Die Bedeutung von Refinement für das Tierwohl bei Kleinsäugern - Erkenntnisse aus der Forschung



© Name Fotograf / Bildagentur

09.11.2024, ZZF-Symposium, Wiesbaden Niedernhausen

Paul Mieske
FG 92 - Versuchstierkunde
Abt. 9 - Experimentelle Toxikologie und ZEBET

Inhalt

1. Einordnung Vortrag und Vortragsthema
2. Refinement
3. Bedeutung von Refinement
4. Beispiele von Refinement, Forschungsschwerpunkte BfR, FG 92 – Versuchstierkunde

Inhalt

1. Einordnung Vortrag und Vortragsthema
2. Refinement
3. Bedeutung von Refinement
4. Beispiele von Refinement, Forschungsschwerpunkte BfR, FG 92 – Versuchstierkunde

3R-Prinzip

1959, William Russell & Rex Burch
The Principles of Humane Experimental Technique



https://en.3rcenter.dk/3r/russell-burch

Reduction

Zahl der in Versuchen verwendeten Tiere verringern

Refinement

Leiden in Tierversuchen auf das unerlässliche Maß verringern

Replacement

Tierversuche vollständig vermeiden und durch alternative Methoden ersetzen

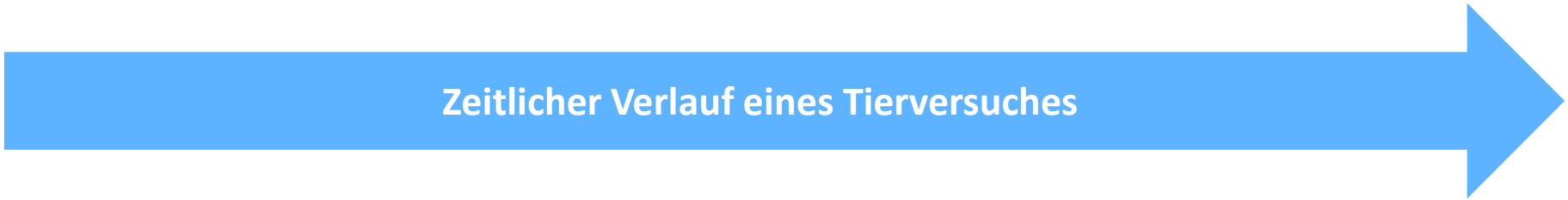
“Advancing laboratory animal welfare by exploiting the latest in vivo technologies to minimise pain, suffering and distress and improving understanding of the impact of welfare on scientific outcomes.”
NC3Rs, https://nc3rs.org.uk/who-we-are/3rs

Bedeutung von Refinement

Anwendungsbereiche

Handling von Versuchstieren

Weiterbildung und Motivation der im Tierversuch arbeitenden Personen



Zucht von Versuchstieren für den Tierversuch / im Tierversuch

Haltung von Versuchstieren im Tierversuch

Experiment(e) / tierversuchsbedingte Eingriffe am Versuchstier

Versuchsende: Tötung der Versuchstiere / Verbleib der Versuchstiere

Verankerung von Refinement in den Gesetzen
Richtlinie 2010/63/EU

- **stabile Gruppe** (bis auf entsprechende Ausnahmen); Dauer Einzelhaltung auf das notwendige Mindestmaß beschränken und Sicht-, Hör-, Riech- und/oder Berührungskontakt ermöglichen
- Umgebung mit hinreichender **Komplexität**, damit Tiere eine große Palette arttypischer Verhaltensweisen (u.a. Bewegung, Futtersuche, manipulatives & kognitives Verhalten) ausleben können
- Tiere sollen **Umgebung** in bestimmtem Maße selbst **kontrollieren und auswählen** können, um stressbedingte Verhaltensmuster abzubauen
- **„Ausgestaltungsstrategien“** in den Einrichtungen müssen regelmäßig überprüft und aktualisiert werden
- **Ruhe- und Schlafbereiche** mit geeigneter Einstreu oder Schlafplätze, einschließlich Nestmaterial oder Neststrukturen für trächtige Tiere
- Umgang: Die Einrichtungen stellen **Eingewöhnungs- und Trainingsprogramme** auf, die für die Tiere, die Verfahren und die Dauer des Projekts geeignet sind

Verankerung von Refinement in den Gesetzen

TierSchG und TierSchVersV

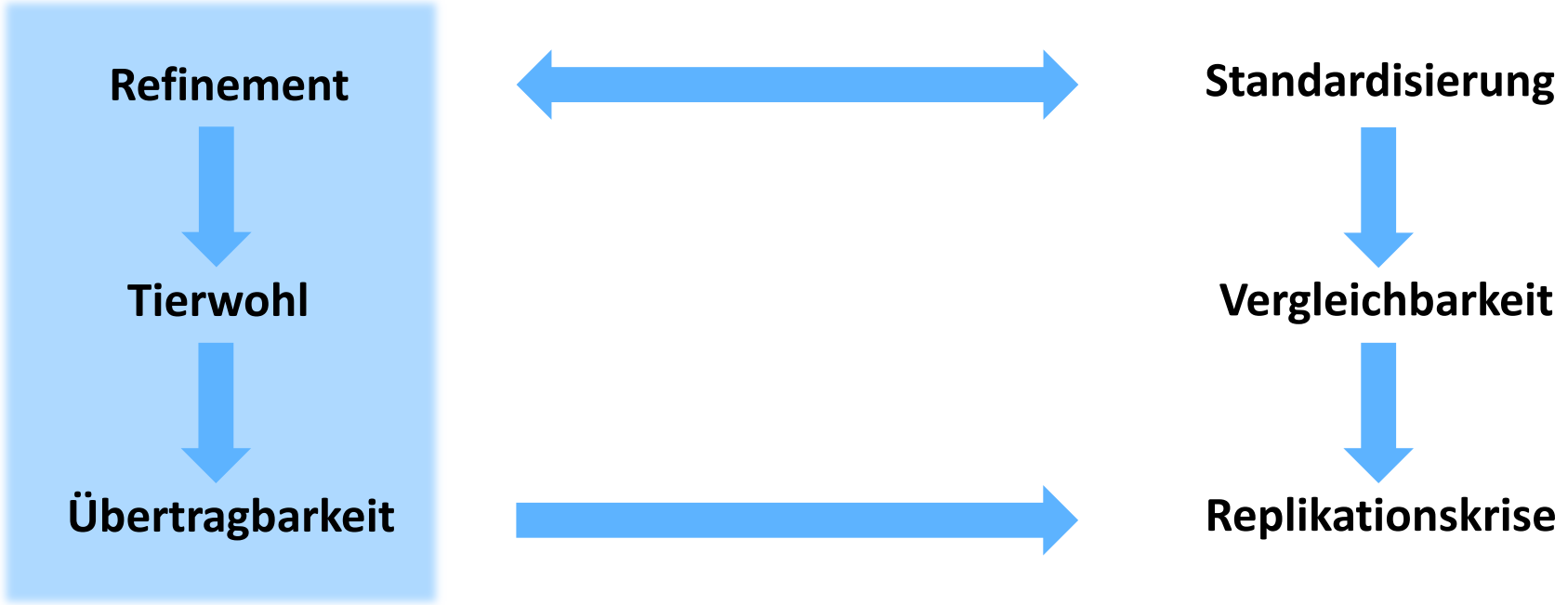
- Wie kann die Belastung für die Tiere in diesem Versuchsvorhaben reduziert werden (Refinement)? Maßnahmen und Abbruchkriterien

- Beschreibung der Haltungsbedingungen inkl. Darstellung der fortlaufenden Überprüfung der Möglichkeiten zur Verbesserung des Wohlergehens der Tiere (§8 Abs. 1 Satz 2 Nr. 5 TierSchG und §1 Abs. 1 Satz 1 Nr. 5 TierSchVersV)

- Darstellung der durch den Versuchsleitenden geplanten Maßnahmen, um die Verbesserung der Methoden zur Reduktion der Schmerzen, Leiden und Schäden der verwendeten Tiere im Versuch und in der Zucht, Haltung und Pflege sicherzustellen (§31 Abs. 1 Nr. 1i und 4b TierSchVersV)

Bedeutung von Refinement

„…improving understanding of the impact of welfare on scientific outcomes”



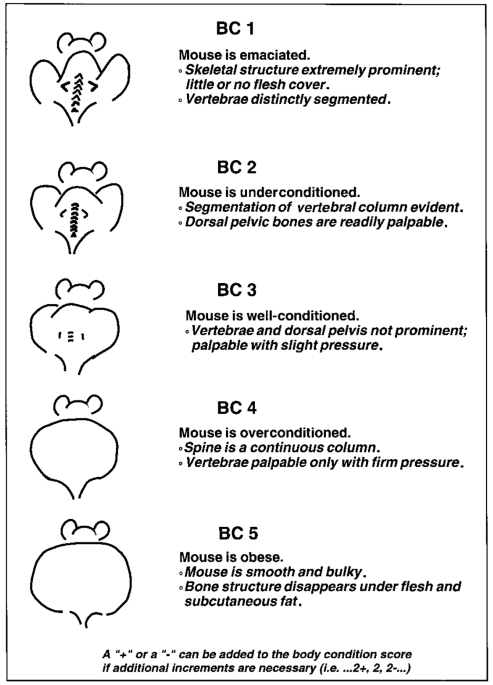
Beispiele für Refinement

Erkennen und Beurteilen von Leiden(, Schmerzen oder Schäden)

