

I primi embrioni in vitro in assoluto mai realizzati possono segnare una svolta nel destino del rinoceronte bianco settentrionale ormai quasi estinto.

*I primi embrioni in vitro in assoluto mai realizzati possono segnare una svolta nel destino del rinoceronte bianco settentrionale ormai quasi estinto. Per decenni la storia del rinoceronte bianco settentrionale è stata una storia di declino. Il numero di individui si è ridotto a soli due nel 2018, rendendo la totale estinzione della specie solo una questione di tempo. Un consorzio internazionale di scienziati e conservazionisti ha raggiunto una pietra miliare nella riproduzione assistita che può essere un punto di svolta fondamentale nel destino di questi magnifici animali. Utilizzando ovociti raccolte dalle due femmine rimanenti e sperma congelato di maschi deceduti, sono stati creati con successo **due embrioni di rinoceronte bianco settentrionale**. Gli embrioni sono ora conservati in azoto liquido, pronti per essere trasferiti in una madre surrogata in un prossimo futuro.*

La creazione in vitro degli embrioni di rinoceronte bianco settentrionale è stata realizzata presso i laboratori Avantea di Cremona, Italia. Il Prof. Cesare Galli e il suo team hanno portato a maturazione e fecondato gli ovuli raccolti il 22 agosto da Najin e Fatu, le due femmine che vivono a Ol Pejeta Conservancy in Kenya, con sperma dei maschi Suni e Saut. "Abbiamo riportato dieci ovociti dal Kenya, cinque per ogni femmina. Dopo l'incubazione, sette sono maturati ed erano adatti alla fecondazione (quattro da Fatu e tre da Najin)", dice Galli. "Gli ovuli di Fatu sono stati iniettati con lo sperma di Suni mentre gli ovuli di Najin sono stati iniettati con lo sperma di Saut usando una procedura chiamata ICSI (Intra Cytoplasm Sperm Injection). Lo sperma di Saut era di qualità davvero scadente e abbiamo dovuto scongelare ulteriori campioni per trovare spermatozoi vitali per l'ICSI. Dopo dieci giorni di incubazione, due ovuli di Fatu si sono sviluppati in embrioni vitali che sono stati crioconservati per il trasferimento futuro. Gli ovuli di Najin non sono arrivati ad un embrione vitale nonostante il fatto che un ovulo avesse iniziato la segmentazione".

Questa procedura è stata resa possibile grazie ad un precedente traguardo raggiunto a Ol Pejeta tre settimane fa. Gli scienziati sono stati in grado di raccogliere ovociti (ovuli immaturi) sia da Najin che da Fatu per la prima volta in assoluto. La raccolta degli ovuli è stata realizzata grazie ad un'iniziativa congiunta dell'Istituto Leibniz per lo zoo e la ricerca sulla fauna selvatica



(Leibniz-IZW), Avantea, Dvůr Králové Zoo, Ol Pejeta Conservancy e Kenya Wildlife Service (KWS). Subito dopo la raccolta gli ovuli sono stati trasportati per via aerea al laboratorio Avantea di Cremona. "L'intero team ha sviluppato e pianificato queste procedure per anni", afferma il Prof. Thomas Hildebrandt di Leibniz-IZW. "Oggi abbiamo raggiunto un'importante traguardo su una strada impervia che ci permette di pianificare le tappe future del programma di salvaguardia del rinoceronte bianco del nord".

L'intero processo fa parte del progetto di ricerca "BioRescue". L'obiettivo del progetto è quello di far progredire in modo significativo le tecniche di riproduzione assistita (ART) e le tecniche associate alle cellule staminali (SCAT), integrate da una valutazione etica complessiva a beneficio del rinoceronte bianco settentrionale. Il consorzio è parzialmente finanziato dal Ministero Federale Tedesco per l'Educazione e la Ricerca (BMBF) e comprende istituzioni di fama internazionale provenienti da Germania, Italia, Repubblica Ceca, Kenya, Giappone e Stati Uniti. BioRescue mira a prevenire l'estinzione del rinoceronte bianco settentrionale.

