un farmaco anestetico può essere influenzata :

- dal ceppo
- dal sesso
- dall'età
- dall'ambiente in cui vive l'animale

Cautela:

utilizzo farmaci o analgesici per la prima volta  
anestetizzare un diverso ceppo di animali

**ANESTESIA INIETTIVA**  
**ANESTESIA INALATORIA**



# ANESTESIA INIETTIVA

**Grado di distribuzione dell'anestetico in base alla vascolarizzazione:**

tessuti **ricchi di vasi** ( polmoni, cervello, cuore,visceri addominali)

tessuti muscolari

tessuto **adiposo**

tessuti **poveri di vasi** (ossa, cartilagini, tendini e legamenti)



# ANESTESIA INALATORIA



Gli anestetici inalatori sono **VAPORI O GAS** somministrati direttamente nell'apparato respiratorio.

Sono **assorbiti dagli alveoli** e passano nel **torrente ematico** per raggiungere l'**encefalo**

La durata dell'effetto clinico degli anestetici inalatori non dipende primariamente dai meccanismi di detossificazione dell'organismo perché vengono eliminati o con relativa rapidità dai polmoni

A causa della relativa rapidità della loro assunzione ed eliminazione è possibile avere un buon controllo della profondità dell'anestesia anche se è necessario monitorare costantemente il paziente per evitare problemi di **IPOVENTILAZIONE legata all'alta f respiratoria**



# FATTORI BIOFISIOLOGICI CHE INFLUENZANO L'ANESTESIA

## RODITORI E LAGOMORFI: RESPIRAZIONE

**MODELLO** di respirazione di tipo **DIAFRAMMATICO**  
(tipico degli animali che vivono sottoterra) caratterizzato da:

- elevatissima frequenza**
- piccoli volumi tidalici**

-( $V_t$  = volume di aria che entra ed esce durante ogni ciclo respiratorio normale )

### Posizione supina in decubito dorsale:

- Compressione del diaframma per il peso dei visceri
- Riduzione capacità toracica  
(mancata escursione del diaframma)

### -IPOVENTILAZIONE



# FATTORI BIOFISIOLOGICI CHE INFLUENZANO L'ANESTESIA

## RITMI CIRCADIANI:

Prolungamento del risveglio nelle sperimentazioni effettuate nelle ore pomeridiane rispetto a quelle effettuate nelle ore antemeridiane

Animali notturni si alimentano e si abbeverano al buio

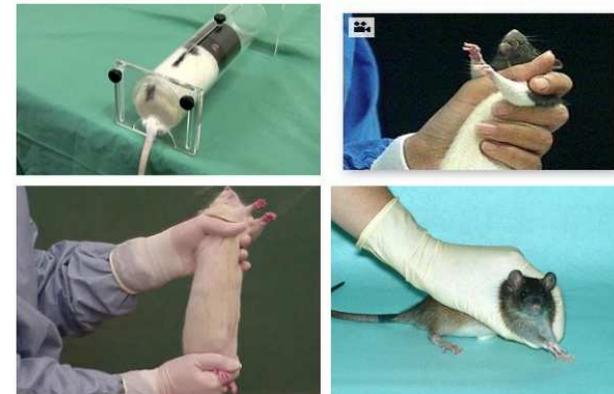
Con la luce si va ad **influenzare il metabolismo epatico** con conseguente **prolungamento del periodo di risveglio**

## MANIPOLAZIONI NON CORRETTE in fase preanestetica:

Stress con liberazione di catecolamine con necessità di somministrazione di dosaggi più elevati e conseguente **prolungamento del tempo di risveglio**



## 2. Rat handling and restraint techniques



# FATTORI BIOFISIOLOGICI CHE INFLUENZANO L'ANESTESIA

## TEMPERATURA CORPOREA:

-**rapporto massa/superficie** nei roditori è squilibrato in sfavore della superficie.

Questo comporta una maggiore attività metabolica basale e predispone ad

## IPOTERMIE ACCIDENTALI

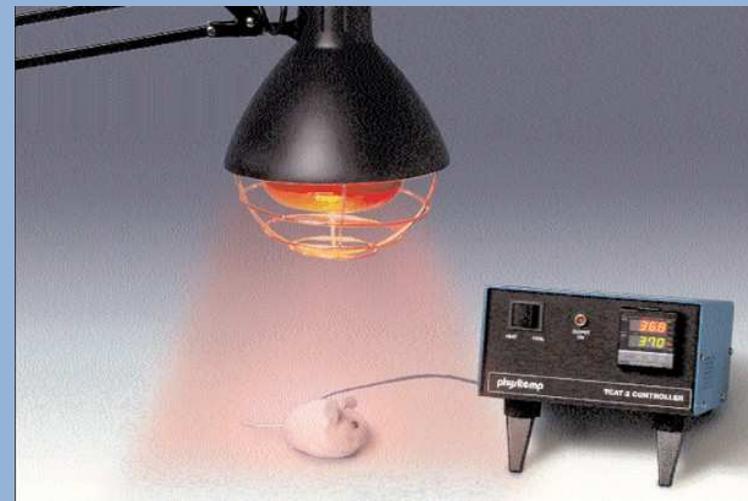
Esposizione dei visceri sul piano metallico a t° ambientale determina abbassamento della t° corporea