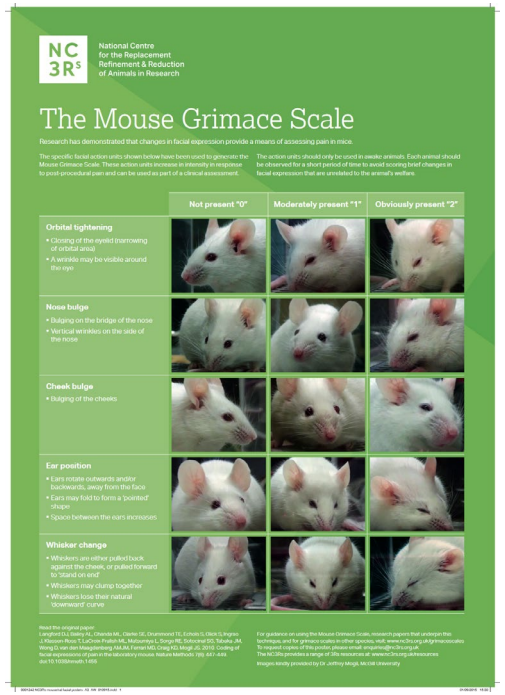
- **Inaugenscheinnahme/Sichtkontrolle** durch Tierpfleger:innen oder geschultes, wissenschaftliches Personal mit Hilfe von **Handlungsanweisungen:** physiologische Parameter, ethologische Parameter, äußeres Erscheinungsbild

  - **Body Condition Score**

  - **Mouse Grimace Scale**



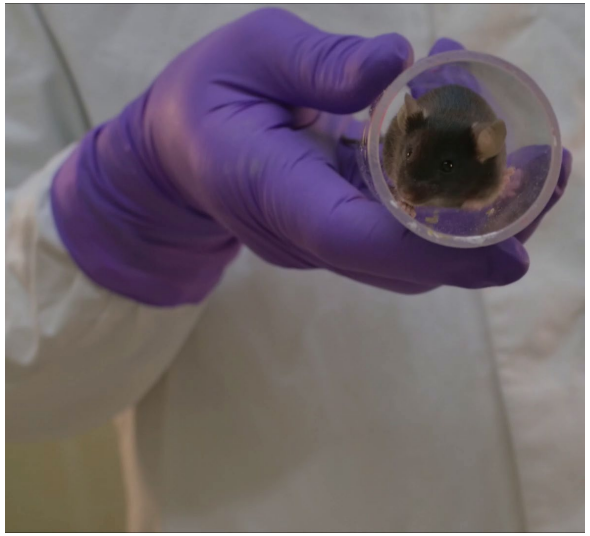
Ullman-Culleré, M. H., & Foltz, C. J. (1999)

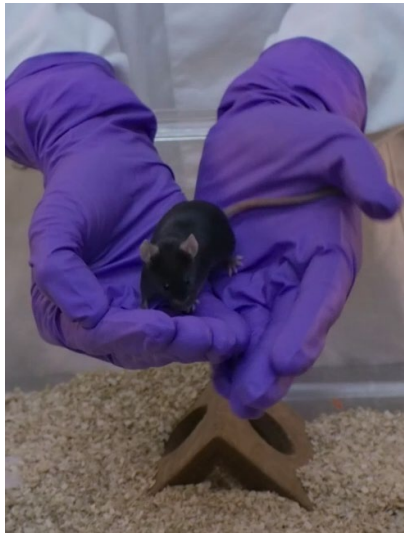


Langford, D., Bailey, A., Chanda, M. et al., (2010), https://nc3rs.org.uk/3rs-resource-library/grimace-scales/grimace-scale-mouse

Beispiele für Refinement
Handling der Versuchstiere

– **Herkömmliches Handling – tierschonendes Handling** im Zusammenhang mit geeignetem **Training**

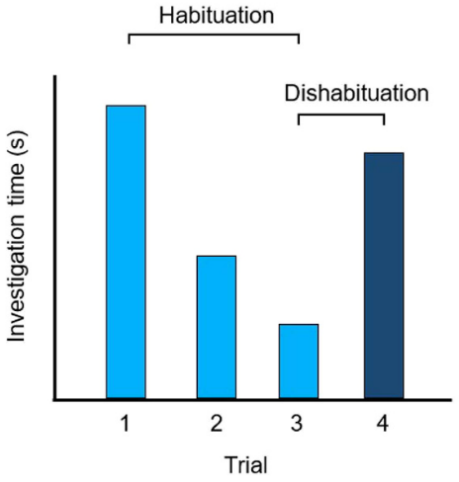


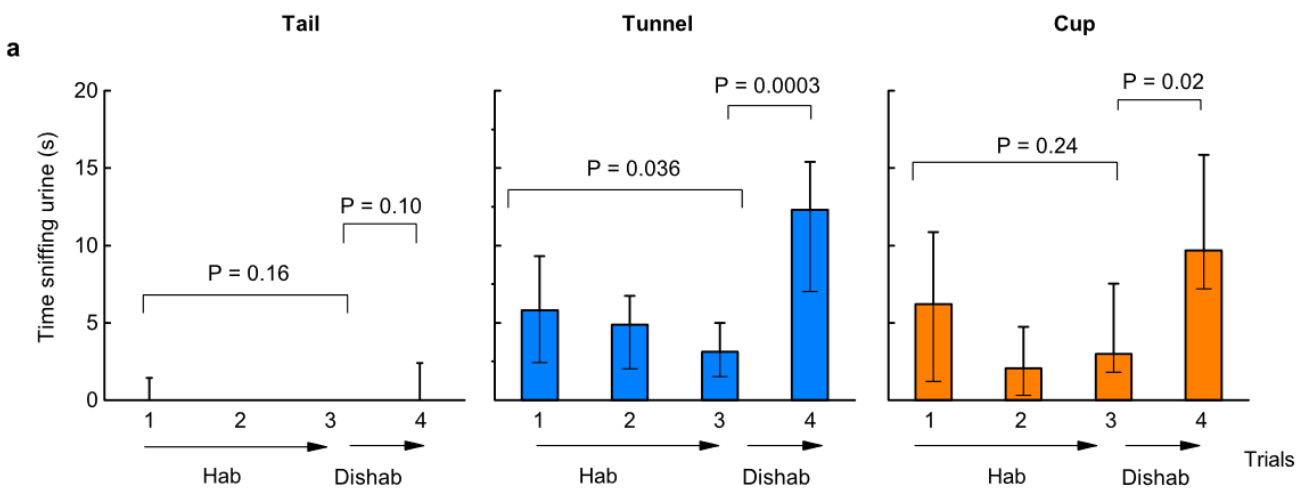


© Katharina Hohlbaum
FG 92 - Versuchstierkunde
Abt. 9 - Experimentelle Toxikologie und ZEBET

Beispiele für Refinement
Handling der Versuchstiere

– Gouveia & Hurst, 2017 – Zuverlässigkeit in Verhaltenstest: **habituation-dishabituation paradigm**

