

Stellungnahme

aus dem Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragte e.V.

zu Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen für Labornagetiere im Hinblick auf geplante Versuchs- vorhaben

Stand: 27. Januar 2023

Autoren:

Theres Manthey, Martin Kock, Tanja Schmidt,
Mechthild Wiegard, Nancy Erickson, Kristina Ullmann

Inhaltsverzeichnis

1. Hintergrund	- 3 -
2. Stellungnahme	- 3 -
2.1 <i>Begriffsdefinitionen.....</i>	<i>- 3 -</i>
2.2 <i>Zweck von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen</i>	<i>- 4 -</i>
2.3 <i>Planung von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen</i>	<i>- 5 -</i>
2.4 <i>Inhalte und Methoden von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen</i>	<i>- 5 -</i>
2.5 <i>Erfolg von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen.....</i>	<i>- 6 -</i>
3. Fazit	- 7 -
Literatur	- 7 -
Veröffentlicht.....	- 8 -
Impressum	- 8 -

Diversität und Gleichbehandlung

In diesem Dokument werden entweder die maskuline oder die feminine Form gewählt. Dies geschieht im Sinne einer besseren Lesbarkeit und impliziert in keinem Fall eine Benachteiligung des jeweils anderen Geschlechts.

1. Hintergrund

Mit Änderung des Tierschutzgesetzes (TierSchG) vom 10. August 2021 und der Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV) vom 11. August 2021 werden im Rahmen von Tierversuchsanträgen gemäß § 7 Abs. 1 Satz 2 Nr. 1 c TierSchG i.V.m. § 31 Abs. 1 Satz 2 Nr. 1 k TierSchVersV Angaben zu Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen der Tiere auf geplante Versuchsvorhaben gefordert. Diese Änderung galt der rechtmäßigen Umsetzung der Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere, in der es heißt „Die Einrichtungen stellen Eingewöhnungs- und Trainingsprogramme auf, die für die Tiere, die Verfahren und die Dauer des Projekts geeignet sind.“ Gemäß der TierSchVersV sind derartige Programme Bestandteil des Antrags und damit Teil des Tierversuchs.

2. Stellungnahme

Da die Durchführung eines Tierversuchs spezifisch im Hinblick auf die wissenschaftliche Fragestellung gestaltet ist, muss folglich auch ein vorbereitendes Eingewöhnungs- und Trainingsprogramm der Versuchstiere individuell auf den jeweiligen Versuch und dort angewandte Methoden und Eingriffe zugeschnitten sein. Studien zeigen, dass Versuche mit Tieren, die weniger Stress ausgesetzt sind, Daten mit höherer Qualität liefern, wodurch versuchsvorbereitende Maßnahmen zur guten wissenschaftlichen Praxis beitragen können¹³. Der Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragter stellt allerdings fest, dass zu Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen, besonders für spezielle Methoden oder Eingriffe, wie sie oftmals in Tierversuchen durchgeführt werden, nur wenig Literatur speziell für Labornagetiere verfügbar ist.

2.1 Begriffsdefinitionen

Der Begriff **Eingewöhnung** oder **Gewöhnung*** beschreibt das Vertraut-werden der Tiere an jemanden oder etwas; die Anpassung an eine bestimmte Situation. Diese sogenannte Habituation bezeichnet in der Lern- und Gedächtnisforschung das besonders in der Tierwelt bekannte Verhaltensphänomen der Abnahme der Reaktionsbereitschaft auf wiederholt dargebotene eines Reizes¹¹. Der wiederholte Stimulus wird vom ZNS als unwichtig eingeordnet, sodass eine Reaktion auf den Reiz unterbleibt. In der Versuchstierkunde findet eine Habituation vor allem als Gewöhnung an einen neuen Handlungsstandort oder an sanfte Handlingmethoden wie Tunnelhandling⁴ oder Cupping⁴ statt.

Der Ausdruck **Training*** hingegen steht für die planmäßige Durchführung eines Programms von vielfältigen Übungen zur Ausbildung von Können, Stärkung der Kondition und Steigerung der Leistungsfähigkeit. In der Literatur sind diesen Kriterien folgend nur vereinzelt Trainings für Nagetiere beschrieben und evaluiert. Ein Beispiel für bereits erfolgreich durchgeführte Trainingsprogramme bei Nagern ist das sogenannte Klickertraining¹⁰.