La valutazione etica dell'intero programma e di ogni singola procedura condotta dagli scienziati di BioRescue è una parte cruciale del programma. "Aprire nuovi orizzonti implica automaticamente dare luogo a nuove domande derivanti dalle nuove possibilità che abbiamo", spiega Hildebrandt, responsabile del progetto BioRescue. "Per la raccolta degli ovuli di Najin e Fatu abbiamo sviluppato una specifica analisi etica del rischio per preparare il team a tutti i possibili scenari implicati da una procedura così ambiziosa e per assicurare il rispetto del benessere degli animali coinvolti", afferma Barbara de Mori, esperta in etica della conservazione e del benessere animale dell'Università di Padova. "E abbiamo effettuato anche un'analisi etica del rischio, focalizzata sulla qualità e la sicurezza di tutte le procedure che si sono svolte ad Avantea".

"Cinque anni fa sembrava che la produzione di un embrione di rinoceronte bianco settentrionale fosse quasi un obiettivo irraggiungibile - e oggi ci siamo riusciti. Questo fantastico risultato di tutto il team ci permette di essere ottimisti per quanto riguarda i prossimi passi. Nei mesi a seguire dovremo ottimizzare il processo di trasferimento e sviluppo embrionale nelle madri surrogate. La tecnica per la raccolta degli ovociti è stata sviluppata in collaborazione con molti zoo europei e siamo felici che questa collaborazione unica possa continuare anche con i futuri tentativi di trasferimento degli



embrioni", dice Jan Stejskal, direttore della comunicazione e dei progetti internazionali dello zoo di Dvůr Králové, dove sono nati Najin e Fatu.

La collaborazione tra lo zoo di Dvůr Králové, Ol Pejeta Conservancy e il Kenya Wildlife Service ha portato nel dicembre 2009 alla traslocazione di Najin, Fatu e di altri due rinoceronti bianchi settentrionali maschi dalla Repubblica Ceca al Kenya – dando origine alla collaborazione internazionale che ora ha raggiunto una svolta nel destino del rinoceronte bianco settentrionale. "Questo è un importante passo avanti nei nostri sforzi per salvare i rinoceronti bianchi del nord. Dobbiamo essere grati a tutti coloro che sono coinvolti. Abbiamo molta strada da fare e dobbiamo ricordarci che per la maggior parte delle specie in via di estinzione, le risorse che sono dedicate al salvataggio dei rinoceronti bianchi del nord semplicemente non sono disponibili. Il comportamento umano globale deve cambiare radicalmente se si vuole imparare una lezione dai rinoceronti bianchi del nord", dice Richard Vigne, Managing Director di Ol Pejeta Conservancy.

Il governo del Kenya è molto incoraggiato dall'apertura di nuovi orizzonti nelle tecniche di riproduzione assistita e rimane impegnato a facilitare il processo pionieristico fino in fondo". Sono stati dieci anni di corsa contro il tempo e siamo entusiasti dei progressi compiuti per ribaltare le prospettive fino ad ora desolanti per il rinoceronte bianco del nord", dice l'On. Najib Balala, segretario di gabinetto del Kenya per il turismo e la fauna selvatica.

"I pionieristici embrioni in vitro del rinoceronte bianco del nord del Kenya sono una chiara testimonianza di ciò che un partenariato all'insegna dell'impegno reciproco può raggiungere per far avanzare le frontiere della scienza per salvare un animale dall'estinzione", dice Brig (Rtd) John Waweru, il direttore generale del Kenya Wildlife Service.

Partnership consolidate e stimolanti sono la chiave del successo del progetto BioRescue. Il consorzio è felice e orgoglioso di annunciare una partnership a lungo termine con Merck. "La notizia che due embrioni di rinoceronte bianco del nord sono stati concepiti è un passo significativo per salvare la specie dall'estinzione. Noi di Merck siamo orgogliosi di far parte di questo ambizioso progetto e ci impegniamo a collaborare strettamente e a lungo termine con il consorzio per salvaguardare la biodiversità per molti anni a venire. Ci stiamo lavorando insieme per dare al progetto le migliori possibilità di successo", ha detto Jan Kirsten, Global Head Business Franchise Fertility di Merck. "Come



esperti in fertilità, siamo entusiasti di portare la nostra esperienza in questa collaborazione".

Il sostegno di finanziamenti aggiuntivi da parte di aziende e donatori privati aiuterà a vincere la nostra corsa contro il tempo ed è un contributo fondamentale per salvare la biodiversità e per assumerci la responsabilità ambientale.

