

KRAJOWA KOMISJA ETYCZNA
DO SPRAW DOŚWIADCZEŃ NA ZWIERZĘTACH

z s. Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego
ul. Wspólna 1/3, 00-529 Warszawa

UCHWAŁA nr 40/2024

Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach
z dnia 19 lipca 2024 roku

Na podstawie art. 33 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. *o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych* (Dz.U. z 2023 r. poz. 465 ze zm., dalej „ustawa”), uchwała się, co następuje:

§ 1

KKE ustala opisane w załączniku do niniejszej uchwały **dobre praktyki** w zakresie **dobrostanu i wzbogaceń środowiska** zwierząt przeznaczonych i wykorzystywanych do celów doświadczalnych należących do gatunków **szczur wędrowny i mysz domowa**.

§ 2

Niniejszą uchwałę udostępnia się do wiadomości oraz stosownego wykorzystywania przez lokalne komisje etyczne do spraw doświadczeń na zwierzętach i zespoły ds. dobrostanu oraz publikuje się w Biuletynie Informacji Publicznej na stronie podmiotowej ministra właściwego do spraw szkolnictwa wyższego i nauki oraz na stronie internetowej KKE.

§ 3

Uchwała wchodzi w życie z dniem powzięcia.

dr hab. Radosław KOWALSKI, prof. Instytutu
Przewodniczący
Krajowej Komisji Etycznej
do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach

Dobre praktyki

Dobrostan i wzbogacenia środowiska zwierząt przeznaczonych i wykorzystywanych
do celów doświadczalnych gatunków **szczur wędrowny i mysz domowa**
(zasada udoskonalenia)

Gryzonie powinny mieć zapewnione łącznie 3 elementy wzbogacające w klatce, najlepiej różnego rodzaju: np. kryjówkę, materiał do gryzienia oraz materiał gniazdowy (A.S.Ratuski, D.M.Weary, *Environmental Enrichment for Rats and Mice Housed in Laboratories: A Metareview*, 2022, <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/4/414>). Wzbogacenia powinny ponadto podlegać wymianie na inne (w szczególności na inny rodzaj wzbogacenia lub na elementy wytworzone z innego materiału, o innym kształcie etc.). Wymaga podkreślenia, że nie należy stosować w sposób stały i niezmienny tych samych wzbogaceń, gdyż w takiej sytuacji tracą one swoją funkcję, stając się stałym elementem bytowania, a zwierzęta tracą nimi zainteresowanie. Częstotliwość wymiany lub stosowania kolejnych elementów wzbogacających powinna zostać dostosowana do okoliczności konkretnego przypadku, w tym w szczególności gatunku, specyfiki doświadczenia, wieku lub płci zwierząt, a nawet specyfiki osobniczej.

Większość profesjonalnych producentów zapewniających wyposażenie klatek/pomieszczeń przeznaczonych dla zwierząt laboratoryjnych, produkuje jednocześnie gotowe elementy czy materiały, mogące stanowić wzbogacenia środowiska zwierząt, w tym w szczególności domki, tunele, klocki drewniane, różne typy materiałów gniazdowych. Podobne elementy dostępne są także w zwykłych sklepach zoologicznych. W szczególności w przypadkach, gdy fundusze, które można przeznaczyć na wzbogacenia, są ograniczone lub też dostępny na runku asortyment z jakiegoś powodu nie może zostać wykorzystany, jako wzbogacenia środowiska mogą być wykorzystywane elementy stanowiące zamienniki produktów komercyjnych, wymienione w niniejszym dokumencie lub samodzielnie zaprojektowane i wykonane. Możliwe jest w szczególności wykorzystanie powszechnie dostępnych produktów ubocznych działalności człowieka, takich jak w szczególności papierowe rolki czy kartonowe pudełka.

Przy doborze wzbogaceń i wszelkich innych elementów wyposażenia (np. ściółki) należy zwrócić uwagę zarówno na **bezpieczeństwo zwierzęcia**, jak i ewentualny **wpływ stosowanego elementu na wyniki doświadczeń**. Szczególnie dotyczy to sytuacji, w której stosowane są wzbogacenia nieprzeznaczone specjalnie dla zwierząt laboratoryjnych. Szczególną uwagę należy zwrócić na zapewnienie, aby materiał, z którego wykonane jest wzbogacenie

czy wyposażenie, był **bezpieczny i nietoksyczny** (plastik, farba powlekająca czy nadruk, klej etc.). Ma to znaczenie szczególnie, gdy istnieje ryzyko, że może zostać pogryziony i połknięty przez zwierzę.