# FATTORI BIOFISIOLOGICI CHE INFLUENZANO L'ANESTESIA

## MISURE ANTIIPOTERMIZZANTI:

- Materassini ad acqua calda
- Lampade a luci infrarosse
- Riscaldamento delle perfusioni



# SOMMINISTRAZIONE DEL FARMACO

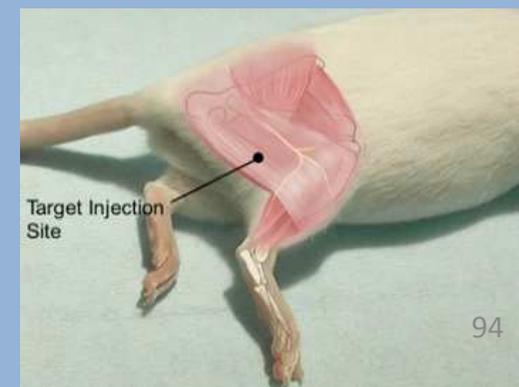
**Iniezione intraperitoneale (IP):**  
sostituisce l' endovenosa grazie al  
**rapido assorbimento dei farmaci**  
Ratto: quadrante inferiore destro  
poiché in questa specie sulla sinistra è  
situato il cieco



**Iniezioni sottocutanea (SC):**  
possono essere effettuate sul dorso e  
sulla collottola, in senso  
antero posteriore



**Iniezione intramuscolare (IM):**  
nella zona del quadricipite ma viene  
effettuata meno frequentemente  
perché  
**più dolorosa**



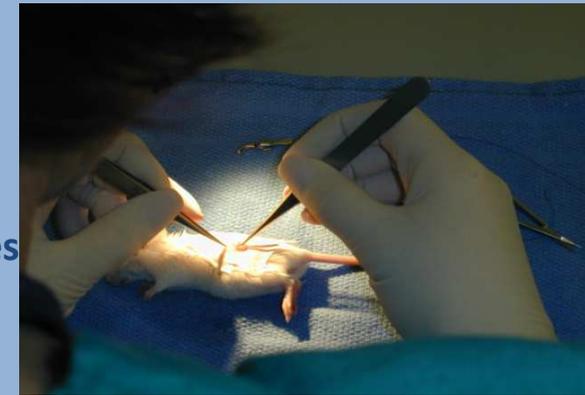
## CONTROLLO DEL DOLORE POST OPERATORIO

**Il controllo del dolore post operatorio** è necessario dopo ogni procedura chirurgica-sperimentale.

Allo scopo di somministrare un appropriato analgesico per il tempo necessario, è importante **verificare il livello del dolore presente.**

Nel periodo post-sperimentale l'animale deve essere osservato molte volte al giorno

Particolare attenzione va posta all'esame delle ferite chirurgiche ed alla prevenzione di possibili automutilazioni.



## CONTROLLO DEL DOLORE

### Utilizzo di farmaci:

#### Agenti oppiacei ad azione Centrale:

- **Morfina e derivati**

#### Sostanze che bloccano impulsi dai nocicettori:

- **analgesici locali**
- **agenti alfa adrenergici\*: xilazina, medetomidina**

#### Agenti che inibiscono la produzione dei mediatori chimici

- **Acido acetilsalicilico, paracetamolo**

-\*farmaci che provocano sedazione, analgesia, rilassamento muscolare, attraverso la stimolazione dei recettori alfa2-adrenergici.





21/05/2020

# EUTANASIA

## EUTANASIA = BUONA MORTE

Uccisione dell'animale nelle condizioni di **minor disagio e minor sofferenza possibile.**

Diverse sono le ragioni che determinano l'eliminazione dell'animale:

termine di un esperimento o di uno studio  
**(soppressione eutanاسica)**

stato di marcata sofferenza dell'animale a seguito di insorgenza di patologia spontanea o indotta sperimentalmente **(eutanasia)**

L'eutanasia di un animale è un momento molto delicato ed importante che esige da parte dell'operatore

il **rispetto della vita dell'animale**

che dovrà essere sacrificato attuando tutti quegli **accorgimenti**

che consentano agli animali di

**non percepire condizioni di stress**

legate alla liberazione di **feromoni e a vocalizzazioni** da parte di animali spaventati.

