

Buizen voor muizen!

Elke Schmitz¹, Noa van Leuffen¹, Pascal van Loo² en Wim de Leeuw²

¹ Uitvoerende onderzoekers, stagiaires van de Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht en studenten aan de Hogeschool van Hall Larenstein te Leeuwarden, Nederland

² Leden van de Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht, Nederland

E-mailadres: info@ivd-utrecht.nl

Internationaal bevestigd onderzoek van prof Jane Hurst (UK) heeft aangetoond dat de muis hanteren met behulp van een buis in plaats van aan de staart een positieve invloed heeft op het welzijn van de muis. Wanneer een muis niet gehanteerd wordt aan de staart maar met behulp van een buis laat het een verminderde stress respons zien in zowel gedrag als de interne fysiologie. Er is echter niet veel bekend over het praktische aspect van het toepassen van het hanteren van muizen met buizen en welke factoren hier een invloed op hebben. Dit vormde de kern van het hier beschreven onderzoek. Uit de resultaten blijkt dat de training van de muizen invloed heeft op de tijd die nodig is om de muizen over te zetten met een buis. Er moet rekening mee gehouden worden dat wanneer de dieren niet worden getraind in het weekend dit een terugslag geeft in het leerproces van de muizen. Daarnaast heeft mogelijk het wel of niet toevoegen van de buis als kooiverrijking en de leeftijd van de dieren invloed op het leerproces. De hanteermethode aan de staart kost in vergelijking met de buismethode de minste tijd. De hanteermethode waarbij de muizen en de biotechnici ongetraind waren in het overzetten met de buis kostte de meeste tijd. Na training van de biotechnici en de muizen gedurende negen dagen lang wordt het verschil veel kleiner. De individuele welzijnscontrole kan tijdens het overzetten met de buis op verschillende manieren uitgevoerd worden. De biotechnici waren bij de ene methode niet sneller dan bij de andere maar hadden voorkeur voor het gebruik van bepaalde methoden.

Trefwoorden: muis, gedrag, welzijn, hanteren, stress, non-invasieve hanteermethode, hanteren aan de staart, hanteren met een buis.

Het hanteren van muizen aan de staart wekt bij de dieren een stressrespons op¹. Deze techniek is echter in de meeste laboratoria nog steeds gebruikelijk. Reden hiervoor ligt grotendeels bij het praktische aspect van het gebruik van deze techniek. Of hanteren met behulp van een buis praktisch toepasbaar is, werd de kern van dit onderzoek. Het hoofddoel in dit onderzoek was om te achterhalen na hoeveel dagen de muizen gewend zijn aan het hanteren door middel van de buis. Daarnaast werd er gekeken of het toevoegen van de buis als kooiverrijking invloed had op de tijd die de muizen nodig hadden om gewend te raken aan het hanteren met behulp van de buis. Tot slot werd er achterhaald hoe de biotechnici reageerden op de hanteertechniek met de buis, op de welzijnscontroles en of zij verschillen merkten tussen de getrainde en ongetrainde muizen.

Materiaal en methoden

Dieren Voor dit onderzoek zijn 65 C57BL/6J OlaHsd muizen ingezet. Omdat er enkel gebruik was gemaakt van surplus muizen waren deze van verschillende leeftijden en geslacht. Bij aanvang van het experiment was 1/3 van de gebruikte muizen ongeveer zeventien weken oud, deze

worden later benoemd als “moeders”. Daarnaast was 2/3 van de gebruikte muizen ongeveer vijf weken oud. Dit waren de nakomelingen van de “moeders”, zij werden op basis van hun geslacht verdeeld over de groepen “jonge mannen” en “jonge vrouwen”. De dieren werden per drie (en één groep van twee) gehuisvest in open kooien en hadden een twaalf uur licht/ twaalf uur donker ritme waarbij het licht om zeven uur ‘s ochtends, na een schermerperiode van tien minuten, aan ging. Alle dieren hadden ad libitum toegang tot voeding en water. Er was voor alle kooien een doorzichtige plexiglas buis (lengte 15 cm, diameter 5 cm) aanwezig waarmee de muizen werden gehanteerd. Naast tissues kreeg de ene helft van de muizen deze buis aangeboden als kooiverrijking. De andere helft kreeg een kunststof huis in de kooi. Het type kooiverrijking werd gerandomiseerd over de verschillende leeftijdsgroepen en geslachten toegewezen.

Proefopzet Tijdens het indelen van de muizen in experimentele kooien zijn verwante muizen zo veel mogelijk bij elkaar geplaatst om kans op onderlinge agressie te minimaliseren. Eén kooi stond gelijk aan één onderzoekseenheid. Zestig muizen (20 kooien) werden ingezet voor het experiment. Daarnaast waren er nog twee



Figuur 1, globaal overzicht van het experiment.

kooien met in totaal vijf muizen (“educatieve muizen”) die gebruikt werden voor het oefenen van de techniek met de buis, het opstellen van de camera en overige technische aspecten.

In de acclimatisatieperiode van acht dagen hanteerden de onderzoekers afzonderlijk van elkaar beiden de twee bakken met de vijf educatieve muizen dagelijks drie maal per persoon met de buis om de techniek voor aanvang van het experiment te beheersen. Van de experimentele groepen werden in deze week de jongere muizen dagelijks en de moeders om de dag aan de staart gehanteerd om te compenseren voor de gewenning die de moeders hadden opgedaan met het overzetten met de staart in het voorgaande onderzoek.

Alle metingen en trainingen vonden plaats in een aanliggende ruimte waardoor er maar één kooi tegelijkertijd aanwezig was in de meetruimte. Het hanteren werd opgenomen met behulp van een camera. Alle biotechnici en beide onderzoekers werden geblindeerd voor het type kooiverrijking, de leeftijd en het geslacht van de muizen. De kooien werden op willekeurige volgorde door de omloop aan de hanteerder aangeboden. Na de laatste metingen werden alle kooien gedecodeerd en de data verwerkt.

