

Le ultime novità
del NC3R per i guardiani
di animali

Tech3Rs

Benvenuti all'ultima edizione di Tech3Rs

Questa newsletter si rivolge a guardiani di animali e stabularisti che lavorano negli istituti di ricerca per aiutare a identificare le opportunità per mettere in pratica le 3R e garantire elevati standard di benessere animale.

Se avete idee per i prossimi numeri o state lavorando a un approccio alle 3R che vorreste venisse presentato, contattateci: ci piacerebbe sentirvi! Potete scriverci a tech3rs@nc3rs.org.uk.

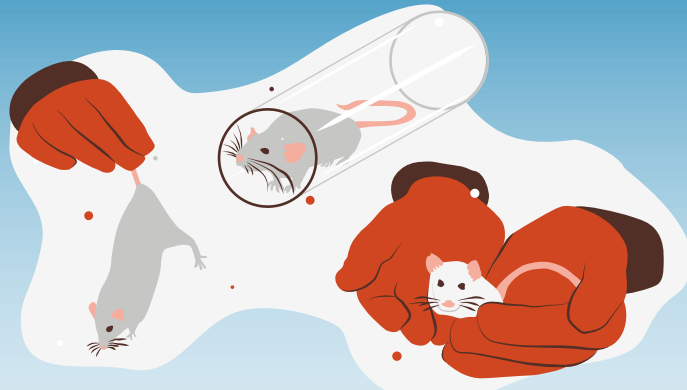
In questo numero presentiamo il nostro nuovo corso di formazione online sulla manipolazione dei topi e illustriamo il lavoro di due testimoni Tech3Rs per la promozione del benessere degli animali attraverso il miglioramento delle procedure sperimentali. Riassumiamo inoltre due articoli di ricerca che descrivono i miglioramenti nelle tecniche per le specie animali di grandi dimensioni.



Non perdetevi il prossimo numero!

Tech3Rs è pubblicato online -
www.nc3rs.org.uk/tech3rs.

Se desiderate ricevere un'e-mail quando verrà pubblicato il prossimo numero di Tech3Rs, inviateci un'e-mail all'indirizzo.



Corso online sulla manipolazione dei topi

Pronto un nuovo corso interattivo sulla manipolazione non aggressiva

Siamo lieti di presentare un corso e-learning sulla manipolazione avanzata dei topi, creato dall'NC3Rs e dalla statunitense 3Rs Collaborative (3RsC), in una collaborazione internazionale che coinvolge partner accademici e privati. Attraverso una serie di lezioni interattive, il corso offre una panoramica completa e accessibile delle evidenze scientifiche, dei benefici e degli aspetti pratici della manipolazione avanzata per i topi, per gli operatori e per la ricerca.

Sia che stiate già utilizzando metodi di manipolazione migliorati, sia che vi stiate preparando al passaggio o che siate interessati a saperne di più su *tunnel handling* e *cup handling*, le risorse di e-learning vi aiuteranno a prendere confidenza nell'impiego di questi metodi avanzati. Il corso offre consigli pratici sull'implementazione della manipolazione migliorata nella vostra struttura, affrontando i problemi di biosicurezza, l'efficienza e il modo in cui questi metodi possono essere utilizzati in combinazione con la contenzione e altre procedure.

Il corso costituisce un'introduzione per chi è alle prime armi e un aggiornamento

per chi ha già esperienza con questi metodi.

Grazie a video dimostrativi e test per la verifica delle conoscenze, il corso rappresenta una formazione efficiente ed efficace. Completando il corso di e-learning prima della formazione pratica sulla manipolazione avanzata, si otterranno solide basi teoriche, in modo da ottenere il massimo dalla sessione pratica.

Il corso è rivolto a tutti coloro che lavorano con i topi di laboratorio, indipendentemente dal livello di esperienza. Non dovrebbe richiedere più di 45 minuti in totale e si può fare una pausa tra i moduli.

