Verifiche sperimentali su sistemi alternativi alla castrazione senza anestesia e analgesia nell'allevamento suino per il miglioramento del benessere animale

Valutazione dell'immunocastrazione. Prove in campo

Opuscolo n. 1 – Settembre 2021

Federica Pilia, Mattias Azzolari, Emanuela Dalla Costa, Joel Fernando Soares, Sara Barbieri, Silvia Mazzola, Alessandro Pecile, Mario Caniatti, Elisabetta Canali, Michela Minero - Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Medicina Veterinaria.
Ambra Motta, Marzia Borciani, Alessandro Gastaldo - Fondazione CRPA Studi Ricerche, Reggio Emilia

GLI OBIETTIVI DEL PROGETTO PORCASTRO

Il progetto PorCastro nasce dalla sempre più evidente esigenza del consumatore di essere informato, non solo sulle qualità fisiche degli alimenti che gli vengono proposti, ma anche sulle qualità "etiche", tra cui il benessere animale. La castrazione dei suini, consentita per legge anche in assenza di protocolli di anestesia e/o analgesia purché effettuata entro 7 giorni di vita, è un problema di particolare rilievo per il benessere animale, tanto che l'opinione pubblica sta facendo sempre più pressione sugli allevatori e sul legislatore per abolire questa pratica.

Il progetto PorCastro ha come obiettivo primario di verificare, nell'allevamento del suino pesante, l'applicabilità delle tecniche alternative alla castrazione chirurgica senza anestesia e/o analgesia, nell'ottica di contribuire a migliorare il benessere dei suini allevati.

Il progetto PorCastro è stato articolato in 4 fasi:

- **Fase 1**: valutazione degli effetti dell'immunocastrazione sul comportamento, sullo sviluppo testicolare e sessuale e sui parametri produttivi di suini da ingrasso macellati a circa 9 mesi di età;
- **Fase 2**: valutazione dell'efficacia e dell'applicabilità di differenti protocolli analgesici in suinetti sottoposti a castrazione chirurgica, utilizzando approcci farmacologici e non;
- **Fase 3**: valutazione dell'applicabilità in allevamento di un dispositivo portatile per l'anestesia gassosa in suinetti sottoposti a castrazione chirurgica;
- **Fase 4**: analisi e valutazione trasversale degli aspetti economici per l'allevatore attraverso il calcolo dei costi d'investimento e di gestione delle tecniche applicate.

Attività della Fase 1

Le prove sono state effettuate presso allevamenti del partner Allevamenti di Nerviano s.r.l. con sede a Nerviano. Nella Fase 1 sono stati coinvolti i gruppi di ricerca del Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano e della Fondazione CRPA Studi Ricerche di Reggio Emilia.

Lo studio è stato condotto su 200 suini maschi ibridi commerciali, divisi in 2 gruppi, 100 immunocastrati e 100 castrati chirurgicamente a 3-5 giorni di età. Tutti gli animali sono stati stabulati su paglia fino alle 12 settimane di vita e successivamente in box con pavimento fessurato. Durante il monitoraggio degli animali, eseguito da 4 mesi di vita fino al momento della macellazione, sono stati raccolti i dati relativi al comportamento e sono stati eseguiti dei campioni salivari ad intervalli regolari, per la valutazione dei livelli di testosterone. Infine, al macello, sono stati raccolti campioni ematologici per la valutazione dei livelli di testosterone e campioni testicolari, citologici e istologici, dei soggetti immunocastrati, per valutare la presenza di spermatozoi.

IMMUNOCASTRAZIONE
Possibile alternativa alla castrazione chirurgica per il benessere animale

La castrazione chirurgica dei suini maschi è utilizzata per aumentare l'accrescimento, ridurre i comportamenti aggressivi ed evitare l'"odore di verro", odore e sapore sgradevole che molte persone percepiscono nelle carni di suini maschi. Tuttavia, questa operazione, effettuata senza l'utilizzo di anestetici e/o antidolorifici, causa dolore e stress, anche a lungo termine, nei soggetti che la subiscono. Per questo motivo, nel 2010 è stato sottoscritto, da parte di diversi stakeholder, un documento denominato "Dichiarazione Europea sulle alternative alla castrazione chirurgica nel suino", in cui veniva esplicitato l'impegno di cercare alternative alla castrazione chirurgica, con l'obiettivo di abolire questa pratica all'interno dell'Unione Europea. Tra le soluzioni proposte, le principali sono l'allevamento di maschi interi e l'immunocastrazione.