Drie biotechnici waren gevraagd mee te helpen aan dit onderzoek. Figuur 1 geeft een globaal overzicht van het experiment. Een uitgebreider overzicht van de drie verschillende metingen waarbij de biotechnici geholpen hebben is weergegeven in bijlage I. Het experiment is na de acclimatiseringsperiode van start gegaan met een 0-meting. In deze meting werden de drie biotechnici uitgenodigd om de muizen over te zetten met zowel de hanteermethode aan de staart als met de hanteermethode met behulp van de buis. Bij deze meting waren zowel de biotechnici als de muizen ongetraind in het overzetten van muizen met een buis. Na uitvoering van de 0-meting werd bij de helft van de muizen de buis ter verrijking in de kooi geplaatst. Met uitzondering van zaterdag en zondag werden de experimentele groepen vanaf dag twee tot dag veertien dagelijks overgezet met behulp van een buis door de onderzoekers. In deze periode werden de drie biotechnici onder begeleiding van de onderzoekers vier keer getraind waarbij beide educatieve

groepen per training driemaal gehanteerd werden met behulp van een buis. De training duurde ongeveer tien minuten tot een kwartier per persoon.

In de derde week vonden meting 1 en meting 2 plaats waarin de drie getrainde biotechnici gevraagd werden de getrainde muizen over te zetten naar een andere kooi met behulp van de buis. De 2^e meting verschilt van de 1^e omdat hierbij naast het overzetten van de muizen de welzijnscontrole werd uitgevoerd. Voor aanvang van de studie, alsmede na elke meting, en na afloop van het onderzoek werd de biotechnici gevraagd een vragenlijst in te vullen. (Alle vragenlijsten zijn bijgevoegd in bijlage III-VII).

Metingen van de biotechnici Alle metingen zijn gedaan aan de hand van analyses van de camerabeelden die tijdens de meetmomenten zijn gemaakt. In de 0-meting werd een inventarisatie gedaan naar de huidige situatie waarin werd gekeken naar de snelheid waarmee de biotechnici de muizen overzetten aan de staart (S). Daarnaast werd ook geïnventariseerd hoe snel ongetrainde biotechnici ongetrainde muizen overzetten met een buis (BO). De drie biotechnici hebben ieder 1/3 deel van het totaal aantal experimentele kooien tweemaal gehanteerd, één keer aan de staart en één keer met behulp van de buis. In elk 1/3^e deel van het totaal zaten muizen van verschillende leeftijden en geslachten. Voor aanvang van de 0-meting mochten de biotechnici twee keer de methode met de buis oefenen op de educatiemuizen.

Tijdens meting 1 werd vastgesteld hoe snel de biotechnici de muizen overzetten met behulp van de buis nadat zowel de muizen als de biotechnici training hadden ondergaan (BG). De biotechnici hebben weer ieder 1/3 deel van de kooien overgezet.

Aan meting 2 werd het controleren van het welzijn van de muizen toegevoegd. Per kooi werd er per muis een verschillende welzijnscontrole uitgevoerd, drie in totaal. De verschillende welzijnscontroles waren beschreven als “buis licht kantelen”, “in buis bekijken” en “op de hand plaatsen”. De verschillende methoden worden toegelicht in bijlage II. De tijd die de biotechnici nodig hadden om de

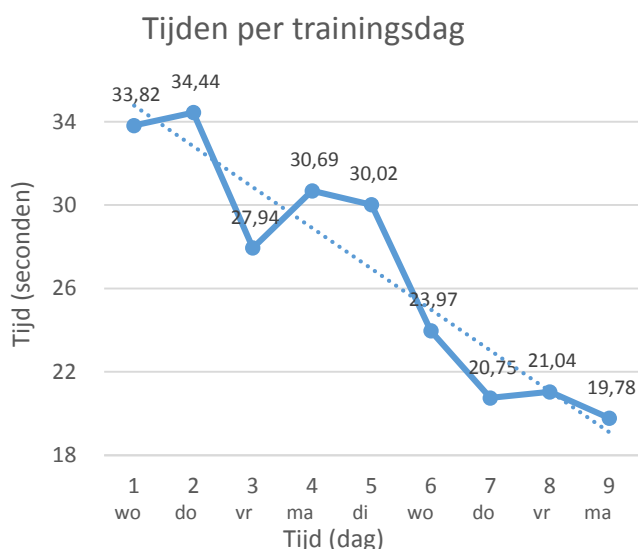
muizen individueel over te zetten en daarbij het welzijn te controleren is in deze meting vastgesteld.

Training van de dieren Na de 0-meting hebben de onderzoekers de experimentele muizen gedurende negen dagen lang dagelijks gehanteerd met behulp van de buis. Voor aanvang van elke training oefenden de onderzoekers het hanteren met de buis eenmaal op de educatieve dieren.

Statistische bewerking Zowel bij de trainingen als tijdens de metingen werd het aantal seconden gemeten die een hanteerder nodig had om het totaal aantal muizen uit één kooi over te zetten naar een andere kooi. Bij meting 2 werd er gemeten hoelang het overzetten per muis duurde omdat hier een extra handeling werd toegevoegd die per muis verschilde (de welzijnscontrole). Voor statistische verwerking is gekozen om de ‘training’, ‘meting 0 en 1’ en ‘meting 2’ apart te verwerken. In overleg met een statisticus is in alle gevallen een GLM repeated measures analyse uitgevoerd waarin het aantal seconden dat de hanteerders nodig hadden om de muizen over te zetten, het type kooiverrijking dat de muizen werd aangeboden en de leeftijd van de dieren is meegenomen en de interacties hiertussen. Waar nodig was een Bonferronicorrectie toegepast. (Alle data is toegevoegd in de bijlagen VIII, IX en X). Daarnaast zijn er op vijf momenten vragenlijsten afgenomen bij de biotechnici die mee deden aan dit onderzoek. De uitkomsten hiervan zijn beschreven in dit artikel en bij enkele antwoorden is er met behulp van een binomiaal toets gecorrigeerd voor de kans dat de biotechnici het antwoord goed konden gokken.

Resultaten

Training van de dieren In figuur 2 is de gemiddelde leercurve weergegeven van de muizen en de onderzoekers gedurende de training van negen dagen met de hanteermethode van de buis.