Per accedere al corso di e-learning e ad altre risorse: nc3rs.org.uk/3rs-resources/mouse-handling

Per domande sul corso e-learning o sulla manipolazione avanzata: Dr Khia Dobbinson enquires@nc3rs.org.uk o 3RsC Dr Megan LaFollette info@na3rsc.org

Testimoni delle 3R

In questo numero di Tech3Rs presentiamo due perfezionamenti delle procedure che hanno migliorato il benessere degli animali, le prestazioni degli utenti e il tasso di successo delle procedure.

Chris Moore è ricercatore di laboratorio senior presso il Francis Crick Institute. Ci ha parlato di come migliorare la sicurezza del dosaggio intratracheale nei topi.

Quale idea delle 3R avete attuato?

Il nostro gruppo di ricerca studia modelli murini di cancro ai polmoni, il che richiede la somministrazione accurata e costante di adenovirus o retrovirus direttamente nei polmoni dei topi, attraverso la trachea. Per evitare la crescita di tumori in luoghi non voluti al di fuori dei polmoni, come la gola o il naso, è essenziale che queste sostanze entrino in contatto solo con il tessuto polmonare. Per ottenere questo risultato, abbiamo inizialmente utilizzato il metodo di intubazione intratracheale descritto nell'articolo di DuPage et al. del 2009 sui modelli murini di cancro al polmone. Questo metodo prevede l'uso di un ago per catetere endovenoso per inserire una cannula di plastica flessibile nella trachea di topi anestetizzati. L'ago conferisce rigidità alla cannula, consentendole di essere guidata lungo la stretta trachea del topo. L'ago viene poi rimosso lasciando la cannula in posizione, pronta per la somministrazione di sostanze direttamente nei polmoni. Ho perfezionato questo approccio aggiungendo un piccolo "collare" stampato in 3D all'ago di intubazione, riducendo notevolmente il rischio di lesioni ai topi e migliorando le competenze dell'utente.

Come ha sviluppato questo approccio?

Quando mi è stato chiesto di formare i nuovi utenti sulla tecnica di intubazione intratracheale, ho scoperto che avevano ripetutamente difficoltà a tenere correttamente l'ago di intubazione, con conseguenti lesioni alla trachea dei topi. Quando ciò accadeva, i topi dovevano essere sottoposti a eutanasia mentre erano ancora sotto anestesia. La perdita di animali non viene mai presa alla leggera e il personale spesso è preoccupato quando si verificano questi

incidenti. Il motivo per cui si verificano queste lesioni è che l'ago del catetere endovenoso è più lungo della cannula di plastica (vedi immagine B, iv), il che significa che la persona che esegue la procedura deve tenere l'ago in modo che la sua estremità tagliente non superi la cannula di plastica e ferisca la trachea. Tenere l'ago e la cannula in modo da ridurre al minimo il rischio di lesioni era difficile e richiedeva molta pratica.

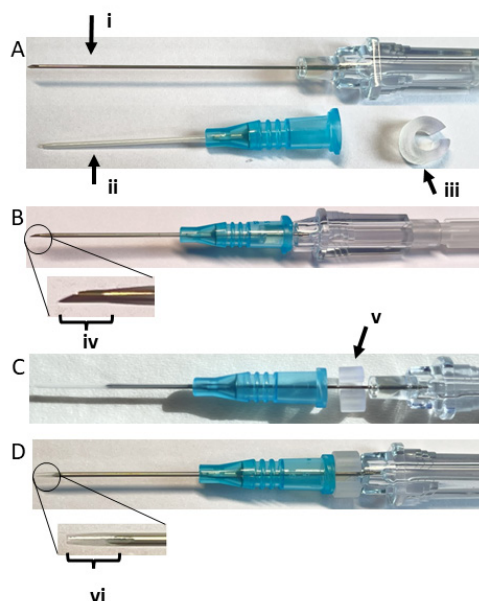
Ho pensato a come aggirare questi problemi riducendo il rischio per i topi e minimizzando gli aspetti tecnicamente più impegnativi della procedura. Ho quindi ideato un prototipo di "collare" e l'ho portato al nostro dipartimento di ingegneria meccanica che è stato in grado di stamparlo in 3D. Il nuovo collare di intubazione è un piccolo anello di plastica (immagine A, iii) che si infila e si toglie facilmente dall'ago senza che l'operatore debba avvicinare le dita all'estremità tagliente. È anche un accessorio riutilizzabile, quindi molto conveniente, a patto che ci si ricordi di rimuoverlo prima di buttare via l'ago! Questo dispositivo impedisce che la parte tagliente dell'ago rimanga scoperta (immagine D, vi), riducendo il rischio di danni ai topi e mantenendo

