

Agressie bij groeps- gehuisveste mannelijke muizen

AGRESSIE
muizen

Ine Adriaensen

Janssen Pharmaceutica, Beerse, België, IADRIAE1@its.jnj.com

Groepshuisvesting is de standaard voor muizen, omdat ze sociale dieren zijn. Agressie onder de in groep gehuisveste mannelijke muizen vereist steeds extra aandacht. Niet alleen wetenschappelijke validiteit kan een discussiepunt worden vanwege de verschillen in resultaten ten gevolge van agressie met hierbij horende stress, ook moeten we over het welzijn van de proefdieren waken. De labmuizen kunnen ten gevolge van de agressie ernstige verwondingen oplopen (wonden en pijn, waarbij de dieren apart gehuisvest en verzorgd moeten worden of in het slechtste geval zelfs geëuthanaseerd moeten worden). Letsel, dood en aparte huisvesting zijn in conflict met de 3V's. Bij Janssen Pharmaceutica maken muizen ongeveer 40% uit van de gebruikte proefdieren, dus moeten we voor dit probleem zeker bijzondere aandacht hebben.

Bij Janssen Pharmaceutica ondersteunt het Laboratory Animal Medicine (LAM) - knaagdieren-team verschillende onderzoeks- & ontwikkelingsprojecten (R&D) binnen de afdeling In Vivo Sciences. Deze groep van biotechnici is verantwoordelijk voor de gezondheidsevaluatie en het dierenwelzijn, huisvesting en praktische ondersteuning bij experimenten (dosering dieren, bloedmonster- en weefselafname, gewichtsbepaling, etc.). Het LAM-team is een belangrijk contactpunt voor dierenwelzijn en altijd op zoek naar nieuwe methoden of innovatieve manieren om het welzijn van proefdieren te verbeteren. Hierbij wordt het team ondersteund door de Dierenwelzijnsceel (de Belgische tegenhanger van de Instantie voor Dierenwelzijn). Bij Janssen Pharmaceutica bestaat deze DWC uit vier groepen: Janssen Enrichment & Environment Committee (JEEC), de Werkgroep Diertechnische Handelingen, de Werkgroep Experimentele Chirurgie en het VET-team, het dierenartsenteam.

Beschrijving van de knaagdierfaciliteit

Groepshuisvesting is de standaard voor sociale dieren zoals muizen en ratten. Er zijn een paar uitzonderingen waarin er individuele huisvesting kan worden toegestaan. Als de dieren »



Afbeelding 1: Individueel gehuisveste muizen worden naast elkaar in het rek geplaatst zodat ze elkaar toch nog kunnen zien.



Afbeelding 2a en b: Muizen met wonden ten gevolge van onderlinge agressie.



afzonderlijk worden geleverd door de leverancier, of indien bij levering al muizen ontvangen worden met verwondingen tengevolge van agressie tijdens het vervoer. Als de studie vereist dat de dieren apart moeten gehuisvest worden moet dit vermeld worden in het ECD-protocol en goedgekeurd door de Ethische Commissie Dierproeven (ECD, de Belgische tegenhanger van de DEC). Als individuele huisvesting vereist is, zijn er extra acties die de onderzoekers en biotechnici kunnen uitvoeren om te voldoen aan het dierenwelzijn. Zo bevelen we aan de kooien met knaagdieren bij voorkeur naast elkaar in plaats van onder elkaar te plaatsen. Muizen reageren duidelijk op beweging buiten hun kooi. Op deze manier hebben ze toch nog een vorm van sociale verrijking (afb.1).

In de dierkamer waar de mogelijkheden voor reductie van onderlinge agressie als eerste werd bestudeerd, worden muizen gehouden in individueel geventileerde kooien (IVC, max. 20 muizen in 1500 cm² kooien), deze kooien worden tweemaal per week verschoond. We huisen hier verschillende stammen, o.a.: Swiss (CD1) C57BL/6N, C57BL6/6J, BALB/c, NOD, SCID, FVB, PGP, PGP wild type, NMRI, NSG, etc. Bovendien, specifiek voor de experimentele opzet, variëren de dieren in leeftijd, bijv. voor Alzheimeronderzoek is veroudering van transgene dieren noodzakelijk. Er is dus een grote verscheidenheid aan muizen gehuisvest in de dierenverblijven, deze variatie aan parameters zorgt ervoor dat we moeten streven naar een aanpak op maat.