Die mutmaßliche Intention des Gesetzgebers ist es, mit Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen die Belastung der Tiere im Versuch zu verringern. Diesem Ziel wird, im Zusammenhang mit Nagern, die Gewöhnung am ehesten gerecht.

Auf Basis der aktuellen Publikationslage und unter Einbeziehung der eigenen Erfahrungen stellt der Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragter daher fest, dass bei der Planung von versuchsvorbereitenden Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen für Nagetiere der

* Die Begriffsbestimmung erfolgte nach Definition von [Oxford Languages](https://www.oxfordlanguages.com/).

Schwerpunkt auf der Gewöhnung der Tiere liegen sollte. Daher werden im Folgenden insbesondere Gewöhnungsprogramme erläutert.

2.2 Zweck von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen

Ziel einer Versuchsvorbereitung ist es, den Versuchstieren eine Gewöhnung an den Menschen, an Handling und Fixierung sowie an das experimentelle Setting und angewandte Methoden und Eingriffe zu ermöglichen. Untersuchungen geben Hinweise auf die Reduzierung von Stress durch das Umsetzen von Mäusen mittels Tunnel⁴ oder Cupping⁴, Klickertrainings¹⁰ oder das sogenannte „Kitzeln“ von Ratten⁹. Tunnelhandling und Cupping von Mäusen sowie das spielerische Handling von Ratten scheinen sogar nachhaltig den Stress bei nachfolgenden Eingriffen zu reduzieren^{2,6,7}, was darauf hindeutet, dass versuchsvorbereitende Eingewöhnung maßgeblich zur Stressreduzierung im nachfolgenden Tierversuch beitragen kann.

Neben der Gewöhnung an das Handling selbst sollte das Versuchstier auch an die experimentelle Umgebung sowie an Methoden und Eingriffe, die das Tier im nachfolgenden Versuch erfährt, gewöhnt werden¹.

Positiv hervorzuheben ist, dass vorbereitende Eingewöhnungsprogramme auch die Durchführenden im Handling der Tiere und den vorzunehmenden Methoden schulen, was sekundär zusätzlich zur Stressminimierung im Tierversuch beitragen kann. An dieser Stelle sei wiederholt, dass nach derzeitiger internationaler Datenlage kaum Erkenntnisse zu Trainings im eigentlichen Sinne zu speziellen Methoden und Eingriffen bei Labornagetieren vorliegen.

Das vorbereitende Gewöhnungsprogramm ist eine neue Situation für die Versuchstiere und kann somit zu Beginn eine Herausforderung für das Einzeltier darstellen. Der Gesetzgeber fordert Eingewöhnungen und Trainings, um die Gesamtbelastung der Versuchstiere während ihres Lebens zu reduzieren. Folglich ist ein Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramm nur dann angemessen, wenn sichergestellt ist, dass die Herausforderungen des Trainings eine wesentlich geringere Belastung darstellen als der sich anschließende Versuch. Das mehrfache Trainieren eines im tatsächlichen Versuch nur einmalig durchgeführten Eingriffs würde eine höhere Belastung für das Tier darstellen als die Intervention an sich. Dies widerspräche dem 3R Prinzip und wäre nicht im Sinne des Tierschutzes. Das Gewöhnungsprogramm sollte dazu führen, dass im folgenden Versuch weniger Belastungen bei den gewöhnten Tieren entstehen als bei einer Versuchsdurchführung ohne Gewöhnungsprogramm. Darüber hinaus darf ein Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramm nicht das Erreichen des Versuchsziels gefährden.

Entsprechend sollte vor der Planung und Durchführung eines Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramms die Verhältnismäßigkeit abgewogen werden und dabei insbesondere Art und Alter der Tiere, Art und Häufigkeit der Eingriffe und Behandlungen und die Dauer der Versuchsdurchführung Berücksichtigung finden. Eingewöhnungs- und besonders Trainingsprogramme eignen sich daher hauptsächlich für adulte Tiere, die in mittel- und längerfristigen Versuchen verwendet werden, in denen wiederholt gleichartige Verfahren stattfinden.