# EUTANASIA

Per questo motivo solamente il **personale addestrato** può effettuare le **procedure eutanasiche**

su esclusiva **disposizione del medico veterinario** dopo aver valutato le condizioni di salute degli animali interessati.

Le modalità di eutanasia sono varie ma possono essere raggruppate in **due** classi principali:

**Metodi fisici**

**Metodi chimici**

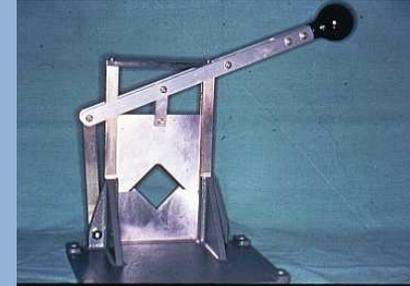
(Metodi farmaco-chimici)



## EUTANASIA – METODI FISICI

I metodi fisici di eutanasia sono tra i metodi che causano meno stress all'animale poiché lo rendono istantaneamente incosciente.

### - DECAPITAZIONE



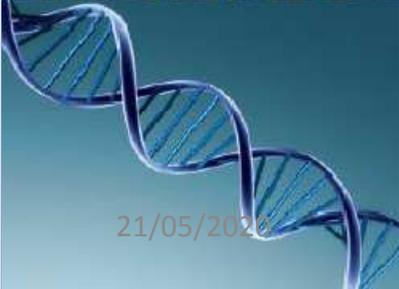
### - DISLOCAZIONE DELLE VERTEBRE CERVICALI:

E' un metodo rapido ed indolore applicabile ai roditori in particolare a topi, ratti giovani.

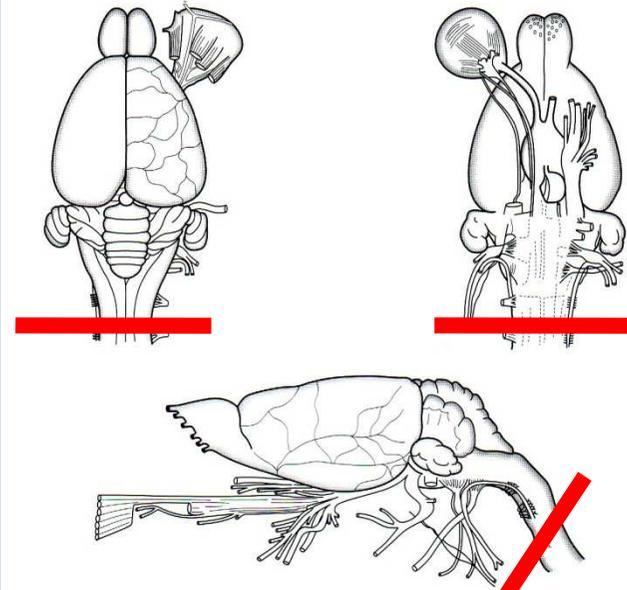
Tale metodo consiste nello **stiramento del collo dell'animale** in modo tale che il **midollo spinale venga spezzato** e la trasmissione degli impulsi nervosi agli organi vitali venga interrotta.

La dislocazione delle vertebre cervicali viene effettuata dopo la **somministrazione di un sovradosaggio di anestetico**.

# DISLOCAZIONE VERTEBRE CERVICALI



Anatomia degli animali da laboratorio



Encefalo e occhio destro di ratto visto dorsalmente, ventralmente e dal lato sinistro

## EUTANASIA - METODI CHIMICI

L'eutanasia a mezzo di metodi chimici consiste in una **estensione dell'anestesia** che porta ad uno stato di **arresto cardiaco irreversibile**.

**Induzione di anossia mediante camera ad anidride carbonica (CO<sub>2</sub>):**

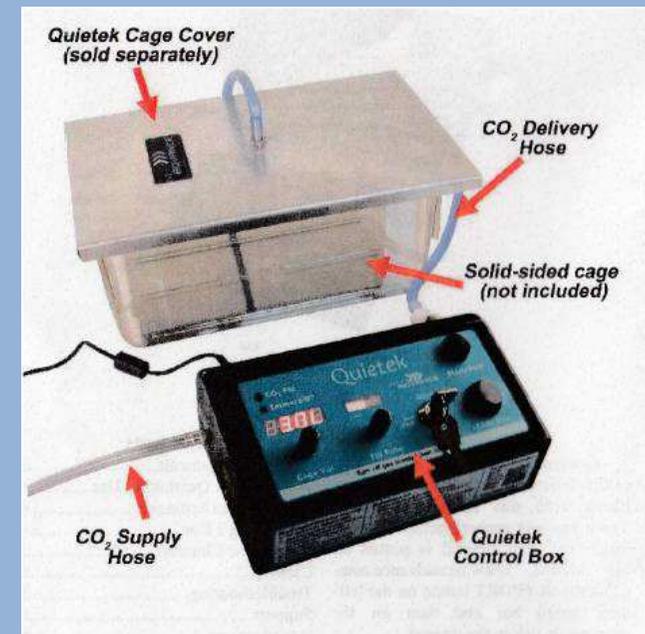
Questo metodo è utilizzato per sopprimere gruppi di animali.