Tutti i partner del consorzio stanno lavorando fianco a fianco per salvare il rinoceronte bianco settentrionale dall'estinzione.

Media Package

www.biorescue.org/mediapackage/

Contatti stampa

- ❖ **Cesare Galli**
Director, Avantea
phone: +39 0372 437242
mail: cesaregalli@avantea.it

- ❖ **Jan Stejskal**
Director of Communication and International Projects, Zoo Dvůr Králové
phone +420/608 009 072
mail: jan.stejskal@zoodk.cz

- ❖ **Elodie Sampéré**
Head of PR & Communications, Ol Pejeta Conservancy
+254 / 727 341 612
elodie.sampere@olpejetaconservancy.org

- ❖ **Paul Udoto**
Head of Corporate Communications, Kenya Wildlife Service
+254 / 721 453 9



pudoto@kws.go.ke

❖ **Marco Milan**

Press Office, University of Padua
phone: +39 049 827 3041-3066
mail: stampa@unipd.it

❖ **Steven Seet**

Head of Science Communication, Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (Leibniz-IZW)
phone: +49(0)30 5168125
mail: seet@izw-berlin.de

Partner del Consorzio

Avantea è un laboratorio di tecnologie avanzate per la ricerca biotecnologica e la riproduzione animale con sede a Cremona, Italia. Avantea ha oltre vent'anni di esperienza e il know-how nella riproduzione assistita degli animali domestici sviluppato in anni di ricerca nel campo della riproduzione animale e biomedica. www.avantea.it/en/

Dvůr Králové Zoo è un parco safari nella Repubblica Ceca. E' uno dei migliori centri per la riproduzione di rinoceronti al di fuori dell'Africa e l'unica struttura dove il rinoceronte bianco del nord si riproduce. Lo zoo Dvůr Králové coordina gli sforzi per salvare i rinoceronti bianchi del nord. safari-park.cz/en/

Ol Pejeta Conservancy è il più grande santuario dei rinoceronti neri dell'Africa orientale, ed è l'unico posto in Kenya dove si possono vedere gli scimpanzé. È anche la patria degli ultimi due rinoceronti bianchi del nord del pianeta. La sicurezza della fauna selvatica è all'avanguardia a Ol Pejeta e comprende un'unità specializzata K-9, telecamere con sensore di movimento lungo la recinzione elettrica ad energia solare e un'unità dedicata alla protezione dei rinoceronti. www.olpejetaconservancy.org

Kenya Wildlife Service è l'istituto governativo che conserva e gestisce la fauna selvatica per il Kenya e per il mondo. Inoltre, fa rispettare le leggi e i regolamenti correlati. www.kws.go.ke

L'**Università di Padova** in Italia è una delle più antiche del mondo. Il suo Dipartimento di Biomedicina Comparata e Scienza dell'Alimentazione sta sviluppando attività di ricerca e formazione all'avanguardia nel campo della conservazione della fauna selvatica e del benessere, con particolare attenzione alla valutazione etica e alla valutazione di progetti di ricerca e programmi educativi. <http://bca.unipd.it/ethics-laboratory-veterinary-medicine-conservation-and-animal-welfare>



Leibniz Institute for Zoo
& Wildlife Research Berlin

BioRescue



AVANTEA



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Il **Leibniz Institute for Zoo & Wildlife Research (IZW)** è un istituto di ricerca tedesco di fama internazionale dell'Associazione Leibniz. La sua mission è quella di indagare gli adattamenti evolutivi della fauna selvatica al cambiamento globale e sviluppare nuovi concept e misure per la conservazione. A tal fine, il Leibniz-IZW si avvale della sua vasta esperienza interdisciplinare per condurre ricerche per la conservazione in stretto dialogo con il pubblico e le parti interessate. www.leibniz-izw.de

- > **Kyushu University, Giappone**
- > **Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Germania**
- > **Helmholtz Center Munich, Germania**
- > **University of Teramo, Italia**
- > **Northwestern University, Stati Uniti**



Press Release (Press Embargo: Sept. 11th, 2019; 11.00 a.m. CEST)

First ever in-vitro embryos may mark the turn of the tide in the fate of the nearly extinct northern white rhino