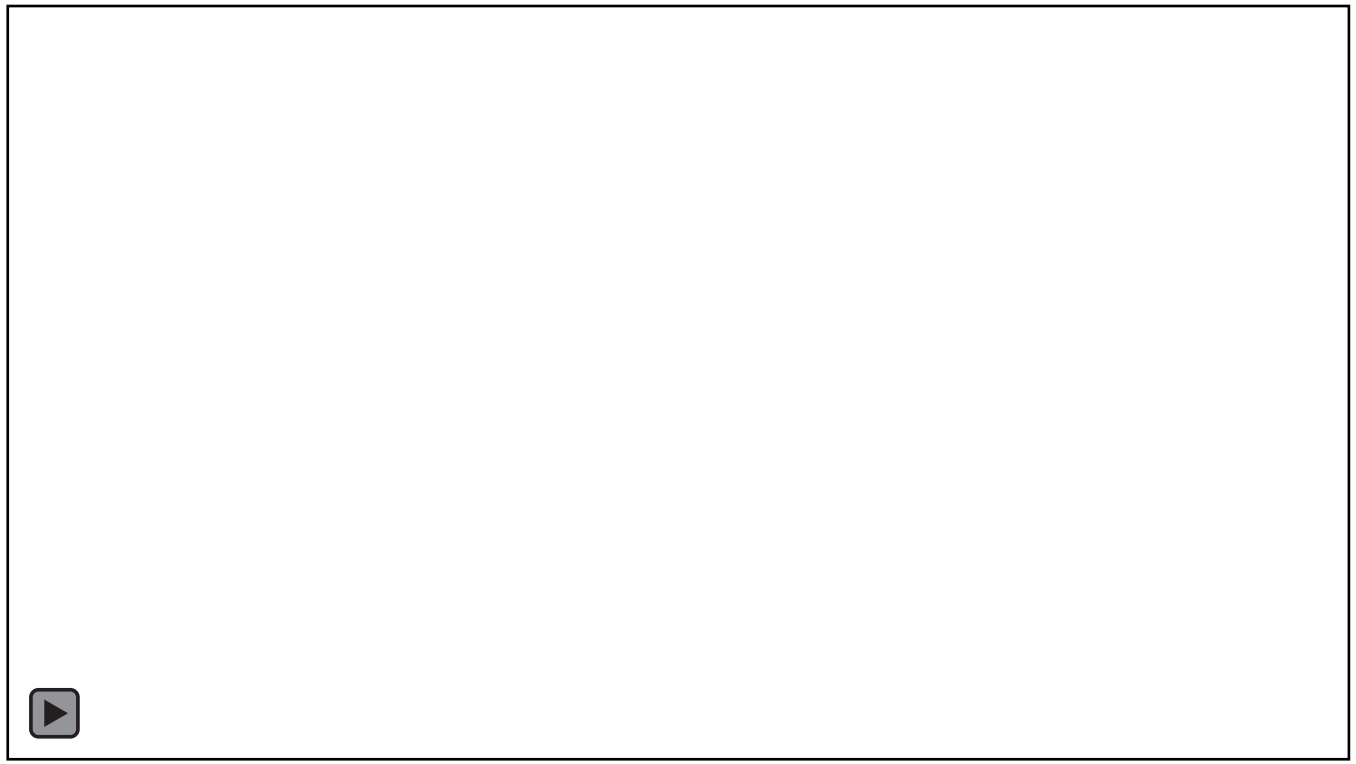


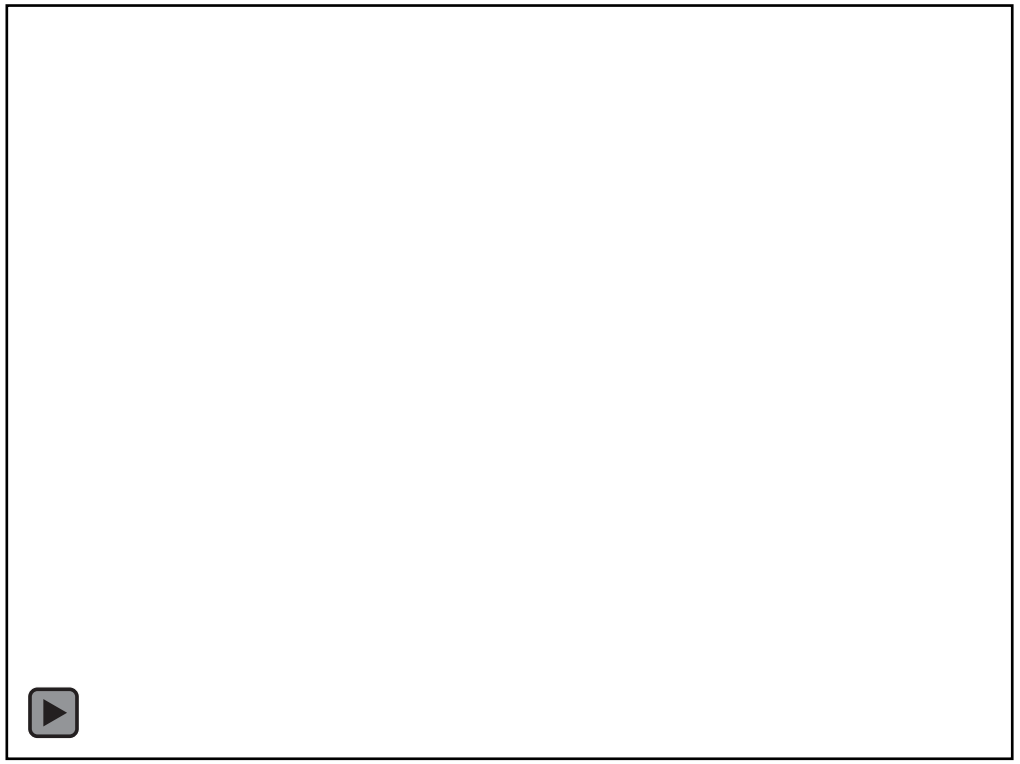


– bei tierschonenden Handlings-Methoden zeigen Mäuse höhere Leistungsfähigkeit in Verhaltenstests (Deacon, 2006, Schellink et al., 2010), höhere Bereitschaft zur Interaktion mit exp./tierpfl. Personal sowie weniger angstbezogenes Verhalten in Standardtests (Hurst & West, 2010, Gouveia & Hurst, 2013, Ghosal et al., 2015)

Beispiele für Refinement

Handling der Versuchstiere





© Katharina Hohlbaum
FG 92 - Versuchstierkunde
Abt. 9 - Experimentelle Toxikologie und ZEBET

Protokoll für Training des Tunnel-Handling mit freiwilligem Betreten des Tunnels:
https://wiki.norecopa.no/index.php/Mouse_handling

Beispiele für Refinement

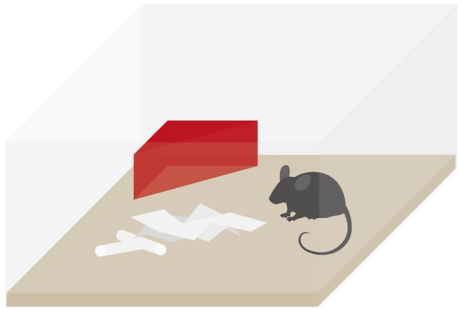
angereicherte Haltungsbedingungen





Beispiele für Refinement

angereicherte Haltungsbedingungen

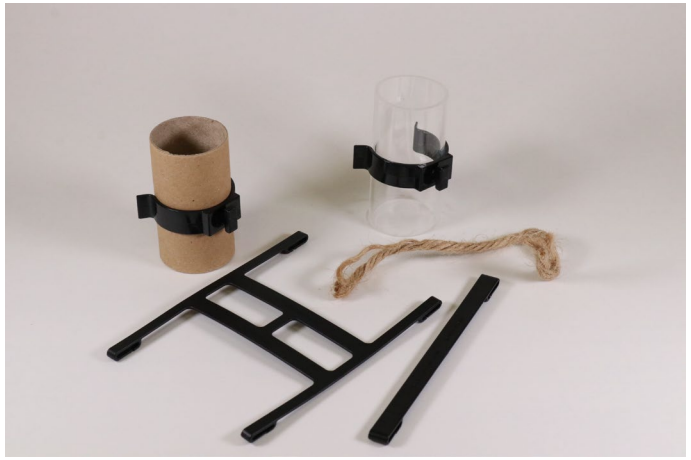








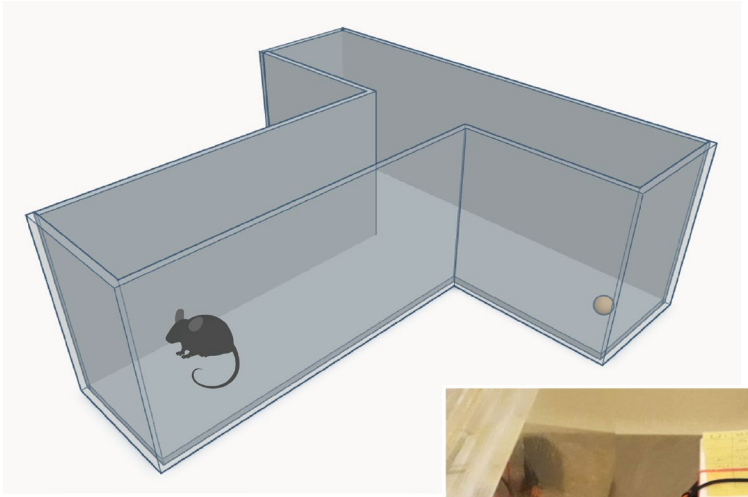




BfR

Beispiele für Refinement

angereicherte Haltungsbedingungen evaluieren



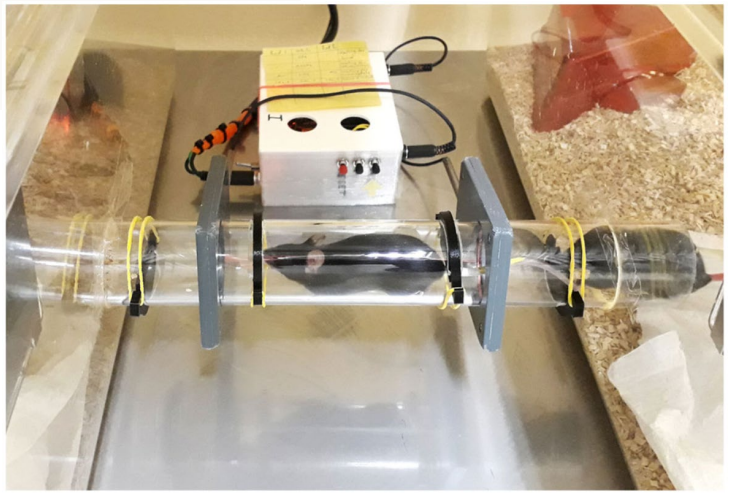


Fig. 1 Setup of a home cage-based preference test using the MoPSS. Two cages are connected via a tube with four barriers and two RFID antennas

BRILL

Behaviour (2021) DOI:10.1163/1568539X-bja10085

Behaviour
brill.com/beh

Alternate without alternative: neither preference nor learning explains behaviour of C57BL/6J mice in the T-maze

Anne Habedank [a,*], **Pia Kahnau** [a] **and Lars Lewejohann** [a,b]

Behavior Research Methods
https://doi.org/10.3758/s13428-021-01593-7

O mouse, where art thou? The Mouse Position Surveillance System (MoPSS)—an RFID-based tracking system

Anne Habedank[1] · Birk Urmersbach[1] · Pia Kahnau[1] · Lars Lewejohann[1,2]

© Anne Jaap, geb. Habedank
FG 92 - Versuchstierkunde
Abt. 9 - Experimentelle Toxikologie und ZEBET

Beispiele für Refinement

angereicherte Haltungsbedingungen evaluieren



Fig 3. The Mouse Positioning and Surveillance System (MoPSS).