L'anidride carbonica è considerato un agente anestetico che determina

la perdita di conoscenza

prima dell'induzione della paralisi del centro respiratorio

con conseguente arresto cardiaco.



## EUTANASIA - CO2

Per questo motivo l'eutanasia deve essere effettuata **gradualmente insufflando l'anidride carbonica in una apposita camera predisposta**, costituita da una gabbia trasparente per poter controllare lo stato degli animali, e chiusa da un coperchio ermetico attraverso il quale viene introdotto il gas.

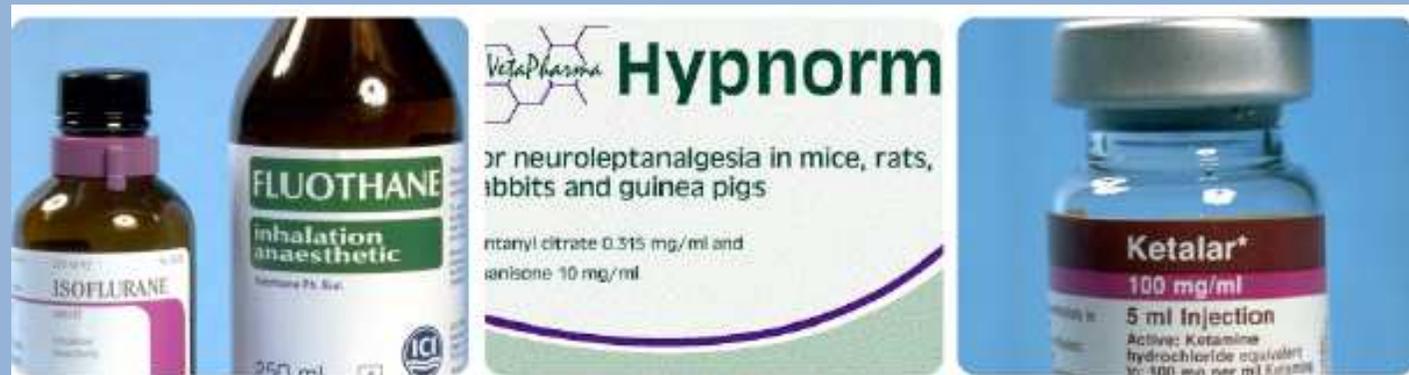
La **saturazione graduale con CO2** dell'atmosfera della camera porta ad una **iniziale perdita di conoscenza** degli animali senza avvertire disagio o dolore ed ad una successiva morte per anossia



## EUTANASIA-METODI FARMACOCHEMICI

L'eutanasia a mezzo di metodi farmacochimici consiste nella **somministrazione di un farmaco o di un composto chimico** in grado di indurre la morte secondo le seguenti modalità:

- a) **Sovradosaggio di agente anestetico**  
(Pentobarbitale-Alotano-Isoflurano)
  
- b) Somministrazione di **farmaci eutanasi** previa **induzione anestesia**



## EUTANASIA – FAMACI EUTANASICI

### TANAX®

Soluzione iniettabile con tre costituenti:

**Embutramide:**

- a potente azione **narcotica** e paralizzante il centro respiratorio,

**Mebenzonio ioduro:**

- **paralizzante**
- la muscolatura striata scheletrica e respiratoria

**Tetracaina:**

anestetico locale.

L'azione **combinata** di questi assicura un'azione rapida, efficace e senza alcun sintomo di eccitazione o di dolore da parte dell'animale trattato.



## EUTANASIA – HUMANE ENDPOINT

Un animale non dovrebbe essere mantenuto in vita al termine di un esperimento qualora si verifici che stia provando dolore o stress.

E' necessario che  
**il metodo di soppressione sia adatto ed ETICO.**

**IL PERSONALE COINVOLTO DEVE ESSERE IDONEAMENTE ADDESTRATO**

perché  
alcune procedure possono essere fonte di  
**STRESS per gli operatori**  
(soprattutto le procedure meccanico-fisiche)