Al raggiungimento della maturità sessuale, che nel suino avviene intorno a 3-4 mesi di età, la produzione di ormoni sessuali, e il loro

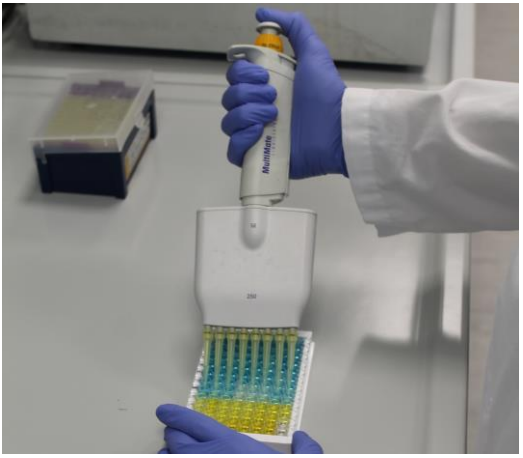
conseguente effetto sul metabolismo, causa l'incremento della sintesi delle sostanze responsabili dell'odore di verro, tra cui le principali sono l'androstenone, prodotto dalle cellule di Leydig nei testicoli, e lo scatolo, prodotto da batteri intestinali. Nel contesto produttivo italiano, specializzato nella produzione di prodotti trasformati, è necessario allevare animali molto più pesanti rispetto alla media europea, che sono macellati intorno ai 9 mesi di età, dunque ben oltre la pubertà. Eliminare la castrazione e allevare maschi interi non è quindi un'opzione perseguibile nell'allevamento del suino pesante, poiché ciò contribuirebbe inevitabilmente all'accumulo, nel tessuto adiposo e nelle carni, di androstenone e scatolo, che comprometterebbero le caratteristiche organolettiche del prodotto.

Un'alternativa alla castrazione chirurgica è l'immunocastrazione, che prevede la somministrazione, tramite iniezioni sottocutanee, di un farmaco che elimina la produzione, da parte del testicolo, degli ormoni sessuali, tra cui il testosterone e l'androstenone. L'immunocastrazione permette di non ricorrere all'asportazione dei testicoli, riducendo così il dolore e lo stress legato alla procedura chirurgica. Questo trattamento, effettuato attraverso ripetute somministrazioni a partire dalle 8 settimane di età, produce gli stessi risultati della castrazione chirurgica in termini di comportamento e soprattutto di controllo dell'accumulo di sostanze legate all'odore di verro nelle carni. Nel maschio non castrato, il sistema che regola lo sviluppo sessuale produce l'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH), che influenza l'insorgenza della pubertà, la maturazione dei testicoli, la produzione di testosterone e la spermatogenesi. L'immunocastrazione agisce inducendo una risposta immunitaria contro il GnRH, con conseguente inibizione della produzione degli ormoni sessuali da parte del testicolo. In questo modo riduce significativamente l'accumulo, nel tessuto adiposo e nelle carni, delle sostanze associate all'odore di verro, come l'androstenone e lo scatolo.

Effetto dell'immunocastrazione sui livelli di testosterone salivare

Per verificare l'efficacia dell'immunocastrazione sul suino pesante sono stati prelevati dei campioni di saliva. Un test Elisa competitivo ha permesso di titolare il livello di testosterone per ogni campione prelevato ed è stata poi calcolata la media per i due gruppi. I prelievi effettuati ad intervalli regolari tra i 4 e i 9 mesi di età hanno permesso di tracciare l'andamento nel tempo di questo ormone e confrontare il gruppo di suini immunocastrati con quelli sottoposti a castrazione chirurgica (Grafico 1). A T0 (4 mesi) i due gruppi di animali (castrati ed immunocastrati) presentano livelli di testosterone salivare simile. In corrispondenza della pubertà il testosterone salivare nel gruppo degli immunocastrati aumenta, mentre nel gruppo dei castrati resta stabile (T1 e T2). A seguito degli interventi di immunocastrazione è evidente come la quantità di testosterone si riduca, per poi tornare ad aumentare nel momento in cui finisce l'effetto del trattamento, che ha una durata di 4-6 settimane secondo quanto riportato dalla casa farmaceutica che commercializza il prodotto. È da notare la variabilità tra i soggetti del gruppo degli immunocastrati (rappresentata dalle linee nere nel grafico); questo significa che la risposta individuale al trattamento varia tra i soggetti, che quindi mostrano livelli di testosterone molto diversi tra loro. Dalla rilevazione T7 in poi, invece, i valori di testosterone degli immunocastrati