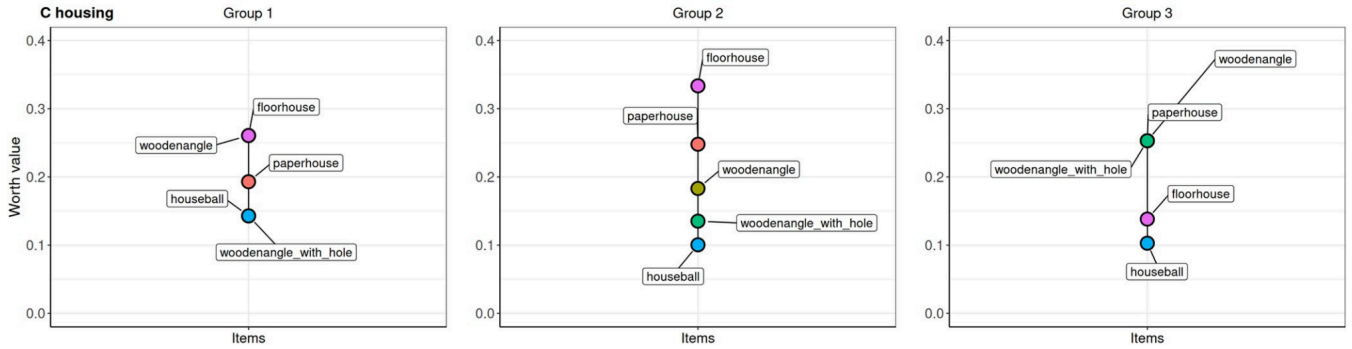


Fig 2. The relative probability preferences (worth values) of the mice from Group 1 (n = 4), Group 2 (n = 4) and Group 3 (n = 4) for the tested enrichment items from the categories foraging, structural and housing in the single paired comparisons over the entire 46-hour testing cycle.

PLoS One. 2023; 18(1): e0278709. PMCID: PMC9851564
Published online 2023 Jan 19. doi: 10.1371/journal.pone.0278709 PMID: 36656912

Rating enrichment items by female group-housed laboratory mice in multiple binary choice tests using an RFID-based tracking system

Ute Hobbiesiefken, Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Visualization, Writing – original draft, [1] Birk Urmersbach, Software, Writing – review & editing, [1] Anne Jaap, Software, Writing – review & editing, [1] Kai Diederich, Project administration, Supervision, Writing – review & editing, [1] and Lars Lewejohann, Conceptualization, Funding acquisition, Project administration, Supervision, Writing – review & editing[1,2,*]

PLOS ONE

OPEN ACCESS PEER-REVIEWED
RESEARCH ARTICLE

Evaluation of different types of enrichment - their usage and effect on home cage behavior in female mice

Ute Hobbiesiefken, Paul Mieske, Lars Lewejohann, Kai Diederich

Published: December 23, 2021 • https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261876

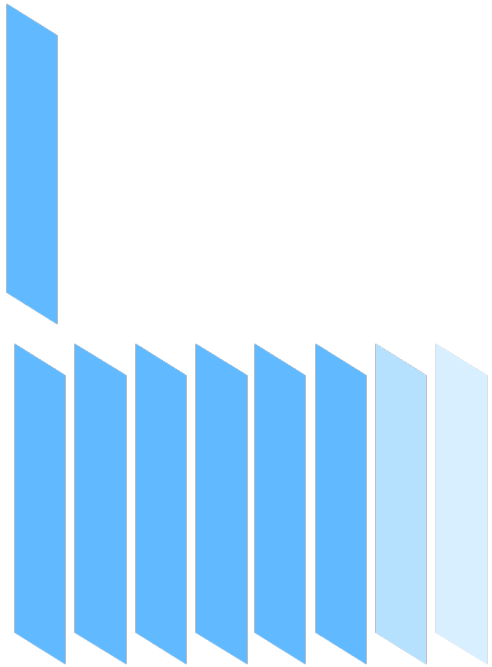
© Ute Hobbiesiefken
FG 92 - Versuchstierkunde
Abt. 9 - Experimentelle Toxikologie und ZEBET

Beispiele für Refinement

Evaluierung von experimentellen Methoden aus der Sicht der Versuchstiere

Consumer Demand Test





Option A – unattraktiv

Option B – attraktiv

Behavior Research Methods (2023) 55:751–766
https://doi.org/10.3758/s13428-022-01813-8

Check for updates

Determining the value of preferred goods based on consumer demand in a home-cage based test for mice

Pia Kahnau[1] · Anne Jaap[1] · Kai Diederich[1] · Lorenz Gygax[2] · Juliane Rudeck[1] · Lars Lewejohann[1,3]