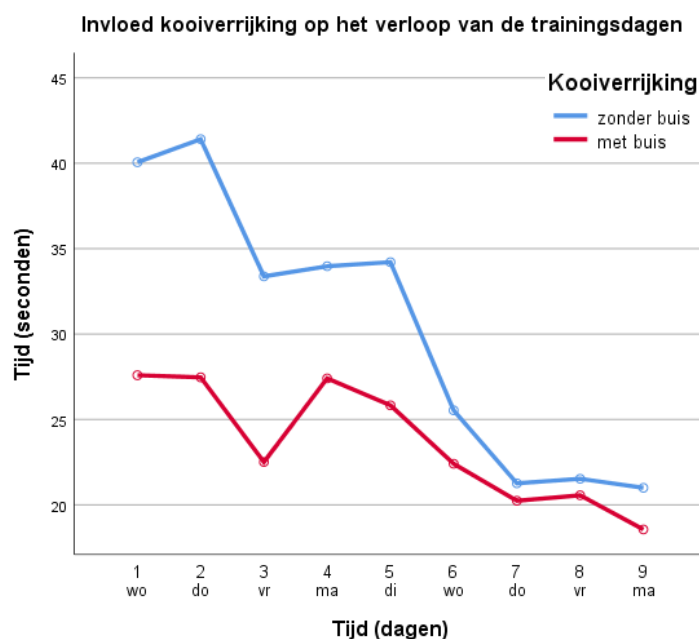


Figuur 2, De tijd in seconden die nodig was om de muizen over te zetten uitgezet tegen het aantal dagen die de trainingsperiode bedroeg. De trainingsperiode is aangevangen op de dag na de 0-meting. Er is een steil dalende lijn als leercurve van de muizen op de hanteermethode van de buis aanwezig.

Bij aanvang van de training op dag 1 duurde het overzetten van de ongetrainde muizen met een buis $34 \pm \dots$ sec. In negen dagen daalt dit sterk naar $20 \pm \dots$ sec.

Opvallend is dat het hanteren op dag 4 (de eerste maandag) 2,75 seconden langer duurt dan op dag 3 (vrijdag). Mogelijk deden de muizen er op maandag (dag 4) langer over dan op vrijdag (dag 3) omdat de muizen op de zaterdag en zondag ertussen niet werden getraind en het effect van de training in de eerste paar dagen nog niet sterk genoeg was om het na 2 dagen rust waar te nemen. Bij de eerstvolgende maandag (dag 9) was het trainingsproces mogelijk wel voldoende om na het weekend het effect ervan te ondervinden. Het benodigde aantal seconden om de muizen te hanteren, neemt significant af in de tijd ($P < 0,01$). Nadere analyse laat zien dat vanaf dag 6 het effect van de training waar te nemen was ($P < 0,01$).

Tijdens de negen dagen training had de helft van de kooien een oranje kunststof huis en de andere helft een doorzichtige plexiglas buis als kooiverrijking. In figuur 3 is de benodigde tijd om de muizen te hanteren van beide groepen weergegeven over het verloop van de trainingsdagen.



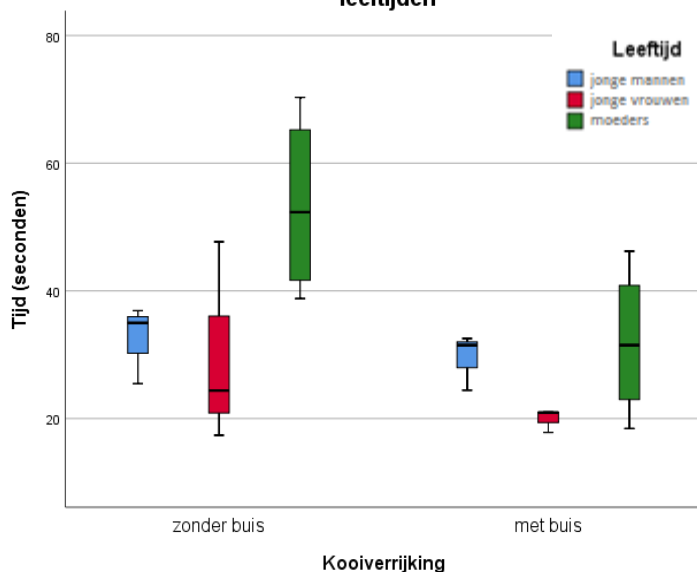
Figuur 3, Tijd in seconden die in de trainingsperiode nodig is om de muizen te hanteren. De invloed van kooiverrijking wordt weergegeven door middel van onderscheid in muizen met buis en zonder buis als kooiverrijking. De training is aangevangen na de 0-meting op een woensdag. In het weekend zijn de muizen niet gehanteerd.

Zowel de groep met de buis als kooiverrijking als de groep met een huis als kooiverrijking ondergaat een leerproces. Alhoewel het verschil niet significant is, is duidelijk te zien dat de muizen die de buis als kooiverrijking kregen op de 1^e meetdag al veel sneller overgezet werden dan de muizen die de buis niet als kooiverrijking hadden ($P < 0,1$).

Tijdens meting 1 en meting 2 hebben de biotechnici vragenlijsten ingevuld na iedere kooi die ze gehanteerd hadden (zie bijlage V en VI). In deze vragenlijsten werd de meerkeuze vraag gesteld tot welke experimentele groep de muizen behoorden. Daarbij was er de keuze tussen de optie “regelmatig gehanteerde muizen met de buis als kooiverrijking” en de optie “regelmatig gehanteerde muizen zonder de buis als kooiverrijking”. Van muizen met de buis toegevoegd als kooiverrijking werd door de biotechnici verwacht dat ze sneller in de buis gingen en makkelijker te hanteren waren met de buis dan de muizen zonder de buis als kooiverrijking. De meerkeuzevraag werd, met een correctie voor het goed gokken van het antwoord gesteld op 50%, voor meting 1 en 2 respectievelijk 80% en 75% correct achterhaald. Hieruit blijkt dat de biotechnici wel degelijk verschil konden merken tussen beide groepen en hun reactie op het hanteren met de buis.

In figuur 4 is het verschil tussen de drie groepen, ingedeeld op basis van leeftijd en geslacht, gemiddeld over de negen trainingdagen weergegeven. In de grafiek is te zien dat de spreiding en de gemiddelden voor de “moeders” over het algemeen hoger liggen dan de “jonge mannen” en de “jonge vrouwen”. Dit effect was net niet significant ($P < 0,1$).