la rigidità necessaria per posizionare con precisione la cannula. Il collare di intubazione consente inoltre di tenere l'ago in una posizione più comoda e naturale, in modo che l'operatore possa concentrarsi completamente sul topo.

Qual è stato il risultato di questo progetto?

Ho ridotto il tempo necessario per la formazione qualificata da tre-cinque giorni a sole due ore. I tirocinanti sono molto più sicuri ora che il rischio di ferire i topi è notevolmente ridotto. In precedenza, durante la formazione i casi di eutanasia in seguito a lesioni tracheali potevano raggiungere il 10%. Aggiungendo un collare all'ago, questi casi sono scesi a zero.

Ho formato circa 25 persone nell'impiego di questo approccio, tra cui persone provenienti da altre strutture del Regno Unito e dall'estero. Nessuno ha segnalato difficoltà nell'utilizzare la tecnica nel proprio laboratorio, segno che l'abilità si sta trasferendo bene. Sono sempre felice di condividere la nostra procedura standard, lo schema di stampa 3D e qualsiasi altra esperienza con chiunque possa trovarla utile.



Ago e collare per intubazione

(A) Elementi di un ago per intubazione: (i) ago metallico; (ii) cannula flessibile in plastica morbida; (iii) collare per intubazione.

(B) Quando la cannula viene inserita sull'ago, la parte tagliente si trova oltre il tubo della cannula (iv). Questo comporta una lesione quando viene inserito nella trachea.

(C) Inserimento del collare all'ago, facendolo passare attraverso il lato dell'ago (v).

(D) Con il collare inserito, la parte tagliente dell'ago non è più esposta e l'ago dà maggiore rigidità alla cannula (vi).

Sheena Wallington è guardiana degli animali senior ed ex manager non clinico di Evox Therapeutics. Ci ha parlato di come migliorare il prelievo di sangue dalla vena safena nei topi.

Quale idea delle 3R avete attuato?

Alcuni anni fa, al Congresso IAT, ho visto un poster sui benefici del prelievo di sangue dalla vena safena, con meno danni ai tessuti e meno cicatrici. Ho quindi pensato di adottare questa tecnica e di passare dal prelievo dalla vena caudale a quello dalla vena safena. La vena safena è più superficiale e più accessibile, quindi in teoria è un metodo di prelievo più rapido e affidabile. La maggior parte dei campioni può essere ottenuta con una sola puntura d'ago, a differenza della vena caudale, dove l'apporto diminuisce rapidamente quando il sangue si coagula e quindi sono spesso necessarie più punture per ottenere un volume sufficiente di sangue.

Quando ho iniziato a usare questa tecnica, mi sono resa conto che può essere difficile vedere la vena safena, soprattutto perché la pelle del topo spesso mostra livelli diversi di pigmentazione in quell'area. Un altro potenziale ostacolo a un prelievo facile e veloce è che la vena safena, a differenza di quella caudale, segue percorsi leggermente diversi in ogni animale ed è quindi necessario essere in grado di vedere bene le vene. A causa di queste caratteristiche biologiche, l'individuazione della vena safena può richiedere tempo. Tuttavia, poiché il prelievo dalla safena richiede una

costrizione che i topi possono trovare stressante, è importante ridurre il più possibile la durata della procedura.

Ho affrontato queste sfide utilizzando una piccola luce LED per aiutare a visualizzare la vena safena, rendendo molto più facile inserire l'ago nel punto giusto.

Come ha sviluppato questo approccio?