BfR

Beispiele für Refinement

Evaluierung von experimentellen Methoden aus der Sicht der Versuchstiere

Cognitive Bias Test

skalierbarer Reiz



Bestrafung zweideutig Belohnung

Konditionierungsphase



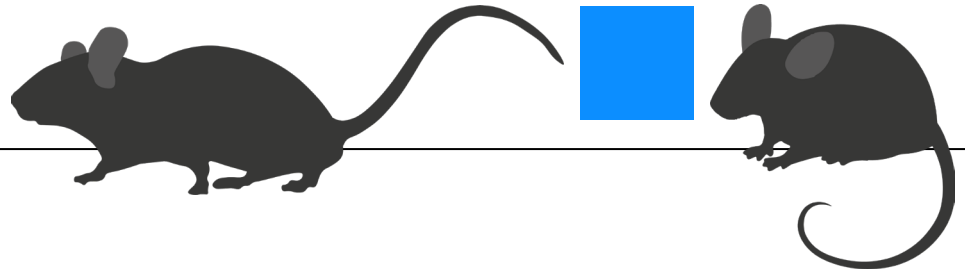
„gehen“, um Bestrafung zu vermeiden

„bleiben“, um Belohnung zu erhalten



“zu bewertende“ Methode

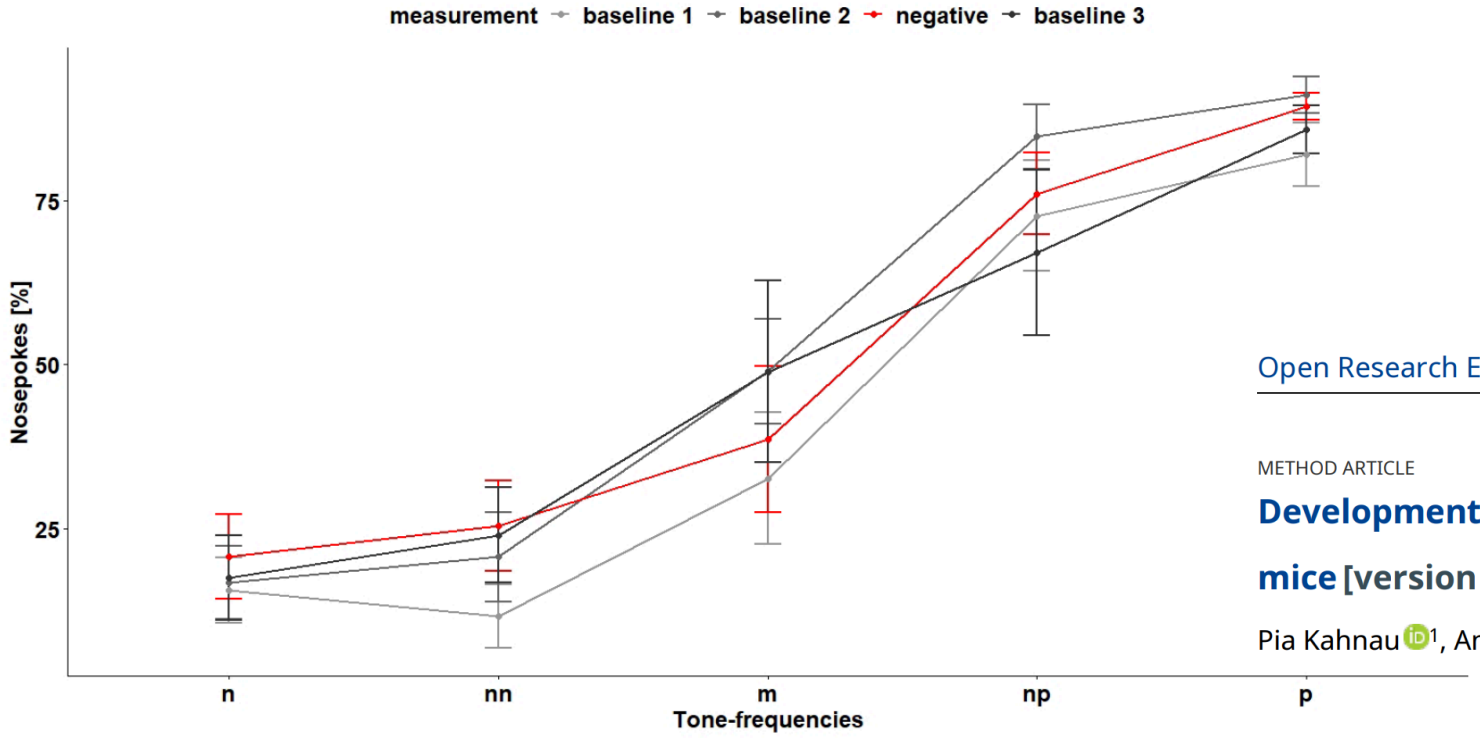
cognitive bias test



BfR

Beispiele für Refinement

Evaluierung von experimentellen Methoden aus der Sicht der Versuchstiere



Open Research Europe

Open Research Europe 2022, 2:128 Last updated: 12 SEP 2023

Check for updates

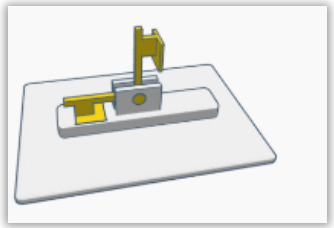
METHOD ARTICLE

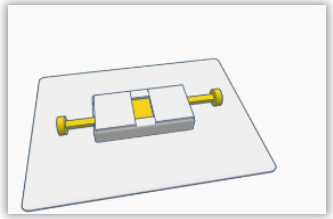
Development of an IntelliCage-based cognitive bias test for mice [version 1; peer review: 2 approved with reservations]

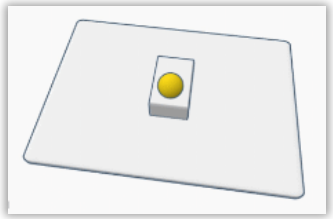
Pia Kahnau[1], Anne Jaap[1], Birk Urmersbach[1], Kai Diederich[1], Lars Lewejohann[1,2]

Figure 14. Cognitive bias test 2. The x-axis shows the tone-frequencies with n = negative tone, nn = near-negative tone, m = middle tone, np = near-positive tone and p = positive tone. The y-axis shows the number of nosepokes in percent made in response to the tone-frequencies. During negative treatment the housing conditions were changed compared to baseline measurement and the mice were restrained daily. n = 9

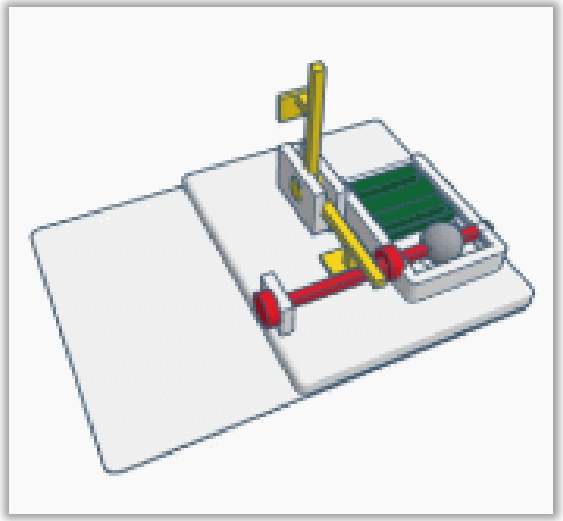
Beispiele für Refinement
kognitive Anreicherung



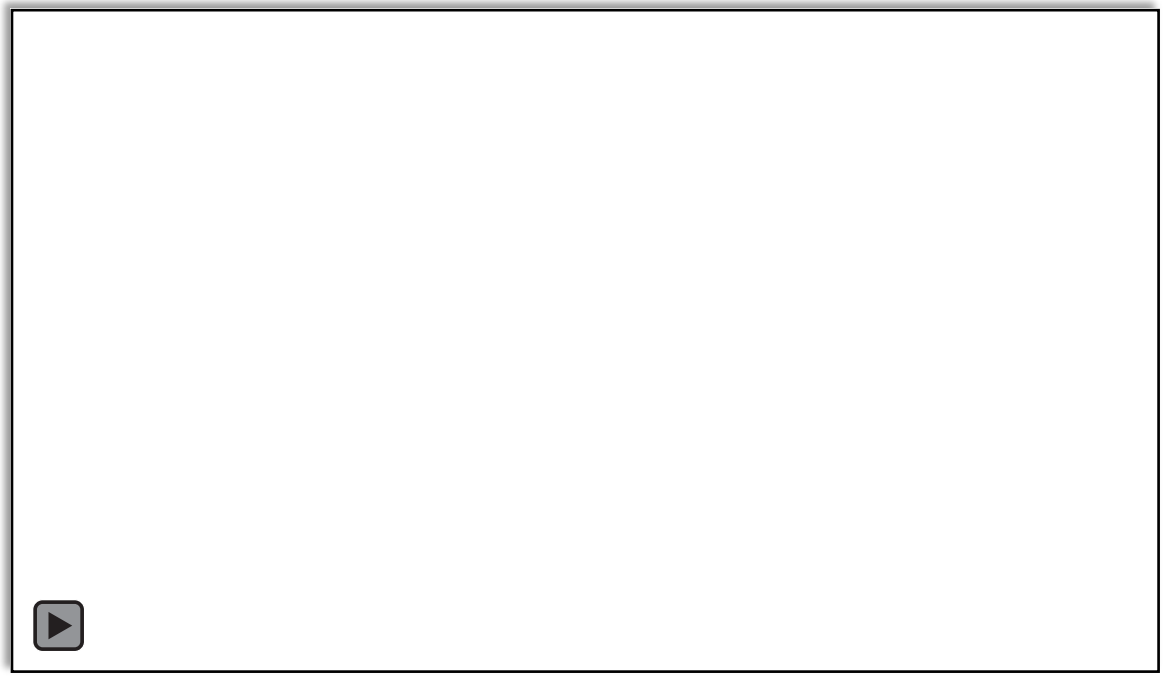








© Katharina Hohlbaum
FG 92 - Versuchstierkunde
Abt. 9 - Experimentelle Toxikologie und ZEBET



Open Research Europe
Open Research Europe 2024, 4:108 Last updated: 09 SEP 2024

Check for updates

RESEARCH ARTICLE

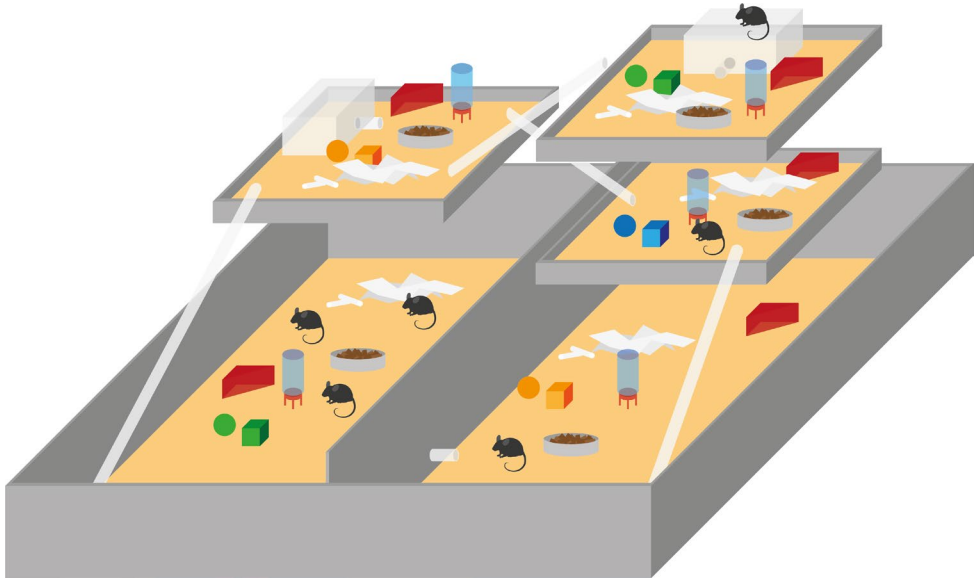
REVISED **Lockbox enrichment facilitates manipulative and cognitive activities for mice [version 2; peer review: 2 approved]**