Invloed kooiverrijking op het leerproces van verschillende leeftijden

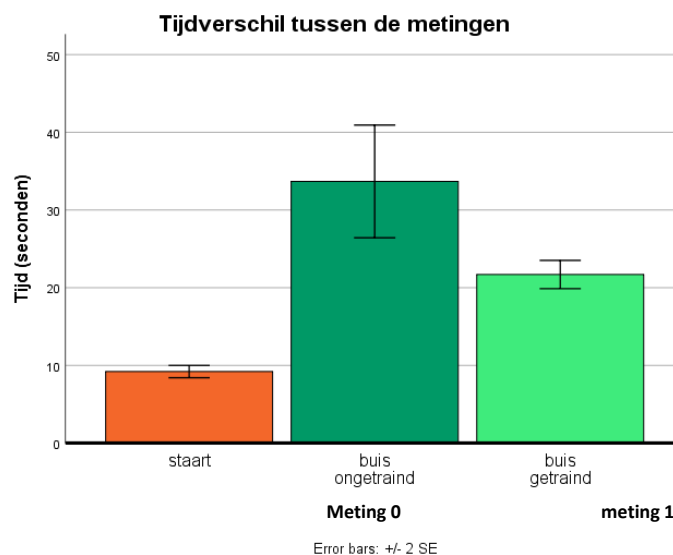


Figuur 4, De invloed van de verschillende leeftijden op de tijd in seconden waarbij onderscheid is gemaakt tussen muizen met de buis en muizen zonder buis als kooiverrijking. De spreiding met buis ligt lager dan de spreiding in de groepen zonder buis. De spreiding bij de jonge vrouwen is hoog in beide groepen.

Metingen van biotechnici Uit de vragenlijsten, ingevuld voorafgaand aan het onderzoek blijkt dat door de biotechnici vraagtekens werden gezet bij de snelheid van het overzetten

van de muizen met de buis. Meting 0 en meting 1 waren gericht op het achterhalen van deze snelheid.

In figuur 5 zijn de hanteermethoden S, BO en BG van meting 0 en meting 1 naast elkaar vergeleken. Alle methoden verschillen van elkaar in het aantal seconden dat de biotechnici gemiddeld nodig hadden om de muizen over te zetten naar de andere kooi ($P < 0,001$). De hanteermethode aan de staart kost zoals de biotechnici verwacht hadden, in vergelijking met de andere metingen de minste tijd en de spreiding ligt laag. Dit is niet verassend omdat deze methode door de deelnemende biotechnici al heel lang wordt toegepast. De hanteermethode waarbij zowel de muizen als de biotechnici ongetraind waren kostte het meeste tijd in vergelijking met de andere metingen ($P_{S-BO} < 0,01$; $P_{S-BG} < 0,01$). Hoewel de hanteermethode waarbij zowel de biotechnici als de muizen getraind waren met de buis twee keer langzamer was dan de meting aan de staart, is het wel aanzienlijk sneller dan de ongetrainde variant en ligt de spreiding van de resultaten lager ($P_{BO-BG} < 0,01$).



Figuur 5, De gemiddelde tijd in seconden die nodig was per methode om de muizen over te zetten. De hanteermethode aan de staart blijft het snelste maar er is aanzienlijk verschil tussen getrainde en ongetrainde hanteermethode met de buis. Ook ligt de spreiding bij de getrainde groep lager dan de ongetrainde variant.

Dit komt overeen met de reacties van de biotechnici in de afgenomen vragenlijsten. In het begin van het onderzoek waren de biotechnici meer terughoudend in het toepassen van de hanteermethode met de buis en gaven zij aan de nieuwe techniek “stressvol voor de dierversorger” te vinden². Na vier keer oefenen werden ze echter al positiever over de nieuwe techniek en kregen ze het gevoel er “meer handigheid” in te krijgen². Over het algemeen waren de biotechnici welwillend

in het gebruiken van een buis om de muizen over te zetten, reacties zoals “alles voor het welzijn van het dier” kwamen meerdere malen naar voren².

Welzijnscontrole

De biotechnici waren voorafgaand van het onderzoek sceptisch over het uitvoeren van de welzijnscontrole tijdens het hanteren met de buis. Zij vonden het hanteren met de buis “Onhandig in verband met welzijnscontrole onderzijde”². Daarom zijn er tijdens meting 2 drie verschillende welzijnscontroles uitgevoerd; “buis licht kantelen”, “in buis bekijken” en “op de hand plaatsen” (zie voor uitleg bijlage II). De tijd die nodig is om de welzijnscontrole uit te voeren, verschilt niet tussen de drie methoden. Wel blijkt uit de vragenlijsten die na afloop van meting 2 zijn ingevuld, dat de biotechnici de methode “op de hand plaatsen” geen enkele keer gekozen hadden als meest praktische methode om het welzijn te controleren. Uit de opmerkingen en observaties bleek dat bij deze methode van de twintig muizen de helft sprong of beet. Om deze reden was deze welzijnscontrole in 1/3 van de gevallen niet mogelijk om volledig uit te voeren. Mogelijk is deze techniek beter toepasbaar nadat de muizen getraind of gewend zijn aan deze interactie op de hand. De andere twee methodes om het welzijn van de muis te controleren werden wel als voldoende toereikend beoordeeld door de biotechnici.

Discussie

Hanteren is de meest voorkomende handeling die muizen in onderzoek ondergaan. Bekend is dat muizen hanteren aan de staartbasis stress oplevert bij het dier wat mogelijk de onderzoeksresultaten beïnvloedt^{3,4,5}. Muizen gehanteerd met een buis ondergaan een leerproces. In de pilotstudie van Gouveia en Hurst⁶ bleek dat het hanteren bij het verschonen van de kooien genoeg is om de muis te laten wennen aan de hanteermethode met de buis. Na vier maal verschonen, waarbij de muizen plusminus twee seconden werden gehanteerd, was er al een positief effect zichtbaar in de vrijwillige interactie naar de hanteerder. Ook in het huidige onderzoek is gebleken dat muizen snel getraind kunnen worden voor het hanteren met de buis. Ervaring van de muizen, ervaring van de hanteerder en het gedrag van de muizen hebben invloed op hoe snel de muis went aan het hanteren met de buis. Afhankelijk van de frequentie van training en hanteren kan de snelheid waarmee het effect van de training waar te nemen is verschillen.