Veel agressie

Aanvankelijk was er veel agressie tussen de mannelijke muizen, resulterend in wonden op hun rug, staart en oren. Deze agressie begon al tijdens de acclimatisatieperiode, dus binnen de twee weken na aankomst (afb. 2a en b). Zo'n 35% van de mannelijke, in groep gehuisveste muizen moest vanwege letsel, veroorzaakt door de agressie binnen de groep, individueel worden gehuisvest. Dit is in strijd met de standaardprocedure en voldoet niet aan de dierethische richtlijnen. Deze werkwijze is ook hinderlijk voor het onderzoek: doseringsgroepen die hierdoor opgesplitst moesten worden, namen dan ook weer meer plaats in in de dierkamer. In uitzonderlijke gevallen leidde de agressie tot euthanasie voor dieren die aanzienlijke vechtwondingen hadden (3% van de bestudeerde groep). Naast deze praktische problemen zijn er ook de wetenschappelijke problemen veroorzaakt door de agressie in mannelijke muizen. Sommige dieren vertonen zulke ernstige wonden dat ze niet meer kunnen worden gebruikt in een experiment: zo kon de staart zo ernstig toegenakeld zijn dat het dier niet meer via de staartvene gedoseerd kon worden. Dit had tot gevolg dat er meer dieren in proef moesten genomen worden om voldoende meetgegevens te verkrijgen. Ook is het feit dat een klein deel van de studiedieren individueel is gehuisvest als gevolg van agressie en de andere dieren in groep een extra variabele en dus storende factor in het experiment. Op haar beurt kan dat weer een aanzienlijke invloed hebben op de wetenschappelijke resultaten.

Het doel van het onderzoek was om een manier te vinden om de onderlinge agressie tussen de groepsgehuiste mannelijke muizen te verminderen. Het is bekend dat muizen gevoelig zijn voor geuren en feromonen. Vanuit dit oogpunt werd de bestaande methode van huisvesting en verzorging herbekeken en aangepast.

Wat hebben we veranderd?

1. We hebben de mannelijke en vrouwelijke muizen opgesplitst per geslacht in een IVC rek geplaatst, vooral om het geslachtsverschil zeer zichtbaar te maken voor iedereen die met deze dieren werkte. Ook hebben we een groot helder geslachtssymbool (♂) aangebracht op de rekken zelf (afb. 3).

2. Om geuren van andere lokalen en verschillende kooien onderling uit te sluiten, is het heel >>



Afbeelding 3: Duidelijke documentatie is aangebracht, zodat iedereen op eenzelfde manier met de dieren werkt.



Afbeelding 4a en b: Bij het verschonen wordt het reeds gebruikte nest mee overgenomen in de nieuwe, propere kooi (a) en aangevuld met een extra tissue (b).

belangrijk dat men propere handschoenen aantrekt bij het betreden van het lokaal wanneer men met de muizen gaat werken, en dus geen handschoenen draagt die men in een andere dierkamer heeft gebruikt. Bij het verschonen van de kooien zetten we eerst de mannelijke muizen over en daarna de vrouwelijke muizen. Dit om de geur van vrouwelijke muizen zeker niet mee over te nemen in de mannelijke muizen kooien.

3. Wij gebruiken als standaard kooiverrijking bij de muizen een muishuis en papieren tissues als nestmateriaal. Bij het verschonen van de kooien nemen we de eigen kooigeur mee over door een deel van het gebouwde nest over te zetten in de nieuwe kooi, samen met enkele nieuwe tissues (afb. 4a en b).

4. Belangrijk is om de muizen genoeg nestmateriaal te geven in verhouding tot het aantal muizen, zodat ze er niet enkel op, maar ook tussen en onder kunnen gaan liggen en zo de kans te geven aan de onderdanige muizen om zich visueel af te schermen van en te schuilen voor de dominante muizen (afb. 5a en b). Dat geeft hen ook meer controle op hun omgeving: in het wild zullen de onderdanige muizen verdreven worden en kunnen ze vluchten van de dominante dieren, maar in een kooi kunnen de muizen niet kiezen om weg te vluchten: wij bepalen immers welke muizen samen zitten.

5. Tussen de verschoningsactiviteiten door wordt regelmatig het werkoppervlak proper gemaakt, zeker tussen de twee verschillende seksen door, om zo de geuroverdracht te beperken. Wij gebruiken hiervoor Umonium 38® spray (Laboratoire Huckert's International, Waver, België).

»



*Afbeelding 5:
Het is belangrijk genoeg
nestmateriaal mee te geven in
verhouding tot het aantal dieren
gehuisvest per kooi.
Boven: onvoldoende nest-
materiaal; onder: voldoende
nestmateriaal.*