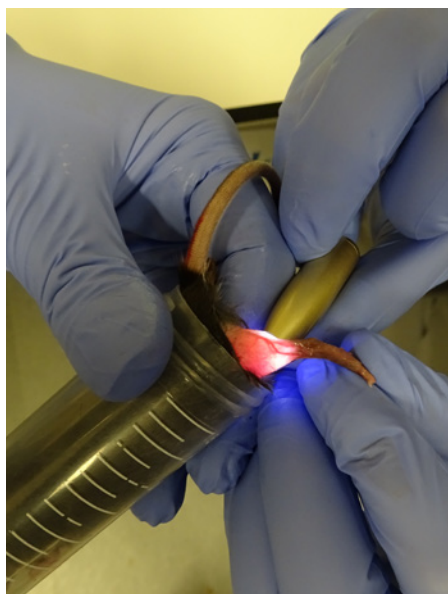
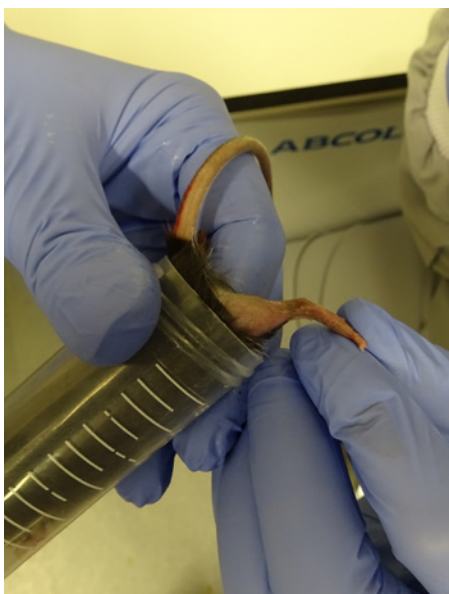
L'ispirazione è nata da un felice evento domestico che mi ha acceso "lampadina". Mentre giocherellavo con una lampadina LED, ho notato che la luce era abbastanza forte da attraversare la mia mano, permettendomi di vedere le vene del mio dito. Questo mi ha dato l'idea di utilizzare una luce LED per migliorare la visualizzazione della vena safena nei nostri topi. A tal fine, il topo viene prelevato con un metodo avanzato [1] e immobilizzato con un tubo di contenimento. L'arto posteriore viene immobilizzato in posizione estesa e la luce viene tenuta contro la parte inferiore della zampa dell'animale, consentendo di individuare la vena in modo rapido e semplice. Una volta individuata la vena, si può procedere al prelievo del campione di sangue. Se si utilizza una pinza per tenere la luce in posizione, occorre fare attenzione ad accendere la luce solo quando la zampa del topo è posizionata sopra il LED, per evitare che la luce venga proiettata direttamente negli occhi. In alternativa, una seconda persona può tenere la lampadina in posizione e puntarla nella giusta direzione, in modo che la luce non colpisca negli occhi della persona che preleva il campione di sangue.

Qual è stato il risultato di questo progetto?

Il mio metodo non solo mi ha permesso di eseguire in modo affidabile e costante il prelievo dalla safena nei topi, ma ha anche aumentato la velocità con cui è possibile raccogliere il sangue, riducendo così lo stress dovuto alla costrizione dell'animale. La possibilità di localizzare la safena in modo affidabile significa che il prelievo richiede un'unica puntura di ago, riducendo così al minimo le sofferenze inutili dovute a più punture. Ho riscontrato che il tasso di successo, misurato in base al numero di campioni che hanno raggiunto il volume desiderato con un solo ago, è più che raddoppiato semplicemente utilizzando una luce LED. La formazione necessaria per apprendere questo approccio è molto breve, a volte basta una sola seduta. Tuttavia, mi assicurerei che le persone facciano diverse sessioni di supervisione, prima di essere autorizzate, per garantire la piena padronanza della tecnica. Una volta che si è familiarizzato con la pratica, il prelievo della safena non fallisce quasi mai. Anche la qualità del campione è notevolmente migliorata: il sangue raccolto dalla safena è raramente emolizzato e i campioni di plasma sono puliti e coerenti. Questi miglioramenti significano che il numero di topi necessari per raccogliere campioni di sangue sufficienti e di buona qualità può essere ridotto al minimo.