Finden gleiche Eingriffe wiederholt im Versuch statt, kann zudem unter Umständen *per se* ein Gewöhnungseffekt während der Versuchsdurchführung selbst erwartet werden. In diesem Fall kann die Gewöhnung auch direkt im Rahmen der Versuchsdurchführung stattfinden, was dazu beiträgt, die Zahl der Eingriffe im Gesamten zu reduzieren und die kumulative Belastung somit zu verringern.

2.3 Planung von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen

Pläne zu Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen legen Ziele fest und erläutern, wie diese Ziele erreicht werden sollen.

Wichtig ist, dass bei jedem Programm die Individualität der Einzeltiere bedacht wird. Natürlicherweise reagieren die einzelnen Individuen unterschiedlich auf die durchgeführten Programmeinheiten. So kann die gleiche Methode bei einem Tier Neugier und Aufgewecktheit hervorrufen, bei einem anderen Tier aber aversives Verhalten. Daraus resultiert, dass die Dauer einer einzelnen Trainingseinheit wie auch die Gesamtdauer des Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramms individuell unterschiedlich sind, da das Einzeltier sich unterschiedlich schnell an angewandte Methoden und Eingriffe gewöhnt.

Das spontane Reagieren der Durchführenden auf die Verhaltensweisen, die das individuelle Tier anbietet, ist Grundlage für jedes zweckmäßige Programm. Ein Gewöhnungsprotokoll sollte daher den Rahmen für die Gewöhnung skizzieren. In diesem sollten zur Orientierung für den Durchführenden Ziele der Gewöhnung und Richtwerte für Dauer und Frequenz von Kontakteinheiten benannt werden. Bei komplexen Gewöhnungszielen oder für eher unerfahrene Durchführende kann die Benennung von Zwischenzielen und Unterbrechungskriterien sinnvoll sein. In jedem Fall ist zu beachten, dass ein Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramm ein empathischer und individueller Prozess für das Nagetier wie auch für die Durchführenden ist, der nicht durch zu hohe Detailtiefe mit strikten Zeitintervallen behindert werden darf.

2.4 Inhalte und Methoden von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen

Versuchsvorbereitende Maßnahmen wie Eingewöhnungsprogramme oder versuchsspezifisches Training müssen an die im nachfolgenden Tierversuch geplanten Methoden und Eingriffe und dem natürlichen Verhalten der Tiere angepasst sein. Müssen Tiere an mehrere Methoden und Eingriffe gewöhnt werden, ist es empfehlenswert, das Gewöhnungsprogramm schrittweise durchzuführen.

- 1. Gewöhnung an den Handlungsstandort**
Habituation an die Haltungsumgebung.
- 2. Gewöhnung an das Handling**
Z.B. Tunnel-Umsetzen, Cupping oder leichte Handling-Übungen mit Beschnupern und sanften Fixierungen ohne Zwang.
- 3. Gewöhnung an das experimentelle Setting**
Die im Versuch zu nutzenden Materialien werden dem Tier zur zwanglosen Erkundung angeboten.
- 4. Gewöhnung an geplante Methoden und Eingriffe**
Das Tier wird sanft mit geplanten Methoden und Eingriffen vertraut gemacht. Gut geeignet für ein Gewöhnungsprogramm sind bei Labornagetieren bspw. das Handling selbst oder Fixiergriffe für Injektionen.

Es empfiehlt sich, den Beginn in oder mit der bereits gewohnten Haltungsumgebung (z.B. Home Cage) durchzuführen und mit fortschreitenden Programminhalten die Umgebung um das experimentelle Setting sowie durch Gewöhnung an die geplanten Methoden und Eingriffe zu erweitern.

Sofern keine Gründe entgegenstehen, können sich bei Nagetieren unter Umständen auch **Hilfsmittel** wie Tunnel oder griffige Unterlagen als nützlich erweisen, da diese den Tieren Halt und Sicherheit vermitteln⁵. Mullstoffe oder ähnliche Materialien bieten durch eine texturierte Oberfläche Halt und sind autoklavierbar.

Zur Verbesserung des Erfolgs können sogenannte **positive Verstärker** eingesetzt werden. Diese stellen Methoden dar, die durch Aktivierung des Belohnungssystems im Gehirn den positiven Effekt erhöhen. Dazu gehören z.B. Klicker, Futterbelohnungen, wie z.B. kalorische Futtermittel bei Mäusen¹⁴ oder Belohnung durch Zuwendung, wie z.B. das sogenannte „Kitzeln“ von Ratten⁹. Sie können ebenfalls zur Stressreduzierung beitragen. Die positiven Verstärker müssen allerdings auf die jeweilige Tierart und das Programmziel angepasst werden. Ihr Einsatz darf nur dann erfolgen, wenn ein Einfluss ihrer Anwendung auf die Versuchsergebnisse sicher ausgeschlossen werden kann.