Daarnaast bleek uit de resultaten uit dit onderzoek dat het wel of niet toevoegen van een buis als kooiverrijking enigszins effect had op de tijd die de muizen nodig hadden om overgezet te worden, met name aan het begin van het onderzoek, toen de muizen nog niet getraind waren. Naarmate de training

vorderde zwakte dit verschil in tijd af. Uit onderzoek van Gouveia en Hurst⁷ bleek ook dat het toevoegen van een buis als kooiverrijking de respons van muizen op het hanteren kan verbeteren. Gewenning aan de buis door middel van kooiverrijking had de bereidheid van de muizen om overgezet te worden met de buis positief beïnvloed.

Onderzoek van Hurst⁴ toont aan dat onderlinge verschillen in leeftijd en geslacht van de muizen geen invloed heeft op de respons die de muis geeft op het hanteren met de buis. In tegenstelling tot onderzoek van Hurst⁴ bleek in dit huidige onderzoek dat de leeftijd van de muizen wel invloed had op het aantal seconden dat de hanteerders nodig had om de muizen over te zetten. Een verklaring hiervoor kan zijn dat jonge dieren sneller leren dan volwassen of oudere dieren en zich sneller kunnen aanpassen aan de omgevingsfactoren^{8,9,10}. Mogelijk heeft ook de tijd waarin de “moeders” gehanteerd werden aan de staart in het voorgaande onderzoek invloed gehad. Zij waren vaker gehanteerd aan de staart dan de “jonge vrouwen” en “jonge mannen”.

Naast het leerproces van de muizen werd in het huidige onderzoek aandacht besteed aan de reactie van de biotechnici op de hanteertechniek met de buis. De hanteermethode aan de staart bleef tijdens het onderzoek de snelste techniek. Wel blijkt dat het vier keer trainen van de biotechnici (naast het trainen van de muizen) er al voor zorgt dat ze sneller waren dan toen ze ongetraind waren. Deze tijden kunnen nog verder dalen aangezien uit resultaten van de University of Liverpool en het NC3Rs blijkt dat wanneer de biotechnici meer getraind zijn en de techniek volledig beheersen ze even snel zijn met het overzetten met de buis als aan de staart. Het is hierbij wel belangrijk dat de techniek correct, zoals op de video op de site van NC3Rs wordt aangeraden, wordt uitgevoerd¹¹. Daarnaast gaven de biotechnici in de vragenlijsten aan dat zij bereid zijn deze methode toe te passen als het beter is voor de muizen en ze voldoende tijd krijgen van de faciliteit, ook als ze er mogelijk meer tijd aan spenderen.

Tot slot waren de biotechnici voor aanvang sceptisch over het uitvoeren van de welzijnscontrole in een buis. De biotechnici vonden twee van de drie methoden (zie bijlage III voor beschrijving en voorbeelden) toereikend om het welzijn te controleren. De derde methode “op de hand plaatsen” werd als niet praktisch benoemd. Toch waren er vrijwel geen verschillen waar te nemen in de tijd die het hanteren duurde bij de drie verschillende welzijnscontroles. Welke van de drie hanteermethodes als het prettigst wordt ervaren is persoonsafhankelijk.

Conclusie en aanbevelingen

Naar aanleiding van internationaal bevestigd^{12,13} onderzoek van Hurst⁴ waarin aangetoond is dat muizen een verminderde

stressrespons in zowel gedrag als interne fysiologie laten zien als het dier niet wordt gehanteerd aan de staart heeft onderzoek plaatsgevonden naar de praktische aspecten en de reacties van biotechnici over het hanteren van muizen met een buis. Dit onderzoek laat zien dat wanneer er rekening gehouden wordt met bepaalde factoren de techniek goed in de praktijk toegepast kan worden. Op het moment dat er wordt gekozen om de muizen te hanteren op een alternatieve manier met behulp van de buis moet men zich er bewust van zijn dat meerdere factoren effect hebben op het implementeren van deze nieuwe methode in een instelling. Aspecten die bevorderlijke invloed hebben op de tijd die de muizen nodig hebben om de buis in te gaan zijn: de muizen minimaal zes keer trainen, het gebruik van de buis als kooiverrijking en de muis op een jonge leeftijd introduceren aan de buis. Ook heeft de bekwaamheid van de hanteerder effect op het aantal seconden die de muizen nodig hebben om de buis in te gaan. Na vier keer geoefend te hebben waren de hanteerders aanzienlijk sneller dan wanneer zij geen ervaring hadden met het overzetten van de muizen met behulp van een buis. Data van University of Liverpool toont aan dat naarmate hanteerders verder getraind zijn en de juiste techniek toepassen tijdens het hanteren er geen verschillen meer zijn tussen de hanteermethode met de buis en die aan de staart. Om de hanteermethode met de buis voorspoedig te implementeren bij een faciliteit is het van cruciaal belang dat hanteerders die bekwaam zijn met het overzetten van de muis met een buis de onervaren mensen begeleiden. Uit overleg met andere geïnteresseerden in de hanteertechniek met de buis, waarbij de implementatie van deze techniek niet gelukt was, bleek een tekort aan begeleiding en informatie hiervan de oorzaak. Blijf tijdens de begeleiding alert, het is tijdens ons onderzoek meerdere keren voorgekomen dat de techniek ondanks heldere instructies niet correct tijdens de trainingen werd uitgevoerd. Tot slot kregen de onderzoekers meerdere keren de uitspraak “alles voor het welzijn van het dier”² van de biotechnici te horen. Het is het volgens de onderzoekers waard om deze hanteermethode toe te passen en bewust te zijn van de effecten van de gekozen hanteermethode.

Dankwoord

Graag willen wij nadrukkelijk alle biotechnici die geholpen hebben bedanken voor hun medewerking aan ons project, zonder hun proactieve instelling en hulp was het een stuk lastiger om dit onderzoek te verrichten. Wij willen ook graag de statisticus, het hoofd van het GDL en alle leden van de Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht bedanken voor het aanleveren van leerzame opmerkingen en mogelijke verbeterpunten van het onderzoek. Tot slot bedanken wij jullie voor de interesse in dit project en het lezen van het artikel.