Questa procedura è stata approvata dal personale addetto alla supervisione della formazione della struttura e sono stato invitata a formare colleghi di altre strutture che hanno trovato il mio metodo davvero utile per migliorare la qualità dei campioni di sangue e ridurre il tempo necessario per il prelievo, migliorando al contempo il benessere degli animali.

1. Per maggiori dettagli sui metodi di manipolazione avanzata utilizzati da Sheena: nc3rs.org.uk/3rs-resources/mouse-handling.



A sinistra: la zampa del topo senza illuminazione.

A destra: grazie a una luce LED nella parte inferiore della zampa del topo, la vena safena (indicata con *) è chiaramente visibile.

Documenti di interesse delle 3R

In ogni edizione presentiamo recenti documenti sulle 3R, fornendo sintesi e link agli articoli completi per ulteriori letture. In questo numero ci concentriamo sui perfezionamenti per le specie animali di grandi dimensioni.



Un metodo per la raccolta di campioni di qualità per l'analisi delle urine nei suini e la coltura microbiologica in laboratorio

- L'urina raccolta per l'analisi deve essere pulita e priva di contaminazioni. I metodi standard di raccolta dei campioni nei suini includono cateteri vescicali o l'aspirazione della vescica sovrapubica, due procedure invasive che richiedono l'anestesia generale.
- In questo studio, gli autori hanno voluto validare un nuovo metodo di raccolta non invasiva dell'urina nei suini.
- Lo studio ha raccolto l'urina di 41 suini femmina (Landrace/Yorkshire, incrocio di razze), alloggiati in gruppi di al massimo dieci individui. L'urina a mitto intermedio è stata raccolta in modo non invasivo utilizzando uno strumento di raccolta a manico lungo (simile a quello utilizzato per la raccolta della lettiera) con una tazza sterile da 100 ml attaccata all'estremità.
- Per evitare lunghe attese per l'urinazione spontanea, gli autori hanno anche sviluppato un protocollo per incoraggiare l'urinazione.
- Questo protocollo si basa sull'osservazione che quando i suini venivano fatti rientrare nello stabulario dopo la pulizia o dopo essere stati temporaneamente spostati in un'altra zona della struttura per l'addestramento o la socializzazione, spesso si recavano immediatamente negli appositi angoli di deiezione per urinare.
- Mentre si trovavano nell'angolo di deiezione e prima di iniziare a urinare, i suini manifestavano il loro comportamento di radicamento, avvertendo gli astanti che stavano per urinare. Questa osservazione ha ulteriormente facilitato la raccolta pulita dell'urina.
- Rispetto all'urina raccolta con i metodi standard, gli autori hanno riscontrato una contaminazione minima dalle superfici cutanee e vaginali. Questo perfezionamento migliora il benessere degli animali,

Valutazione della gravità postoperatoria negli ovini

- Gli ovini sono comunemente utilizzati in studi ortopedici che spesso comportano interventi chirurgici, come l'ablazione dei tendini, dolorosi per gli animali. Un'efficace gestione del dolore è fondamentale per il benessere degli animali e la qualità dei dati. Tuttavia, i metodi di valutazione della gravità del dolore nei modelli animali di grandi dimensioni sono spesso limitati.
- Gli autori di questo studio hanno utilizzato un approccio combinato di telemetria e Sheep Grimace Scale (SGS) per valutare la gravità del dolore in quattro pecore German black-headed mutton dopo due interventi chirurgici, l'impianto di un trasmettitore telemetrico e l'ablazione del tendine.
- Dopo l'ablazione dei tendini, gli autori hanno monitorato l'attività e la frequenza cardiaca utilizzando dispositivi telemetrici, oltre all'analisi della SGS dalle registrazioni video e al classico punteggio clinico. Il punteggio clinico comprendeva la vocalizzazione, l'assunzione di cibo e l'aspetto generale.
- I dati SGS e telemetrici possono essere utilizzati efficacemente come indicatori del dolore, a differenza del punteggio clinico. Questi metodi possono essere un utile perfezionamento per il rilevamento del dolore nei grandi animali.