Insbesondere Futterbelohnungen können schon in der Vorbereitung der Tiere auf den Versuch Auswirkungen auf das spätere Versuchsziel besitzen. Sie können bspw. das Mikrobiom, die Verstoffwechslung von Arzneimitteln oder den Stoffwechsel selbst nachteilig für den Versuch beeinflussen^{3, 8, 15}. In solchen Fällen kann es angezeigt sein, während der Versuchsdurchführung keine Futterbelohnung zu geben, um das Versuchsziel nicht zu beeinträchtigen. Das Vorenthalten einer aus der Eingewöhnungs- oder Trainingsphase gewohnten Futterbelohnung während der Versuchsdurchführung kann jedoch eine negative Erfahrung für die Tiere sein und wird daher nicht empfohlen^{12, 14}.

Es sollte ebenfalls bedacht werden, dass positive Verstärker unter Umständen im nachfolgenden Tierversuch nicht den gleichen Effekt bewirken wie in der Eingewöhnungs- oder Trainingsphase. So ist es möglich, dass eine Futterbelohnung in der Vorbereitung gut angenommen, im eigentlichen Tierversuch jedoch aufgrund weiterer Faktoren wie einem Schmerzreiz abgelehnt wird.

Um Labornagetiere erfolgreich zu gewöhnen, müssen Ziele identifiziert, Methoden etabliert und Hilfsmittel evaluiert werden. Dies ist ein aufwendiger, kreativer und dynamischer Prozess, der im besten Fall kontinuierlich überprüft und angepasst wird. In Versuchsvorhaben reduzieren standardisierte Bedingungen die Varianzen der Ergebnisse und tragen dadurch signifikant zur Reduzierung von Tierzahlen bei. Komplexe Trainingsmethoden und -ziele sowie Hilfsmittel sollten daher vor dem Einsatz im Tierversuch entsprechend etabliert sein.

2.5 Erfolg von Eingewöhnungs- und Trainingsprogrammen

Wir weisen darauf hin, dass es in individuellen Fällen trotz umfangreicher Gewöhnung dazu kommen kann, dass ein Tier nicht die gewünschten Reaktionen zeigt. Solange ein Labornagetier keine eindeutigen aversiven Reaktionen zeigt, die zur Gefährdung des Tieres oder des Versuchsdurchführenden führen können, ist allerdings im Sinne der 3R abzuwägen, das Tier dennoch im Tierversuch einzusetzen, um die Anzahl der Versuchstiere wie auch die Zahl nicht verwendbarer Tiere auf das unerlässliche Maß zu reduzieren.

Auch während des Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramms kann es zu unerwünschtem Verhalten kommen. Eine unerwünschte Reaktion ist, wie oben beschrieben, im angemessenen

nen Maße zu tolerieren, um das Tier mit zunächst ungewohnten Situationen vertraut zu machen bzw. den nächsten Gewöhnungsschritt einzuleiten. Ein schrittweises Vorgehen dient der Reduktion dieser erwartbaren, unerwünschten Reaktionen, kann diese aber nicht gänzlich ausschließen. Als unerwünschtes Verhalten ist bspw. das Ausweichen vor dem Tunnel, dem mit einem Geleiten der Maus mit der Hand in Richtung des Tunnels begegnet wird, tolerabel. Ebenfalls kann ein leichtes Winden oder Zucken des Tieres bei der Gewöhnung an den Nackengriff toleriert werden, wenn diese Reaktion nur wenige Sekunden andauert.

3. Fazit

Zusammenfassend stellt der Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragter fest, dass Eingewöhnungs- und Trainingsmethoden stets individuell auf geplante Methoden und Eingriffe im Versuch angepasst sein müssen. Bei Labornagetieren liegt der Fokus der Programme auf der Gewöhnung. Die Trainierenden benötigen hierbei genügend Flexibilität, um auf die vom Tier angebotenen Verhaltensweisen im Sinne des Tieres und der Programmziele spontan reagieren zu können. Die grundlegende Voraussetzung für die Durchführung eines Eingewöhnungs- oder Trainingsprogramms sollte darin bestehen, dass durch dieses die Belastung des Tieres im Versuch mit hoher Wahrscheinlichkeit geringer ist als die untrainierte Versuchsdurchführung.