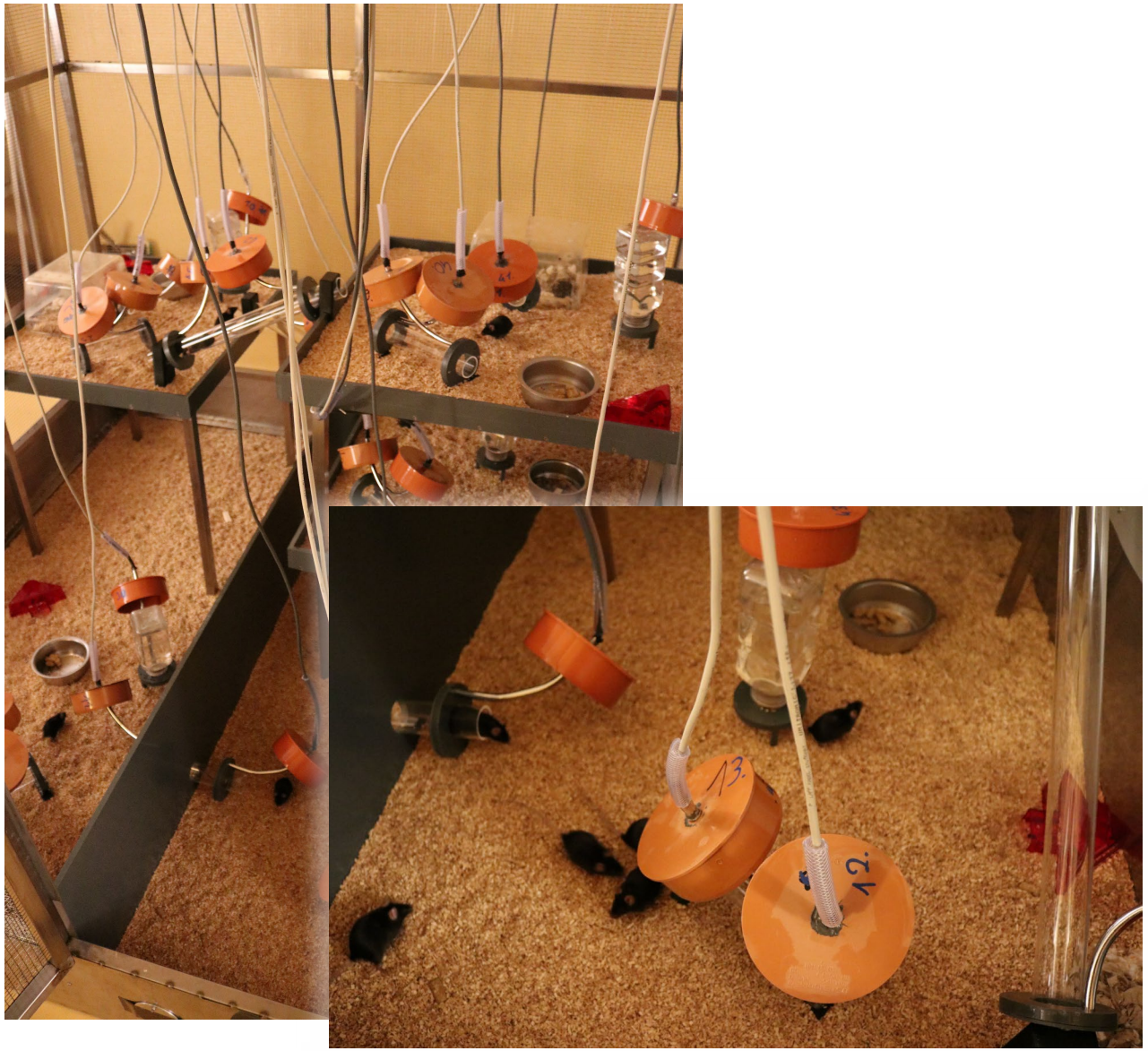
Katharina Hohlbaum[1,2], Niek Andresen[2-4], Paul Mieske[1-3], Pia Kahnau[1], Benjamin Lang[2,3], Kai Diederich[1], Rupert Palme[5], Lars Mundhenk[6], Henning Sprekeler[2,7], Olaf Hellwich[2,4], Christa Thöne-Reineke[2,3*], Lars Lewejohann[1-3*]