crollano drasticamente, risultando sovrapponibili con quelli ottenuti dal gruppo dei soggetti castrati chirurgicamente. Il gruppo castrati, come prevedibile, mantiene per tutta la durata dello studio, livelli di testosterone stabili, inferiori a 1000 pg/mL e con poca variazione tra i soggetti. Nel gruppo degli immunocastrati, risulta evidente una diminuzione dei livelli di testosterone immediatamente successiva alla somministrazione del vaccino anti-GnRH, confermandone l'efficacia. Tuttavia, essa ha una durata limitata nel tempo, come mostrato nell'intervallo T2-T6, dove è evidente un'iniziale discesa dei livelli di testosterone, confrontabili con quelli relativi ai soggetti castrati chirurgicamente (T4), seguita da una progressiva risalita dopo 6-8 settimane dal trattamento, che ha reso necessario un ulteriore intervento vaccinale (T6). Ciò è in accordo con quanto dichiarato dal produttore del farmaco, che garantisce l'efficacia del trattamento per 4-6 settimane dopo la seconda somministrazione.



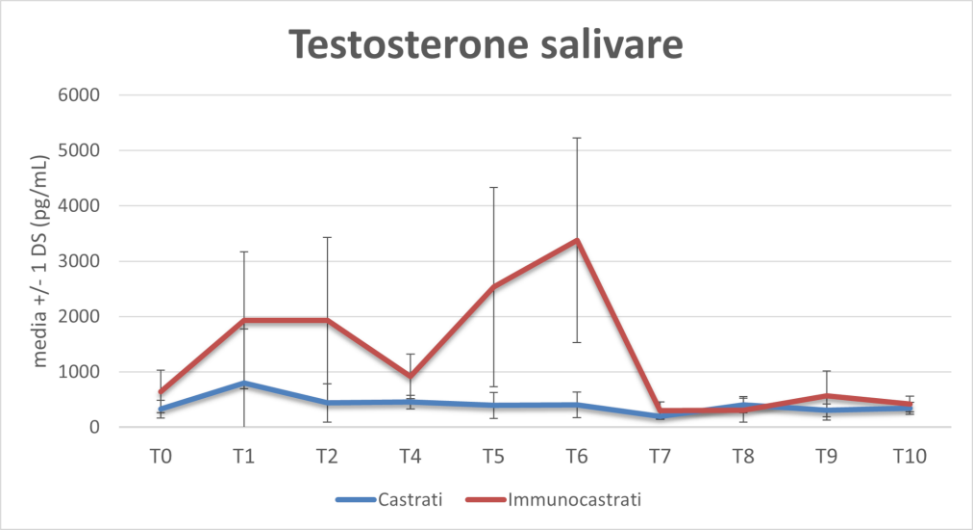


***Grafico 1** - Quantità media, espressa in pg/mL, di testosterone salivare nel gruppo dei castrati (in blu) e nel gruppo degli immunocastrati (in rosso) tra i 4 e i 9 mesi di età*

Effetto dell'immunocastrazione sul comportamento

Il comportamento degli animali, in particolare il livello di attività, è stato monitorato tramite riprese video ad intervalli regolari, per valutare eventuali differenze tra i gruppi e quale sia la relazione con il livello di testosterone salivare misurato. Con "attività" si è considerato l'insieme dei comportamenti esplorativi, le interazioni agonistiche e il comportamento sessuale; in particolare è stata calcolata la percentuale di animali del gruppo che manifestava questi comportamenti in momenti campionati (ogni 30 secondi). I risultati sono riportati nel Grafico 2: il gruppo di animali immunocastrati risulta essere più attivo rispetto al gruppo dei castrati, con un aumento del numero di animali attivi corrispondente al momento della pubertà (T1), a cui segue una riduzione progressiva successiva al trattamento vaccinale, coincidente con il primo picco di testosterone descritto nel Grafico 1. È interessante sottolineare come all'inizio dello studio (T0 e T1) l'attività di entrambi i gruppi sia più elevata rispetto alle successive rilevazioni, con addirittura una maggiore attività del gruppo dei castrati rispetto agli immunocastrati al momento T0.