Stærk K et al. (2023). Clean-catching urine from pigs: A method for collecting quality specimens for urinalysis and microbiological culturing in a laboratory environment. *Laboratory Animals* 57(3),293-303. doi: [10.1177/00236772221133433](https://doi.org/10.1177/00236772221133433)



Zentrich E et al. (2023). Postoperative Severity Assessment in Sheep. *European Surgical Research* 64(1), 27-36. doi: [10.1159/000526058](https://doi.org/10.1159/000526058)

Aggiornamenti dal NC3Rs e oltre

Sostituzione degli animali sentinella con il monitoraggio ambientale della salute

Abbiamo creato una nuova pagina sull'utilizzo di metodi di campionamento ambientale per ridurre il numero di animali utilizzati per la sorveglianza sanitaria delle colonie.

Il monitoraggio delle colonie di roditori per la ricerca di agenti patogeni e parassiti è importante per il benessere degli animali e per lo svolgimento di attività scientifiche di alta qualità. Tradizionalmente, gli animali sentinella vengono mantenuti all'interno della colonia e abbattuti a scopo di sorveglianza sanitaria. Ciò può comportare l'acquisto di animali appositamente per questo scopo, ma una sorveglianza sanitaria della colonia accurata ed efficace dal punto di vista dei costi è possibile anche senza sentinelle.

Grazie ai progressi tecnologici, l'analisi molecolare di campioni ambientali (ad esempio detriti di polvere e lettiera sporche) può sostituire l'uso di animali sentinella. Abbiamo parlato con Chago Bowers (tecnico animale alla University of Chicago) e la dottoressa Lynlee Stevey-Rindenow (veterinaria alla University of Southern California) su come hanno ridotto in modo sostanziale il numero di topi e ratti abbattuti nelle loro strutture a scopo di monitoraggio sanitario. Chago e Lynlee hanno anche condiviso le loro prospettive sui tempi, i costi e i benefici emotivi della sostituzione degli animali sentinella.

Visita il sito nc3rs.org.uk/our-portfolio/replacing-sentinel-animals-environmental-health-monitoring per leggere una precedente intervista a Chago e ascoltare una nuova intervista a Lynlee.

Per ulteriori informazioni sul monitoraggio ambientale della salute, visita questa pagina del 3Rs Collaborative: na3rsc.org/health-monitoring

Avete sostituito gli animali sentinella con il monitoraggio ambientale della salute? Se sì, scriveteci: tech3Rs@nc3rs.org.uk

Perfezionamento dell'immobilizzazione della testa e del controllo dei fluidi nei roditori

Abbiamo formato un gruppo di esperti per identificare miglioramenti nell'immobilizzazione della testa e nel controllo dei fluidi nei topi nella ricerca neuroscientifica. Le procedure correnti e le raccomandazioni per migliorare il benessere degli animali e la qualità dei dati, basate su un sondaggio, una revisione della letteratura e sull'esperienza del gruppo di lavoro, sono state pubblicate nel 2022 (Barkus et al. 2022).

Abbiamo creato una scheda riassuntiva, specificamente per i tecnici di laboratorio, contenente le principali raccomandazioni tratte da questa pubblicazione. La scheda riassuntiva contiene anche link alle sezioni rilevanti dell'articolo e ad altre risorse utili.

Per scaricare la scheda riassuntiva e ulteriori informazioni sul progetto: nc3rs.org.uk/3rs-resources/refining-use-head-fixation-and-fluid-control-rodents

Sei un responsabile dell'informazione con sede nel Regno Unito? Vorremmo contattarti!

In collaborazione con il LASA's Home Office Liaison, Training and Information Forum, stiamo conducendo un sondaggio sul ruolo del Named Information Officer (NIO).

Lo scopo del sondaggio è quello di ottenere un quadro nazionale su come il ruolo di NIO viene svolto nella pratica, capire meglio come viene supportato e identificare opportunità per fornire ulteriore supporto a chi ricopre questo importante ruolo.