*For decades the story of the northern white rhinoceros has been a tale of decline. The number of individuals shrank down to only two in 2018, rendering complete extinction as only a matter of time. An international consortium of scientists and conservationists has now achieved a milestone in assisted reproduction that may be a pivotal turning point in the fate of these magnificent animals. Using eggs collected from the two remaining females and frozen sperm from deceased males, they successfully created **two northern white rhino embryos**. The embryos are now stored in liquid nitrogen to be transferred into a surrogate mother in the near future.*

The in-vitro creation of northern white rhino embryos was achieved at Avantea Laboratories in Cremona, Italy. Prof. Cesare Galli and his team matured and fertilized eggs collected on August 22nd from Najin and Fatu, the two females living at Ol Pejeta Conservancy in Kenya, with sperm from males Suni and Saut. “We brought ten oocytes back from Kenya, five from each female. After incubation seven matured and were suitable for fertilisation (four from Fatu and three from Najin)”, says Galli. “Fatu’s eggs were injected with Suni’s sperm while Najin’s eggs were injected with Saut’s sperm using a procedure called ICSI (Intra Cytoplasm Sperm Injection). Saut’s semen was of really poor quality and we had to thaw additional samples to find viable sperms for ICSI. After ten days of incubation, two of Fatu’s eggs developed into viable embryos that were cryopreserved for future transfer. Najin’s eggs did not make it to a viable embryo despite the fact that one egg initiated segmentation.”

This procedure was made possible by a previous milestone achieved at Ol Pejeta three weeks ago. Scientists were able to collect oocytes (immature eggs) from both Najin and Fatu for the first time ever. The successful egg collection was a joint effort by the Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (Leibniz-IZW), Avantea, Dvůr Králové Zoo, Ol Pejeta Conservancy and the Kenya Wildlife Service (KWS). Immediately after the collection the eggs were air-lifted to the Avantea Lab in Cremona. “The entire team has been developing and planning these procedures for years”, says Prof. Thomas Hildebrandt from Leibniz-IZW. “Today we achieved an important milestone on



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



a rocky road which allows us to plan the future steps in the rescue program of the northern white rhino”.

The entire process is part of the “BioRescue” research project. Its goal is to significantly advance assisted reproduction techniques (ART) and stem cell associated techniques (SCAT) complemented with a comprehensive ethical assessment for the benefit of the northern white rhinoceros. The consortium is partially funded by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) and comprises of internationally renowned institutions from Germany, Italy, Czech Republic, Kenya, Japan and USA. BioRescue aims to prevent the extinction of the northern white rhino.

The ethical assessment of the entire programme and each individual procedure carried out by the BioRescue scientists is a crucial part of the programme. “Breaking new ground automatically implies new questions arising from the new possibilities that we have”, explains BioRescue project head Hildebrandt. “For the egg collection from Najin and Fatu we developed a dedicated ethical risk analysis in order to prepare the team for all possible scenarios of such ambitious procedures and to make sure that the welfare of the animals involved is totally respected”, says Barbara de Mori, the conservation and animal welfare ethics expert from Padua University. “And we carried out a dedicated ethical risk analysis focusing on the quality and security of all the procedures that took place at Avantea”.

“Five years ago it seemed like the production of a northern white rhino embryo was almost unachievable goal – and today we have them. This fantastic achievement of the whole team allows us to be optimistic regarding our next steps. In coming months we need to optimize the process of transfer and following development of an embryo in a body of a surrogate mother. The technique for collection of eggs was developed in cooperation with many European zoos and we are happy that this unique cooperation can continue even with attempts at successful embryo transfer”, says Jan Stejskal, Director of Communication and International Projects from Dvůr Králové Zoo, where Najin and Fatu were born.

It was the partnership between Dvůr Králové Zoo, Ol Pejeta Conservancy and Kenya Wildlife Service that led to the translocation of Najin, Fatu and two male northern white rhinos from the Czech Republic to Kenya in December 2009 – ultimately leading to the international collaboration that now achieved the turn of the tide in the fate of the northern white rhino. “This is a major step



forward in our efforts to recover the northern white rhinos. All concerned are to be hugely congratulated. We have a very long way to go and we most remember that for most species facing extinction, the resources that are being dedicated to saving the northern whites simply don't exist. Global human behaviour still needs to radically change if the lessons of the northern white rhinos are to be learned," says Richard Vigne, Managing Director of Ol Pejeta Conservancy.