Literatuur

- 1) Ghosal et al. (2015) Mouse handling limits the impact of stress on metabolic endpoints. *Physiology & Behavior* 150: 31-37.
- 2) Biotechnici van het Gemeenschappelijk Dierenlaboratorium (GDL) (2018) *Vragenlijsten voor aanvang, na elke meting, en na afloop van het onderzoek*.
- 3) Balcombe et al. (2004) Laboratory routines cause animal stress. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 6: 42-51.
- 4) Hurst & West (2010) Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7: 825–826.
- 5) Ono et al (2016) Does the routine handling affect the phenotype of disease model mice? *Japanese Journal of Veterinary Research*, 64(4): 265-271.
- 6) Gouveia & Hurst (2017) Optimising reliability of mouse performance in behavioural testing: the major role of non-aversive handling. *Scientific Reports* 7: 44999.
- 7) Gouveia & Hurst (2013) Reducing mouse anxiety during handling: Effect of experience with handling tunnels. *PLoS ONE* 8(6).
- 8) Han & Stevens (1999) Of Mice and Memory. *Learning Memory* 6:539–541.
- 9) Johnson & Wilbrecht (2011) Juvenile mice show greater flexibility in multiple choice reversal learning than adults. *Dev Cogn Neurosci*, 1(4): 540–551.
- 10) Pistell et. al. (2012) Age-Associated Learning and Memory Deficits in Two Mouse Versions of the Stone T-maze. *Neurobiol Aging* 33(10): 2431–2439.
- 11) NC3Rs (z.d.) tunnel handling technique, gevonden op 22 september 2018, op: <https://www.nc3rs.org.uk/video-clips>
- 12) Nakamura & Suzuki. (2018) Tunnel use facilitates handling of ICR mice and decreases experimental variation. *The Journal of Veterinary Medical Science* 80(6): 886–892.
- 13) Clarkson et al. (2018) Handling method alters the hedonic value of reward in laboratory mice. *Scientific Reports* 8: 2448.

Bijlagen

Bijlage I: Overzicht van de metingen	8
Bijlage II: Voorbeelden van de drie welzijnscontroles	9
Bijlage III: Vragenlijst biotechnici voorafgaand aan het onderzoek	10
Bijlage IV: Vragenlijst biotechnici na afloop van de 0-meting	11
Bijlage V: Vragenlijst biotechnici tijdens meting 1	12
Bijlage VI: Vragenlijst biotechnici tijdens meting 2	13
Bijlage VII: Vragenlijst biotechnici na afloop van het onderzoek	14
Bijlage VIII: Data output training	16
Bijlage IX: Data output meting 0 en meting 1	17
Bijlage X: Data output meting 2	18

Bijlage I: Overzicht van de metingen

Ma 8 okt	Di 9 okt	Woe 10 okt	Do 11 okt	Vr 12 okt	Za 13 okt	Zo 14 okt
dag 1  dag 2 dag 3 dag 4 dag 5 dag 6						
Ma 15 okt	Di 16 okt	Woe 17 okt	Do 18 okt	Vr 19 okt	Za 20 okt	Zo 21 okt
dag 7 dag 8 dag 9 dag 10 dag 11 dag 12 dag 13						
Ma 22 okt	Di 23 okt	Woe 24 okt	Do 25 okt	Vr 26 okt	Za 27 okt	Zo 28 okt
dag 14 dag 15  dag 16 dag 17 						
Ma 29 okt	Di 30 okt	Woe 31 okt	Do 1 nov	Vr 2 nov	Za 3 nov	Zo 4 nov

-  = acclimatisatieperiode
-  = dag van meting
-  = trainingsdagen
-  = weekend waarin niet getraind wordt
-  = meetmoment

Bijlage II: Voorbeelden van de drie welzijnscontroles

Welzijnscontrole één: “buis licht kantelen”

De muis werd bij de methode “buis licht kantelen” bij de staart vastgepakt terwijl het dier in de buis zat, de buis werd licht gekanteld waardoor de buik en de genitaliën zichtbaar werden.



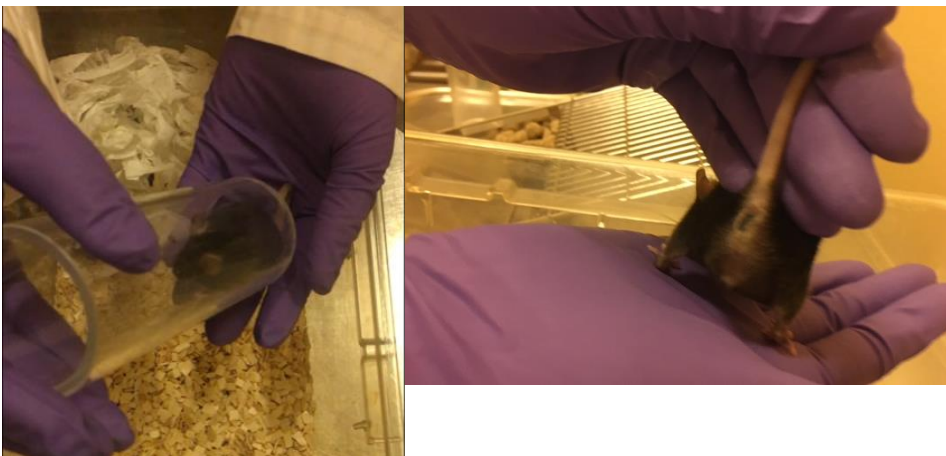
Welzijnscontrole twee: “in buis bekijken”

De muis bleef volledig in de buis bij de methode “in de buis bekijken”. De buis kon hoger getild of licht gekanteld worden waardoor de onderkant zichtbaar werd.



Welzijnscontrole drie: “op de hand plaatsen”

De derde methode plaatste de muis vanuit de buis op de hand waarna de normale welzijnscheck uitgevoerd kon worden.



Bijlage III: Vragenlijst biotechnici voorafgaand aan het onderzoek

Vragenlijst voorafgaand aan het onderzoek naar de hanteermethode met behulp van een buis

1. Op een schaal van 1-5 (waarbij 1 geen en 5 hoog is) hoeveel ongerief denk je dat de muizen ervaren met de hanteermethode aan de staart tijdens het overzetten in schone bakken?