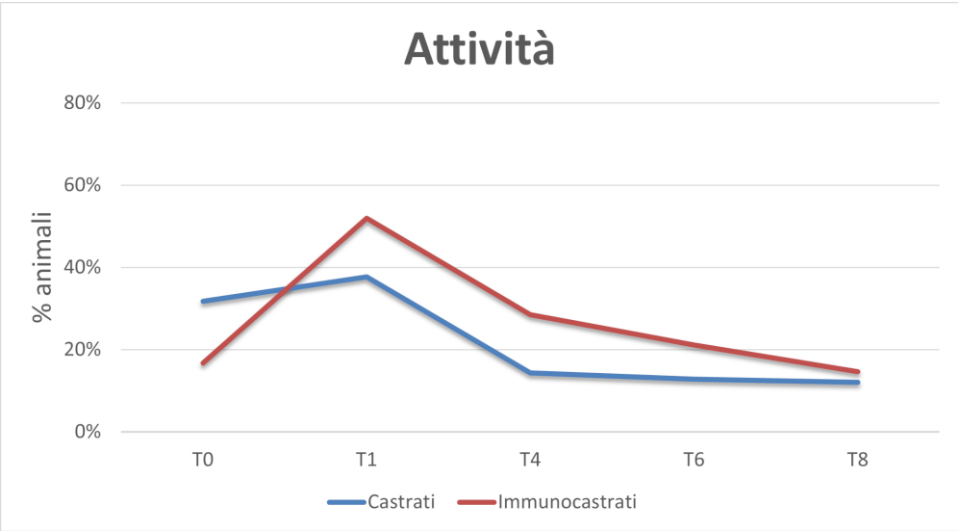


Grafico 2 *- Percentuale di animali attivi (comportamenti esplorativi, interazioni agonistiche e comportamento sessuale) nei diversi rilievi per il gruppo dei castrati (in blu) e per il gruppo degli immunocastrati (in rosso)*

Indipendentemente dalla pubertà e dunque dall'aumento dei livelli di testosterone degli immunocastrati, ciò potrebbe essere dovuto alla necessità di instaurare un ordine gerarchico all'interno del gruppo nei giorni successivi alla formazione dei gruppi, il che giustificherebbe la rilevazione di un'attività superiore (comportamento agonistico) del gruppo dei castrati rispetto agli immunocastrati all'inizio delle prove. I risultati relativi alla frequenza del comportamento sessuale (monte e tentativi di monta) sono riportati nel Grafico 3. Questo comportamento non viene mai manifestato dagli animali castrati chirurgicamente, mentre per il gruppo degli immunocastrati si nota un aumento della frequenza in corrispondenza della rilevazione T6, corrispondente al secondo picco di testosterone descritto nel Grafico 1, che ha reso necessaria un'ulteriore somministrazione del farmaco anti-GnRH.

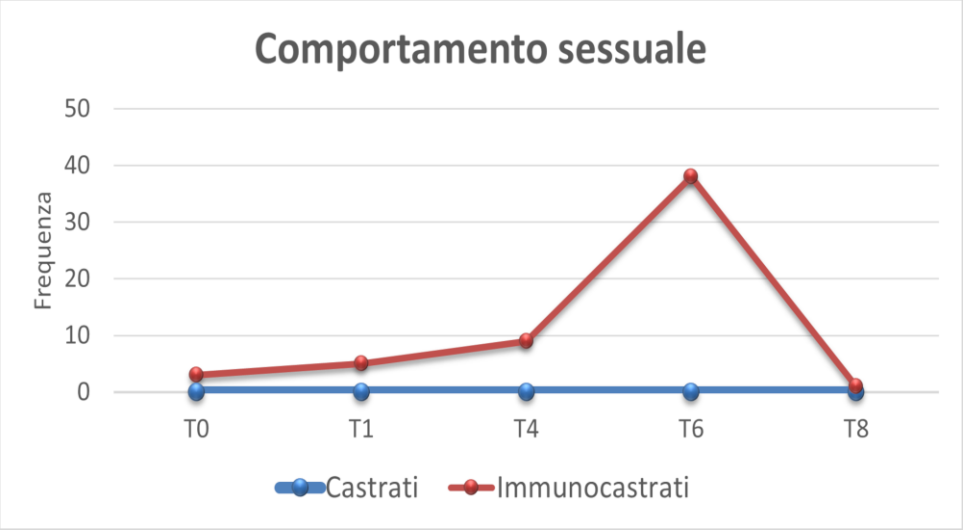


Grafico 3 *- Frequenza dei comportamenti sessuali (monta) nel gruppo dei castrati (in blu) nel gruppo degli immunocastrati (in rosso)*