Beispiele für Refinement
alternative Haltungsumgebungen





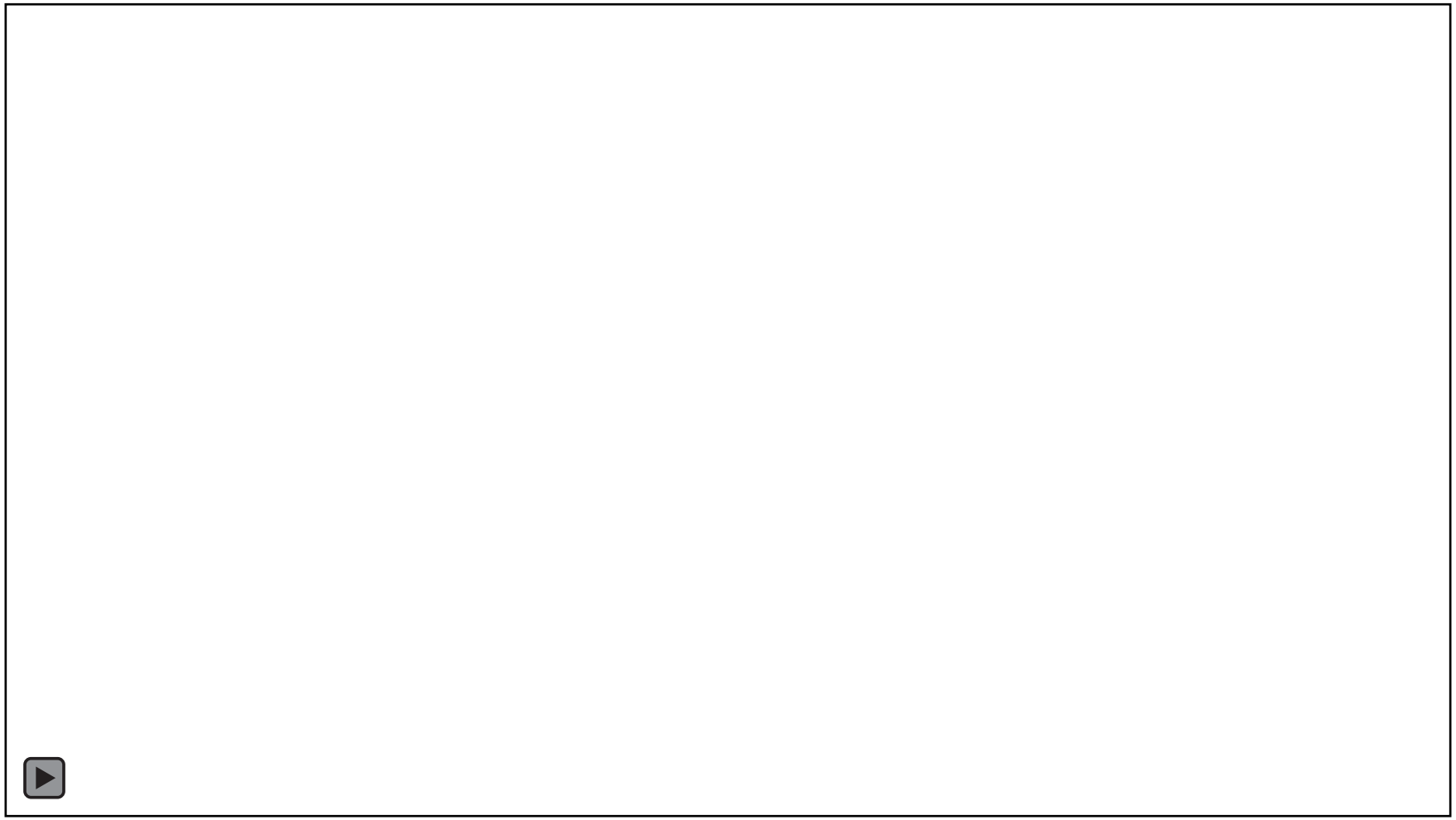




BfR

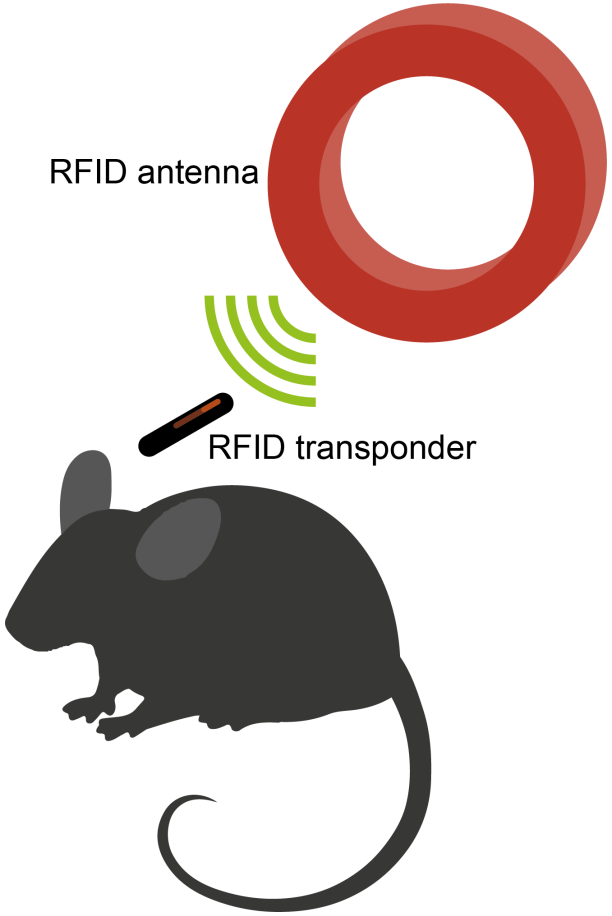
Beispiele für Refinement

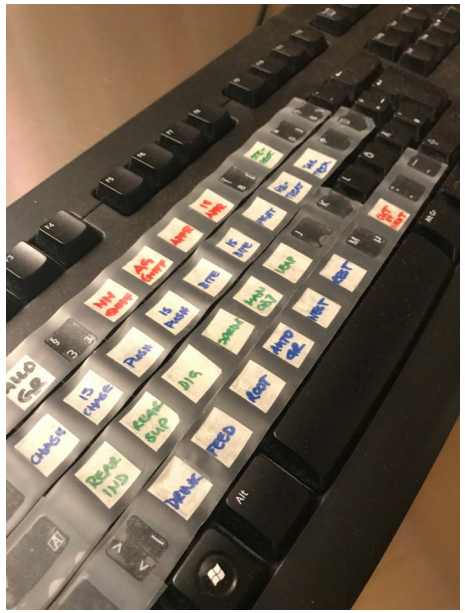
alternative Haltungsumgebungen – **S**emi **N**aturalistic **E**nvironment

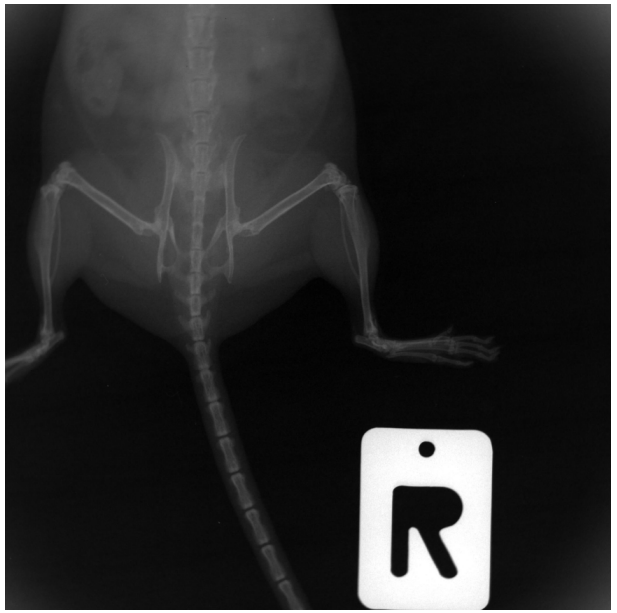


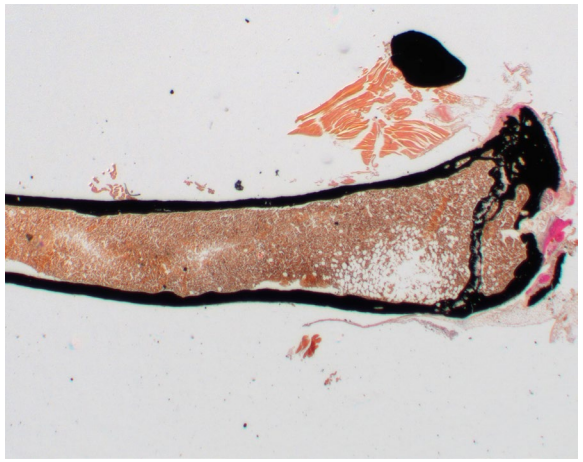
Beispiele für Refinement

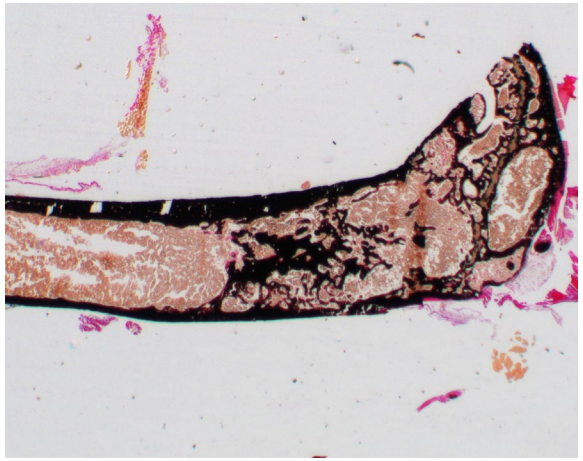
alternative Haltungsumgebungen – **S**emi **N**aturalistic **E**nvironment











BfR

Beispiele für Refinement

alternative Haltungsumgebungen – **S**emi **N**aturalistic **E**nvironment

- SNE Individualverhalten
- weniger (ENR) bis gar kein (SNE) stereotypes Verhalten



animals

MDPI

Article

Roaming in a Land of Milk and Honey: Life Trajectories and Metabolic Rate of Female Inbred Mice Living in a Semi Naturalistic Environment

Paul Mieske [1,*], Kai Diederich [1] and Lars Lewejohann [1,2]

- SNE erhöht Körperlänge und Gewicht
- SNE steigert Knochengesundheit



Mieske et al. Laboratory Animal Research (2023) 39:9
https://doi.org/10.1186/s42826-023-00160-9

Laboratory Animal Research

RESEARCH Open Access

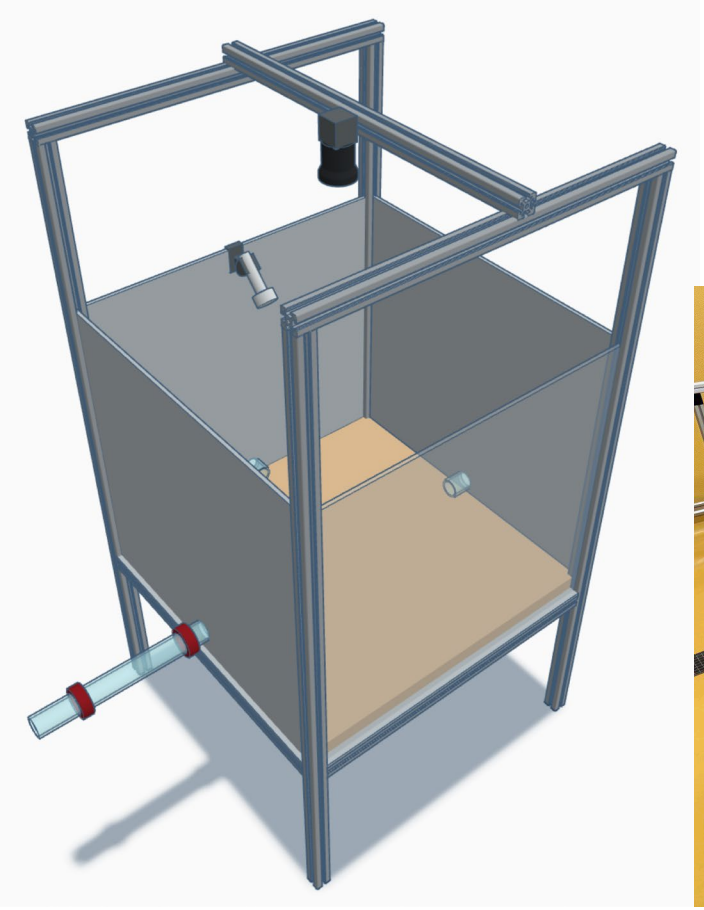
Effects of more natural housing conditions on the muscular and skeletal characteristics of female C57BL/6J mice

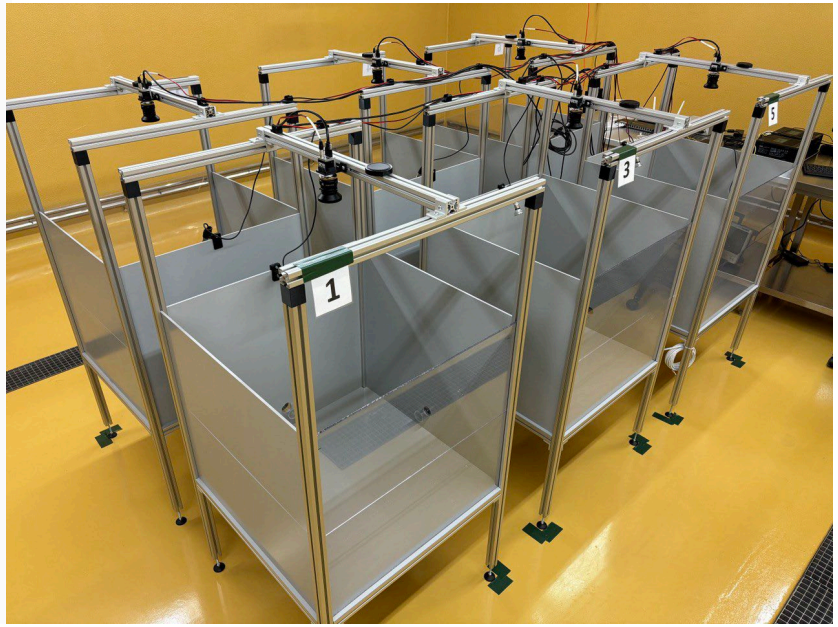
Paul Mieske[1*], Julia Scheinpflug[1], Timur Alexander Yorgan[2], Laura Brylka[2], Rupert Palme[3], Ute Hobbiesiefken[1], Juliane Preikschat[1], Lars Lewejohann[1,4†] and Kai Diederich[1†]