Toelichting:

2. Heb je voor dit onderzoek al eens van de hanteermethode met behulp van een buis gehoord?

☐ ja ☐ nee

Toelichting:

3. Wat was je eerste indruk toen je over de hanteermethode met behulp van een buis hoorde?
(In de wandelgangen, tijdens een onderzoek of ergens anders)

4. Denk je dat de hanteermethode met de buis toepasbaar is bij het GDL?

☐ ja ☐ nee

Toelichting:

5. Verwacht je na dit onderzoek de muizen langzamer, even snel of sneller over te kunnen zetten door middel van de methode met de buis in vergelijking met de methode aan de staart?

☐ Langzamer ☐ Even snel ☐ Sneller

Toelichting:

6. Stel dat uit dit onderzoek blijkt dat jullie er geen extra tijd nodig hebben aan het overzetten met de hanteermethode met de buis. Zou je het dan willen toepassen?

☐ ja ☐ nee

Toelichting:

7. Stel dat uit dit onderzoek blijkt dat het meer tijd gaat kosten om muizen over te zetten, wanneer ben je dan bereid de buismethode te gebruiken:

☐ Nooit ☐ Als het minder dan 10% extra tijd kost ☐ Als het tot 30% extra tijd kost
☐ Altijd, ongeacht hoeveel extra tijd het mij kost.

Toelichting:

Hartelijk bedankt voor het invullen! Eventuele op- of aanmerkingen naar aanleiding van dit onderwerp kunnen op de achterkant van dit formulier geschreven worden.

Bijlage IV: Vragenlijst biotechnici na afloop van de 0-meting

Vragen na 0-Meting:

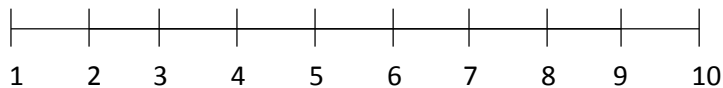
1. Wat vond je ervan om de hanteermethode met de buis toe te passen?
2. Was het makkelijker om de methode met de buis uit te voeren na het oefenen op de educatiemuizen?
3. Was de muis goed zichtbaar in de buis?
☐ goed ☐ voldoende ☐ nee ☐ niet op gelet

Toelichting:

4. Merkte je veel verschil aan de muizen bij hanteermethode aan de staart en de methode met de buis?
☐ veel ☐ matig ☐ weinig ☐ geen

Toelichting:

5. Op een schaal van 1-10 (waarbij 1 zeer slecht en 10 zeeg goed is) hoe makkelijk vond je de muizen hanteren met behulp van een buis?



Toelichting:

6. Werd het hanteren met de buis makkelijker naarmate je het vaker uitvoerde?
☐ ja ☐ nee ☐ het bleef moeilijk omdat het afwisselend gedaan werd

Toelichting:

7. Hoeveel langer was je naar je eigen idee bezig met de hanteermethode met de buis?
☐ Meer dan 75% ☐ $\pm 50\%$ ☐ $\pm 25\%$ ☐ even snel

Toelichting:

8. Was de uitleg voor aanvang, het filmpje en het oefenen duidelijk? Heb je opmerkingen of had je graag een onderdeel anders gezien?

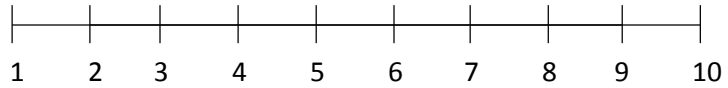
Opmerkingen:

Hartelijk bedankt voor het invullen en het meewerken! Eventuele op- of aanmerkingen naar aanleiding van deze meting of dit onderwerp horen we graag.

Bijlage V: Vragenlijst biotechnici tijdens meting 1

Vragen tijdens 1^e meting

1. Op een schaal van 1-10 (waarbij 1 zeer slecht en 10 zeer goed is) hoe makkelijk vond je deze muizen te hanteren?

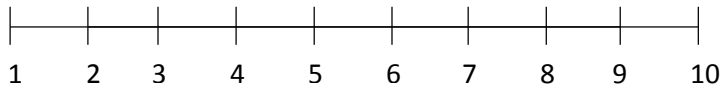


2. Tot welke onderzoeksgroep denk je dat deze muizen behoren?

- ☐ Regelmatig met de buis gehanteerde muizen met buis als kooiverrijking
- ☐ Regelmatig met de buis gehanteerde muizen zonder buis als kooiverrijking

Vragen tijdens 2^e meting

1. Op een schaal van 1-10 (waarbij 1 zeer slecht en 10 zeer goed is) hoe makkelijk vond je deze muizen te hanteren?



2. Tot welke onderzoeksgroep denk je dat deze muizen behoren?

- ☐ Regelmatig met de buis gehanteerde muizen met buis als kooiverrijking
- ☐ Regelmatig met de buis gehanteerde muizen zonder buis als kooiverrijking

3. Welke methode voor de welzijnscontrole ging je bij deze muizen het makkelijkste af? (Meerdere antwoorden zijn mogelijk)

- ☐ Muis in de buis bekijken
- ☐ Muis in de buis maar aan de staart vasthouden
- ☐ Muis door middel van de buis op de hand zetten

Bijlage VII: Vragenlijst biotechnici na afloop van het onderzoek

Vragen na afloop van onderzoek:

1. Op een schaal van 1-5 (waarbij 1 geen en 5 hoog is) hoeveel ongerief denk je dat de muizen ervaren met de hanteermethode met buis tijdens het overzetten in schone bakken?