"The Kenyan government is greatly encouraged by breaking of new ground in the assisted reproduction technique and remains committed to facilitating the pioneering process all the way. It has been decade of race against time and we are excited at the progress in reversing the hitherto bleak outlook for the northern white rhino," says Hon. Najib Balala, Kenya's Cabinet Secretary for Tourism and Wildlife.

"The pioneering in vitro embryos of the northern white rhino is a strong testament to what committed partnership can achieve in pushing the frontiers of science to save a creature from extinction," says Brig. (Rtd) John Waweru, the Director General of Kenya Wildlife Service.

Well-established, inspiring partnerships are a key to the success of the BioRescue project. The consortium is happy and proud to announce a long-term partnership with Merck. "The news that two viable northern white rhino embryos have been conceived is a significant step towards saving the species from extinction. At Merck, we are proud to be a part of this ambitious project and we are committed to our close and long-term partnership with the consortium to safeguard biodiversity for many years to come. We are in it together to give the project the best chance of success", said Jan Kirsten, Global Head Business Franchise Fertility at Merck. "As experts in fertility, we are passionate about bringing our expertise to this collaboration."

The support of additional funding from companies and private donors will help to win our race against time and is a fundamental contribution to save biodiversity and to take environmental responsibility.

All consortium partners are working hand in hand to save the northern white rhino from extinction.



Media Package

(Available: 11.09.2019; 10.00 h a.m.)

www.biorescue.org/mediapackage/

Press Contacts

- ❖ **Cesare Galli**
Director, Avantea
phone: +39 0372 437242
mail: cesaregalli@avantea.it

- ❖ **Jan Stejskal**
Director of Communication and International Projects, Zoo Dvůr Králové
phone +420/608 009 072
mail: jan.stejskal@zoodk.cz

- ❖ **Elodie Sampéré**
Head of PR & Communications, Ol Pejeta Conservancy
+254 / 727 341 612
elodie.sampere@olpejetaconservancy.org

- ❖ **Paul Udoto**
Head of Corporate Communications, Kenya Wildlife Service
+254 / 721 453 9
pudoto@kws.go.ke

- ❖ **Marco Milan**
Press Office, University of Padua
phone: +39 049 827 3041-3066
mail: stampa@unipd.it

- ❖ **Steven Seet**
Head of Science Communication, Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (Leibniz-IZW)
phone: +49(0)30 5168125
mail: seet@izw-berlin.de

Consortium Partners

Avantea is a laboratory of advanced technologies for biotechnology research and animal reproduction based in Cremona, Italy. Avantea has over twenty years of experience and the know-how in assisted reproduction of livestock developed through years of research conducted in the biomedical and animal reproduction fields. www.avantea.it/en/



Dvůr Králové Zoo is a safari park in the Czech Republic. It's one of the best rhino breeders outside of Africa and the only place where the northern white rhino bred in human care. Dvůr Králové Zoo coordinates efforts to save the northern white rhinos. safari-park.cz/en/

Ol Pejeta Conservancy is the largest black rhino sanctuary in east Africa, and is the only place in Kenya to see chimpanzees. It is also home to the last two northern white rhinos on the planet. Ol Pejeta's cutting edge wildlife security includes a specialised K-9 unit, motion sensor cameras along its solar-powered electric fence, and a dedicated Rhino Protection Unit.

www.olpejetaconservancy.org

Kenya Wildlife Service is the government institution that conserves and manages wildlife for Kenyans and the world. It also enforces related laws and regulations. www.kws.go.ke

The University of Padua in Italy is one of the oldest in the world. Its Department of Comparative Biomedicine and Food Science is developing leading research and education in the field of wildlife conservation and welfare, with a special focus on ethical assessment and evaluation of research projects and educational programs <http://bca.unipd.it/ethics-laboratory-veterinary-medicine-conservation-and-animal-welfare>

The **Leibniz Institute for Zoo & Wildlife Research (IZW)** is an internationally renowned German research institute of the Leibniz Association. Its mission is to examine evolutionary adaptations of wildlife to global change and develop new concepts and measures for conservation. To achieve this, the Leibniz-IZW uses its broad interdisciplinary expertise in conducting research for conservation in close dialogue with the public and stakeholders.

www.leibniz-izw.de

- > **Kyushu University, Japan**
- > **Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Germany**
- > **Helmholtz Center Munich, Germany**
- > **University of Treviso**
- > **Northwestern University, USA**