Se attualmente sei un NIO e lavori in un istituto di ricerca del Regno Unito, ti chiediamo di dedicare qualche minuto per condividere le tue opinioni.

Link al sondaggio: nc3rs.org.uk/our-portfolio/supporting-named-information-officer-role

Tradurre Tech3Rs

A partire dal numero 15 sono disponibili le traduzioni della newsletter Tech3Rs in francese, italiano e tedesco. Siamo grati al Centro svizzero di competenza 3R (3RCC), alla Charité 3R, e Centre français pour les 3R (FC3R) per il loro lavoro di produzione di queste traduzioni, che ci permettono di aumentare la portata delle risorse per i tecnici animali in tutta Europa. I link alle versioni tradotte sono disponibili sul sito web dell'NC3Rs.

3 R Centre de
C C compétence
suisse 3R



Festeggiamo il 20° anniversario

Siamo lieti di celebrare il nostro 20° anniversario nel 2024. Ulteriori dettagli su come celebriamo questa ricorrenza saranno pubblicati a breve sul nostro sito, ma ci piacerebbe che tecnici e guardiani di animali fossero coinvolti nelle nostre attività.

Nell'edizione dell'anniversario di Tech3Rs

Quali sono le vostre storie di successo negli ultimi 20 anni? Hai guidato o preso parte a un progetto 3R che ha migliorato il benessere degli animali?

Hai modificato le procedure o attuato un perfezionamento dopo aver letto Tech3Rs?

Scrivici: tech3rs@nc3rs.org.uk

Candidati per un premio per l'impegno pubblico

Se il tuo lavoro fa avanzare le 3R, indipendentemente dal tuo ruolo puoi richiedere £ 2.000 per sostenere l'attività di sensibilizzazione nel 2024.

Le idee includono attività online (ad esempio video e webinar), workshop o visite ad altre strutture per condividere le tue idee 3R.

Prossima scadenza, 22 gennaio 2024: nc3rs.org.uk/our-funding-schemes/public-engagement-awards-20-year-anniversary

Call per immagini sulle 3R

Hai qualche immagine del tuo lavoro che sei disposto a condividere con noi per aiutarci a dare vita al nostro lavoro?

Disponiamo anche di un piccolo budget per commissionare immagini per approcci 3R particolarmente rilevanti o interessanti.

Scrivici per condividere le immagini o incaricare un fotografo: media@nc3rs.org.uk

Altre notizie

Impieghi il tamoxifene ai tuoi topi? Abbiamo bisogno del tuo contributo!

Gli attuali metodi di somministrazione del tamoxifene includono la sonda gastrica o l'iniezione peritoneale, che sono invasive, o l'utilizzo di diete a base di tamoxifene, che possono causare avversione al cibo a causa del sapore amaro del tamoxifene.

Fluid Pharma Ltd ha sviluppato una formulazione insapore di tamoxifene per migliorare la somministrazione ai roditori con il supporto del fondo NC3Rs CRACK IT Challenge. Prima della distribuzione del prodotto, Fluid Pharma Ltd. sta effettuando alcune ricerche per saperne di più sulle dimensioni e sulle esigenze del mercato.

Se usi il tamoxifene e sei disposto ad aiutare, compila il questionario: bit.ly/3N5CjEN

Puoi trovare ulteriori informazioni su questo prodotto sul sito NC3Rs: nc3rs.org.uk/crackit/tat-fit?tab=products

Ti prendi cura delle rane da laboratorio o stai allestendo una struttura per Xenopus?

Ovunque tu sia nel mondo, puoi unirti a una comunità di tecnici animali e scienziati di Xenopus che condividono domande e consigli sulla salute, la gestione e l'allevamento delle rane.

Scrivi a tech3rs@nc3rs.org.uk per entrare in contatto con gli organizzatori e ricevere la newsletter *Xenopus*.

Il team NC3Rs desidera augurarvi un periodo festivo riposante. Si prega di notare che il nostro ufficio resterà chiuso dal giovedì 21 dicembre e riaprirà martedì 2 gennaio 2024.