Toelichting:

2. Hoe kijk je nu na dit onderzoek tegen de hanteermethode met een buis aan?
3. Welke factor denk je dat de meeste invloed heeft gehad op het laten wennen van de muis aan het hanteren met de buis?
- ☐ Het dagelijks hanteren van de muizen met de buis
- ☐ Het toevoegen van buizen als kooiverrijking
- ☐ Het toevoegen van een beloning voor de muizen na het hanteren
4. Heb je het idee dat je handiger en sneller bent geworden in de hanteermethode met de buis over de gehele periode (training inbegrepen)?
- ☐ Ja ☐ nee

Toelichting:

5. Denk je dat je in de meting 1 (dinsdag 30 okt) sneller, even snel of langzamer bent geworden in het overzetten van de muizen met behulp van een buis in vergelijking met de methode aan de staart?
- ☐ langzamer ☐ even snel ☐ sneller

Toelichting:

6. Denk je dat je in de meting 2 (donderdag 1 nov) inclusief de welzijnscontrole sneller, even snel of langzamer bent geworden in het overzetten van de muizen met behulp van een buis in vergelijking met de methode aan de staart?
- ☐ langzamer ☐ even snel ☐ sneller

Toelichting:

7. Welke welzijnscontrole ging bij jou over het algemeen het beste? (meerdere antwoorden zijn mogelijk)

☐ Muis in de buis bekijken

☐ Muis in de buis maar aan de staart vasthouden

☐ Muis door middel van de buis op de hand zetten

Toelichting:

8. Vindt je de methoden om de welzijnscontrole uit te voeren bij meting 2 toereikend om de het welzijn van de dieren te controleren?

- a. Muis in de buis bekijken

☐ goede controle

☐

Voldoende controle

☐

Onvoldoende controle

- b. Muis in de buis maar aan de staart vasthouden

☐ goede controle

☐

Voldoende controle

☐

Onvoldoende controle

- c. Muis door middel van de buis op de hand zetten

☐ goede controle

☐

Voldoende controle

☐

Onvoldoende controle

Toelichting:

9. Zou je op basis van je eigen ervaring met deze hanteermethode de techniek aanraden aan een collega?

☐ ja

☐ nee

Toelichting:

Hartelijk bedankt voor het invullen en het meewerken! Eventuele op- of aanmerkingen naar aanleiding van dit onderzoek of dit onderwerp horen we graag.

GLM (repeated measures) tijd en tijd*zonder/met buis, tijd*leeftijd groep en tijd*zonder/met buis*leeftijd

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
tijd	Sphericity Assumed	4807,956	8	600,994	10,882	,000
	Greenhouse-Geisser	4807,956	4,225	1137,871	10,882	,000
	Huynh-Feldt	4807,956	8,000	600,994	10,882	,000
	Lower-bound	4807,956	1,000	4807,956	10,882	,005
tijd * Zonder1met2buis	Sphericity Assumed	953,518	8	119,190	2,158	,036
	Greenhouse-Geisser	953,518	4,225	225,664	2,158	,081
	Huynh-Feldt	953,518	8,000	119,190	2,158	,036
	Lower-bound	953,518	1,000	953,518	2,158	,164
tijd * leeftijdgroep1heren2dames3m oeders	Sphericity Assumed	1720,078	16	107,505	1,947	,023
	Greenhouse-Geisser	1720,078	8,451	203,540	1,947	,066
	Huynh-Feldt	1720,078	16,000	107,505	1,947	,023
	Lower-bound	1720,078	2,000	860,039	1,947	,180
tijd * Zonder1met2buis * leeftijdgroep1heren2dames3m oeders	Sphericity Assumed	491,117	16	30,695	,556	,910
	Greenhouse-Geisser	491,117	8,451	58,115	,556	,818
	Huynh-Feldt	491,117	16,000	30,695	,556	,910
	Lower-bound	491,117	2,000	245,558	,556	,586
Error(tijd)	Sphericity Assumed	6185,422	112	55,227		
	Greenhouse-Geisser	6185,422	59,156	104,562		
	Huynh-Feldt	6185,422	112,000	55,227		
	Lower-bound	6185,422	14,000	441,816		

Bijlage IX: Data output Meting 0 en meting 1

GLM (repeated measures) methode en methode*buis, met/zonder

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Methode	Sphericity Assumed	5942,425	2	2971,213	34,445	,000
	Greenhouse-Geisser	5942,425	1,130	5260,100	34,445	,000
	Huynh-Feldt	5942,425	1,221	4867,860	34,445	,000
	Lower-bound	5942,425	1,000	5942,425	34,445	,000
Methode * Zonder1met2buis	Sphericity Assumed	19,419	2	9,710	,113	,894
	Greenhouse-Geisser	19,419	1,130	17,190	,113	,771
	Huynh-Feldt	19,419	1,221	15,908	,113	,790
	Lower-bound	19,419	1,000	19,419	,113	,741
Error(Methode)	Sphericity Assumed	3105,350	36	86,260		
	Greenhouse-Geisser	3105,350	20,335	152,710		
	Huynh-Feldt	3105,350	21,973	141,323		
	Lower-bound	3105,350	18,000	172,519		

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Methode	Sphericity Assumed	5881,206	2	2940,603	33,025	,000
	Greenhouse-Geisser	5881,206	1,118	5262,133	33,025	,000
	Huynh-Feldt	5881,206	1,281	4589,382	33,025	,000
	Lower-bound	5881,206	1,000	5881,206	33,025	,000
Methode * Leeftijdgroep	Sphericity Assumed	97,343	4	24,336	,273	,893
	Greenhouse-Geisser	97,343	2,235	43,548	,273	,787
	Huynh-Feldt	97,343	2,563	37,980	,273	,814
	Lower-bound	97,343	2,000	48,671	,273	,764

Bijlage X: Data output meting 2

GLM (repeated measures) welzijnscontrole en welzijnscontrole*met/zonder buis

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
welzijnscontole	Sphericity Assumed	109,882	2	54,941	,880	,424
	Greenhouse-Geisser	109,882	1,339	82,077	,880	,389
	Huynh-Feldt	109,882	1,496	73,427	,880	,399
	Lower-bound	109,882	1,000	109,882	,880	,361
welzijnscontole * Zondermetbuis	Sphericity Assumed	32,850	2	16,425	,263	,770
	Greenhouse-Geisser	32,850	1,339	24,537	,263	,681
	Huynh-Feldt	32,850	1,496	21,952	,263	,706
	Lower-bound	32,850	1,000	32,850	,263	,615
Error(welijnscontole)	Sphericity Assumed	2123,308	34	62,450		
	Greenhouse-Geisser	2123,308	22,759	93,295		
	Huynh-Feldt	2123,308	25,440	83,464		
	Lower-bound	2123,308	17,000	124,900		