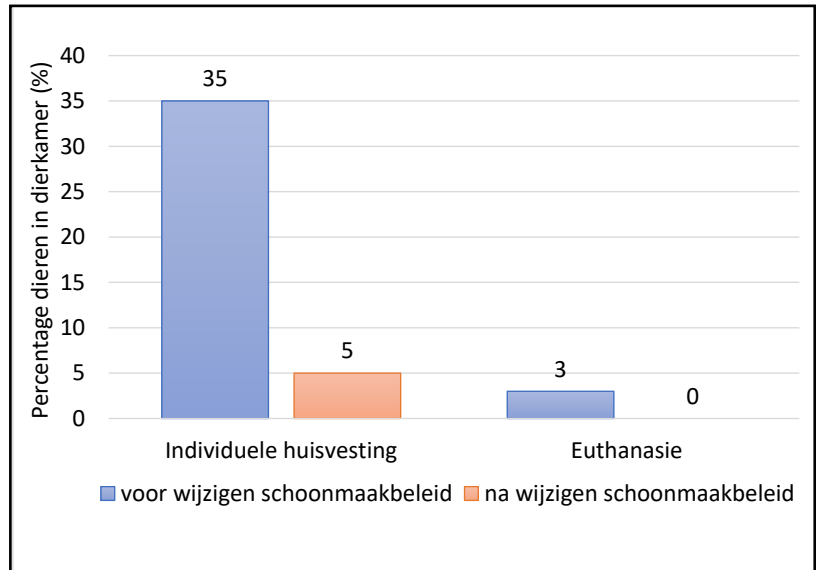


Resultaat

Na een twee- tot drietal maanden was het duidelijk dat we veel minder muizen apart moesten huisvesten wegens agressie: zo'n vijf procent i.p.v. 35 procent van de dieren in voorraad. Het aandeel dieren dat we moesten euthanaseren omwille van te ernstige verwondingen was verminderd van drie procent tot zelfs nul, en dit voor alle stammen opgevolgd gedurende een verblijftijd tot zes maanden (afb.6). Zeer belangrijk om dit te kunnen bereiken is een goede en duidelijk communicatie en afspraken tussen de collega's onderling en een goede documentatie ter plaatse, zodat iedereen op dezelfde manier met deze dieren werkt.

We kunnen besluiten dat uit het resultaat van deze aanpassing blijkt dat het belangrijk is bij muizen om de geur- en de feromonenoverdracht tussen kooien onderling te minimaliseren. En daarnaast om bij verschoning de eigen kooigeur mee over te nemen naar de nieuwe pro-pere kooi. Ook is het belangrijk om geen hergroeperingen meer te doen nadat de muizen al in groepjes ingedeeld zijn bij de levering.

Afbeelding 6:
Mate van agressie voor en
na het introduceren van de
aangepaste werkmethode.



Toepasbaarheid binnen ons onderzoek

We kunnen de toepasbaarheid van deze nieuwe aanpak binnen ons onderzoek bekijken. In onze afdeling Neuroscience wordt er vooral onderzoek uitgevoerd naar behandelingen voor de ziekte van Alzheimer. De onderzoeksprotocollen hierbij schrijven individuele huisvesting voor. De dieren worden om de twee weken verschoond.

Ondertussen had ik een artikel in het Algemeen Dagblad en op de website dementie-winkel.nl gelezen over een project, 'True doors' genaamd. Dit artikel ging over een rusthuis waar er bij de dementerenden een deurstickert met de afbeelding van de voordeur van hun vroegere huis werd gekleefd. Zo konden de dementerende bewoners beter en sneller hun eigen kamerdeur in het rusthuis terugvinden. Dit is gesteund op de kennis dat het lange termijngeheugen bij dementiepatiënten beter is dan het korte termijngeheugen. Doch mensen zijn verschillend van muizen: ze zijn visueel ingesteld, daar waar dieren veel meer op geuren zijn ingesteld dan op hun zicht. Dieren met symptomen van de ziekte van Alzheimer kunnen er ook baat bij hebben om hun eigen kooigeur mee te krijgen en zich zo beter en sneller thuis te voelen in hun nieuwe kooi en zo minder stress te ervaren.

Minder stress kan leiden tot minder variabelen in de onderzoeksresultaten. Vanuit dit oogpunt is het niet onverstandig de hier beschreven werkwijze niet alleen bij groepshuisveste mannelijke muizen toe te passen, maar ook op individueel gehuisveste muizen en groepshuisveste vrouwelijke muizen.

Conclusie

Agressie onder mannelijke muizen is en blijft een heel moeilijk probleem, dat we misschien nooit voor de volle 100% kunnen vermijden bij de groepshuisvesting van mannelijke muizen. Toch blijft de uitdaging om door te gaan met het zoeken naar verbeteringen.

Rekening houdende met het natuurlijk gedrag van de muis, kunnen het uitproberen van andere werkmethode, verschillende ideeën in verband met kooiverrijking, temperatuur, lichtcyclus etc. een positieve invloed hebben op stress en agressie bij muizen.

Agressie verminderen is een doel waar we naar moeten streven, het is onze verantwoordelijkheid om onze dieren een zo aangenaam mogelijk verblijf te geven voor het onderzoek dat zij voor ons mogelijk maken.

«