Literatur

1. Conour LA, Murray KA, Brown MJ (2006): **Preparation of Animals for Research—Issues to Consider for Rodents and Rabbits.** *ILAR Journal* 47: 283–293.
2. Cloutier S, Wahl KL, Panksepp J, Newberry RC (2015): **Playful handling of laboratory rats is more beneficial when applied before than after routine injections.** *Applied Animal Behaviour Science* 164: 81-90.
3. Evan CL, Westermakr AM, Zhang Y, Yuan C, Li Z, Lau AN, Sapp KM, Wolpin BM, van der Heiden MG (2020): **Low glycaemic diets alter lipid metabolism to influence tumour growth.** *Nature* 599: 302-307.
4. Gouveia K and Hurst JL (2019): **Improving the practicality of using non-aversive handling methods to reduce background stress and anxiety in laboratory mice.** *Scientific Reports* 9:2030.
5. Hawkins P, Armstrong R, Boden T, Garside P, Knight K, Lilley E, Seed M, Wilkinson M, Williams RO (2015): **Applying refinement to the use of mice and rats in rheumatoid arthritis research.** *Inflammopharmacol* 23: 131-150.
6. Henderson LJ, Dani B, Serrano EMN, Smulders TV, Roughan JV (2020): **Benefits of tunnel handling persist after repeated restraint, injection and anaesthesia.** *Scientific Reports* 10: 14562.
7. Hurst JL, West RS (2010): **Taming anxiety in laboratory mice.** *Nature Methods* 7: 825-826.
8. Kim JK, Choi MS, Jeong JJ, Lim SM, Kim IS, Yoo HH, Kim DH (2018): **Effect of probiotics on pharmacokinetics of orally administered Acetaminophen in mice.** *Drug Metab Dispos* 46: 122-130.
9. LaFollette MR, Cloutier S, Brady CM, O’Haire ME and Gaskill BN (2020): **Changing Human Behavior to Improve Animal Welfare: A Longitudinal Investigation of Training Laboratory Animal Personnel about Heterospecific Play or “Rat Tickling”.** *Animals* 10: 1435.

10. Leidinger C, Herrmann F, Christa Thöne-Reineke C, Baumgart N, Baumgart J (2017): **Introducing Clicker Training as a Cognitive Enrichment for Laboratory Mice.** *Vis Exp* 121:55415.
11. Liang JH, Cole BE, Rankin CH (2019): **Habituation.** *Encyclopedia of Animal Behavior*, 2nd Edition: 411-422.
12. Muñoz-Escobar G, Guerrero-Vargas NN, Escobar C (2019): **Random access to palatable food stimulates similar addiction-like responses as a fixed schedule, but only a fixed schedule elicits anticipatory activation.** *Sci Rep* 9: 18223.
13. Schapiro SJ and Everitt JI (2006): **Preparation of Animals for Use in the Laboratory: Issues and Challenges for the Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC).** *ILAR Journal* 47: 370–375.
14. Sharma S, M F Fernandes MF, S Fulton S (2013): **Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal.** *Int J Obes* 37: 1183-91.
15. Zhang X, Han Y, Huang W, Jin M, Gao Z (2021): **The influence of the gut microbiota on the bioavailability of oral drugs.** *Acta Pharm Sin B* 7: 1789-1812.

Veröffentlicht

vom Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragte e.V. und erarbeitet durch
Dr. Theres Manthey, Deutsches Rheuma-Forschungszentrum Berlin
Dr. Kristina Ullmann, Nuvisan ICB GmbH
Dr. Tanja Schmidt, Nuvisan ICB GmbH
Dr. Mechthild Wiegard, Freie Universität Berlin
Dr. Nancy Erickson, PhD, Robert Koch-Institut
Dr. Martin Kock, Bayer AG

Impressum

Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragte e.V.
c/o
Dr. Sarah Jeuthe
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin in der Helmholtz-Gemeinschaft
Robert-Rössle-Straße 10
13125 Berlin-Buch

E-Mail: info@ak-tierschutzbeauftragte.berlin