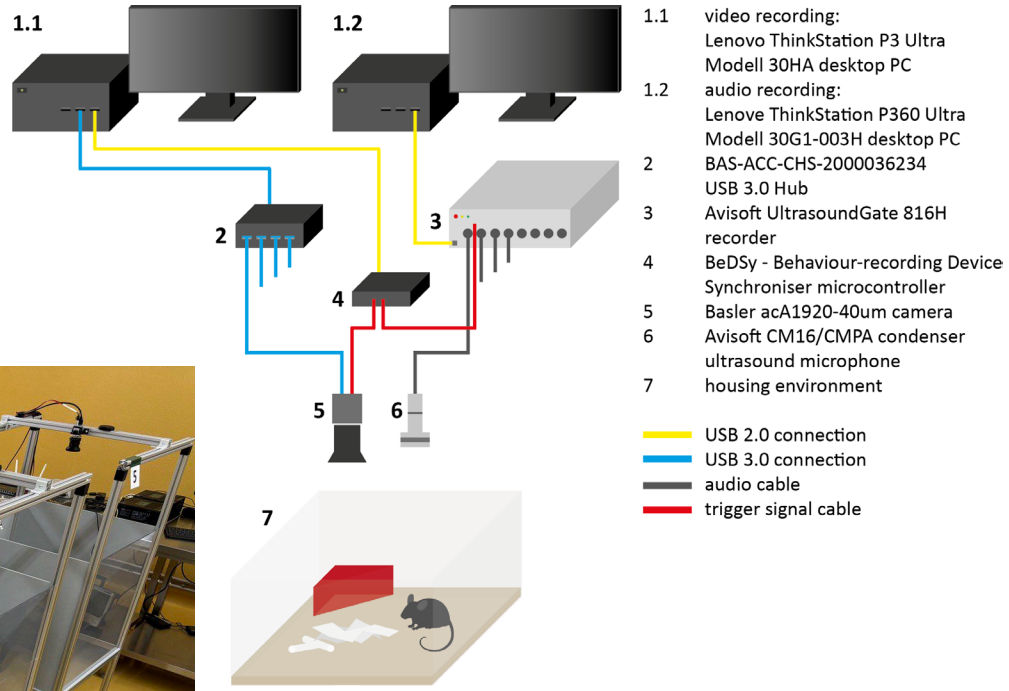
- ENR und SNE erhöhen nicht die Varianz der Versuchsdaten

Ausblick

Anwendung der Erkenntnisse in aktuellen Projekten – der Verhaltenstest aus der Sicht der Versuchstiere

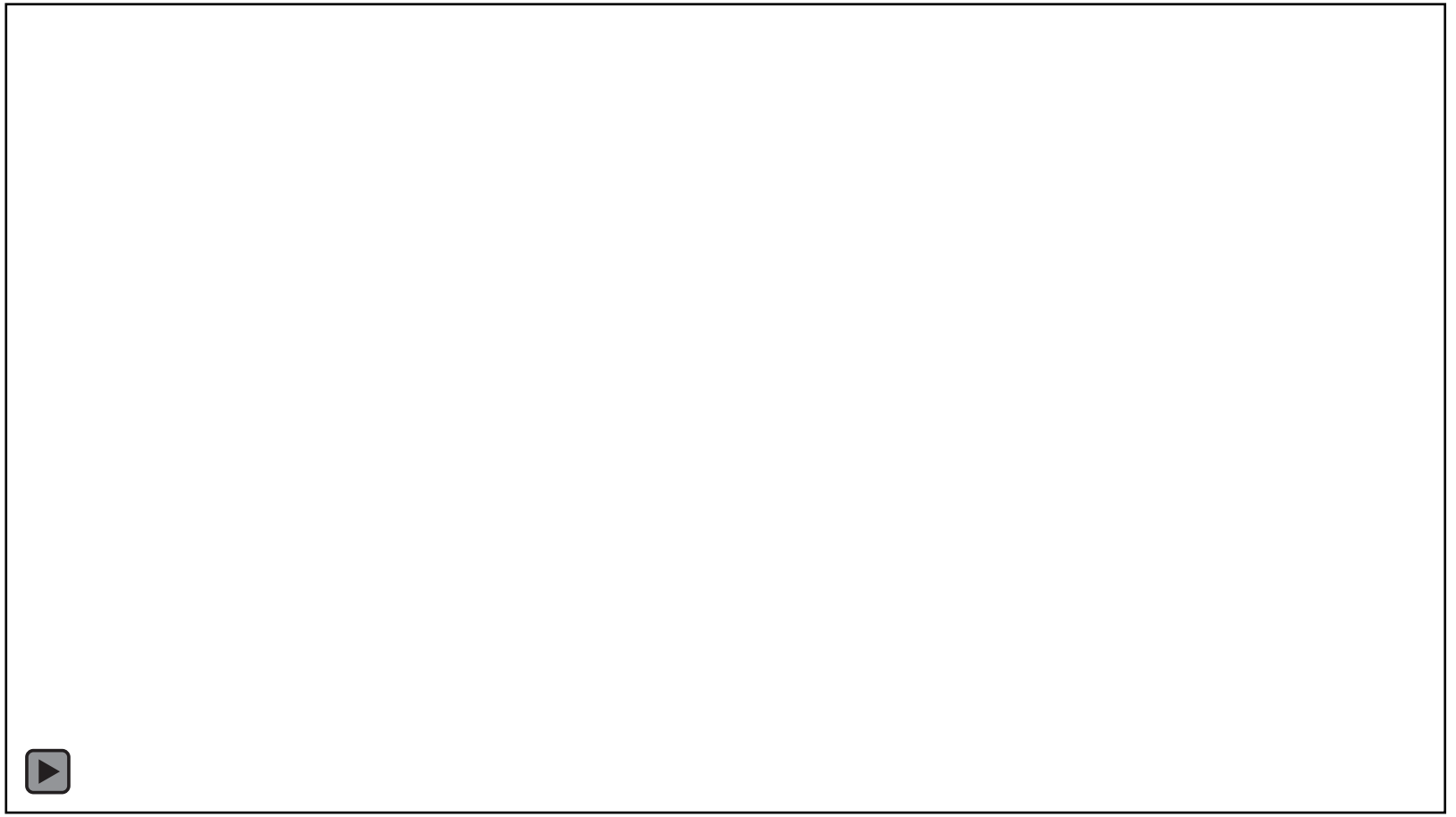






Ausblick

Anwendung der Erkenntnisse in aktuellen Projekten – der Verhaltenstest aus der Sicht der Versuchstiere



Referenzen

- Ullman-Culleré, M. H., & Foltz, C. J. (1999). Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. Comparative Medicine, 49(3), 319-323.
- Langford, D., Bailey, A., Chanda, M. et al. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. Nat Methods 7, 447–449 (2010). https://doi.org/10.1038/nmeth.1455
- Deacon, R. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments. *Nat Protoc* **1**, 936–946 (2006). https://doi.org/10.1038/nprot.2006.120
- Schellinck, H. How many ways can mouse behavioral experiments go wrong? Confounding variables in mouse models of neurodegenerative diseases and how to control them. *Advances in the Study of Behavior* 41, 255–366 (2010). https://doi.org/10.1016/S0065-3454(10)41007-4
- Hurst, J., West, R. Taming anxiety in laboratory mice. Nat Methods 7, 825–826 (2010). https://doi.org/10.1038/nmeth.1500
- Gouveia K, Hurst JL (2013) Reducing Mouse Anxiety during Handling: Effect of Experience with Handling Tunnels. PLOS ONE 8(6): e66401. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066401
- Ghosal, S. et al. Mouse handling limits the impact of stress on metabolic endpoints. Physiol Behav 150, 31–37 (2015). https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.021

Paul Mieske
T +49 30 18412-29205
Paul.mieske@bfr.bund.de

Bundesinstitut für Risikobewertung
bfr.bund.de

BfR | Risiken erkennen –
Gesundheit schützen

Verbraucherschutz zum Mitnehmen

BfR2GO – das Wissenschaftsmagazin des BfR

bfr.bund.de/de/wissenschaftsmagazin_bfr2go.html

Folgen Sie uns

- @bfrde | @bfren | @Bf3R_centre
- @bfrde
- youtube.com/@bfr_bund
- social.bund.de/@bfr
- linkedin.com/company/bundesinstitut-f-r-risikobewertung