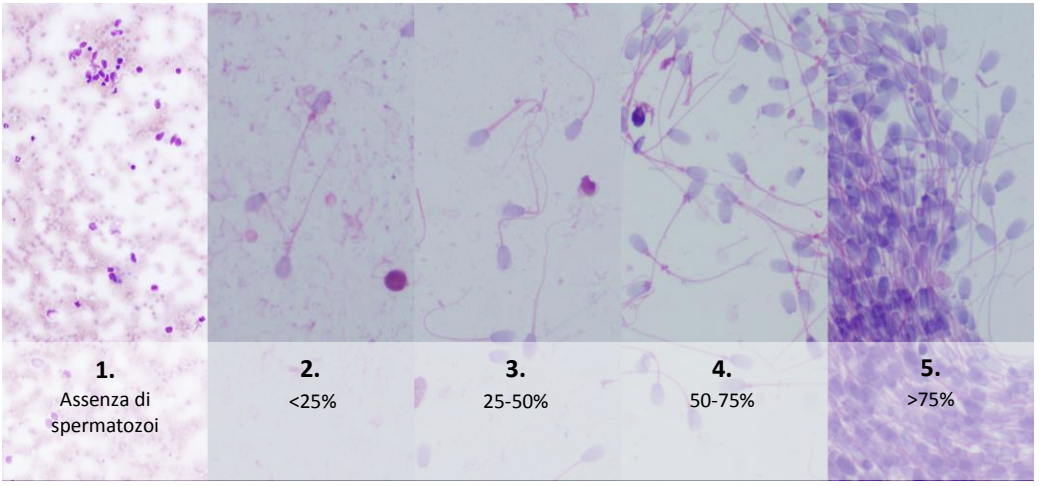
Classificazione citologica

Per valutare indirettamente la fertilità dei soggetti immunocastrati è stato effettuato un esame citologico dei testicoli al momento della macellazione. Il testosterone è il più importante ormone responsabile del trofismo testicolare e della spermatogenesi, perciò la sua inibizione dovrebbe fisiologicamente comportare una riduzione del volume delle gonadi e una riduzione del numero di spermatozoi, fino a portare alla totale assenza degli stessi. Al macello si sono, dunque, raccolti i testicoli di ogni animale immunocastrato e da ognuno di essi sono stati prelevati dei campioni tissutali. Successivamente il materiale raccolto è stato utilizzato per

preparare i vetrini destinati all'esame citologico, ottenendo 142 preparati citologici, comprensivi di 2 vetrini per soggetto.

I vetrini sono stati valutati al microscopio per identificare, come prima cosa, la presenza o assenza di spermatozoi. Successivamente è stata data una stima della quantità di spermatozoi, espressa in percentuale rispetto al totale delle cellule presenti sul vetrino, ottenendo una classificazione semiquantitativa con suddivisione dei campioni in 5 categorie, come mostrato in Figura 1.

Figura 1 **-** Campioni citologici di epididimo con colorazione May-Grunwald Giemsa (MGG).



Dall'esame emerge che nella metà dei soggetti è evidente una presenza ridotta, fino alla totale assenza, di spermatozoi, mentre l'altra metà presenta una quantità di spermatozoi abbondante (Grafico 4). Ciò potrebbe essere dovuto non tanto all'inefficacia del trattamento, eseguito 30 giorni prima della macellazione in questi animali, quanto alla presenza residua di spermatozoi prodotti prima dell'ultima inoculazione, in quanto la spermatogenesi nel suino ha una durata media di 40 giorni. Questo conferma ulteriormente la risposta individuale al trattamento, che è stata diversa nei diversi soggetti.

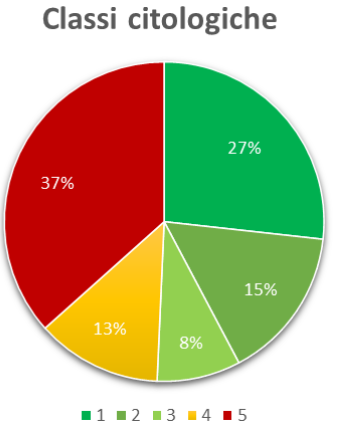


Grafico 4 - Numero di soggetti, espresso in percentuale, per ogni classe citologica

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO
DIPARTIMENTO DI MEDICINA VETERINARIA

FCSR
Fondazione CRPA Studi Ricerche

FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO

ALLEVAMENTI di NERVIANO S.R.L.

Regione Lombardia

Progetto di ricerca n. 27 " PorCastro – Verifiche sperimentali su sistemi alternativi alla castrazione senza anestesia e analgesia nell'allevamento suino per il miglioramento del benessere animale" finanziato con d.d.s. n. 19441 del 21/12/2018 nell'ambito del Programma Regionale di ricerca in campo agricolo e forestale di Regione Lombardia.

Il progetto è coordinato e condotto dal Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali dell'Università degli Studi di Milano in collaborazione con la Fondazione CRPA Studi Ricerche di Reggio Emilia, la Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico e gli Allevamenti di Nerviano srl.