Wymaga również podkreślenia, że wszelkie elementy przed umieszczeniem ich w klatkach powinny podlegać **skutecznej sterylizacji** w celu zachowania rygorów mikrobiologicznych (np. z wykorzystaniem autoklawu, lamp ultrafioletowych, ozonu). Elementy przeznaczone do wielorazowego użytku powinny podlegać sterylizacji również przed powtórny użyciem. **Elementy, których nie można poddać skutecznej sterylizacji, należy wymieniać na nowe.**

Szczury

Szczury to zwierzęta silnie stadne, bardzo inteligentne, aktywne głównie nocą. Zwierzęta te w środowisku naturalnym dużą ilość czasu poświęcają na poszukiwanie pożywienia, eksplorowanie otoczenia i zabawę. Odbierają otoczenie i komunikują się ze sobą przede wszystkim za pomocą zapachu, dotyku i słuchu. Ich silnym instynktem jest zgryzanie - ścierają sobie w ten sposób zęby, zapobiegając ich przerostowi, a także rozładowują stres i pobudzenie. Szczury dużo czasu poświęcają także na mycie oraz iskanie siebie i innych osobników. Czynność ta często wykorzystywana jest też przez nie jako próba radzenia sobie ze stresem lub nudą, dlatego nasilone iskanie powinno skłonić do obserwacji zwierzęcia oraz poziomu jego dobrostanu. Do katalogu naturalnych szczurzych zachowań należą także: chowanie się, wspinanie się, kopanie w ziemi, stawanie na tylnych łapach, a także skłonność do poruszania się przy ścianach. Jak dowiedziono, nawet szczury wychowane w laboratoryjnych klatkach, które uniemożliwiają im te czynności, gdy tylko mają taką możliwość, wykonują je dość często (*I.J.Makowska, D. M. Weary, The importance of burrowing, climbing and standing upright for laboratory rats, Royal Society Open Science, <http://rsos.royalsocietypublishing.org/content/3/6/160136>*).

1. Utrzymywanie w grupach

Podstawą zapewnienia szczurom dobrostanu jest utrzymywanie ich w grupach. Zwierzęta te bardzo źle znoszą samotność, która może skutkować osłabieniem ich kondycji psychicznej i fizycznej, a co za tym idzie - obniżeniem poziomu dobrostanu. Ustalając liczbę szczurów w klatce, należy brać pod uwagę to, że laboratoryjne klatki nie mają dużych rozmiarów, dlatego najlepsza liczba to zazwyczaj 2-3 osobniki w jednej klatce. Większe zagęszczenie osobników wpływa na znaczne ograniczenie ich przestrzeni życiowej, co z kolei obniża dobrostan zwierząt. Należy także dostosowywać liczbę osobników w klatce do ich masy ciała, stosownie do wymogów rozporządzenia wydanego na podstawie art. 19 ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych.

Trudno jest jednoznacznie określić, jaki okres samotności powinien być kwalifikowany jako procedura dotkliwa. Zależy to w szczególności od pozostałych warunków doświadczenia i powinno podlegać indywidualnej ocenie w każdym konkretnym przypadku. Co do zasady uzasadnione jest przyjęcie, iż 24-godzinna izolacja wynika na przykład z potrzeby przeprowadzenia odstawienia od pokarmu lub wody, czy też mająca na celu umiarkowany poziom stresu, motywujący szczury do określonej dalszej aktywności w doświadczeniu, mieści się w kategoriach procedury umiarkowanej, zwłaszcza jeżeli szczury pozostają w jednym pomieszczeniu i na podstawie informacji zapachowych czy też słuchowych wiedzą o obecności pozostałych osobników w bliskiej odległości. Izolacja dłuższa niż 48 godzin, zwłaszcza związana z innymi bodźcami awersyjnymi, w tym na przykład ze zmianą pokoju bytowania czy też zmianą pokarmu lub ściółki może być już rozpatrywana jako kategoria dotkliwa. Konieczność izolacji zwierząt na dłuższy niż 48 h czas powinna być szczególnie wyczerpująco uzasadniona we wniosku o udzielenie zgody na przeprowadzenie doświadczenia

na zwierzętach. Ogólnie należy dążyć do takiego dopracowania warunków metody doświadczalnej, aby w klatce przebywały przynajmniej po 2 osobniki.

Jeżeli zwierzęta przebywają w samotności przez cały okres doświadczenia, należy zwrócić szczególną uwagę na wzbogacenia środowiska oraz kontakt z eksperymentatorem, który powinien być dłuższy i częstszy, niż w przypadku zwierząt utrzymywanych w grupach. Jeżeli warunki eksperymentu wymagają utrzymywania zwierząt pojedynczo, szczególnie wtedy powinny one mieć dostęp do urozmaiceń środowiska, a także powinny być utrzymywane w klatkach przezroczystych, przy ustawieniu zapewniającym w miarę bliskie sąsiedztwo z innymi osobnikami swojego gatunku, tak aby mogły się z nimi komunikować przynajmniej za pomocą bodźców węchowych, słuchowych oraz wzrokowych.

2. Schronienia, domki, kryjówki, platformy, zabawki

Szczury nie czują się dobrze w otwartych przestrzeniach, ich naturalnym zachowaniem jest szukanie miejsc, w których mogą się schować. Spośród wszystkich dostępnych wzbogaceń szczury najbardziej preferują miejsca do schronienia, dlatego kluczowe jest zapewnienie im przynajmniej jednej kryjówki w klatce (Manser CE *et al.* (1998). Investigations into the preferences of laboratory rats for nest-boxes and nesting materials. *Laboratory Animals* 32(1): 23-35. [doi: 10.1258/002367798780559365](https://doi.org/10.1258/002367798780559365)).

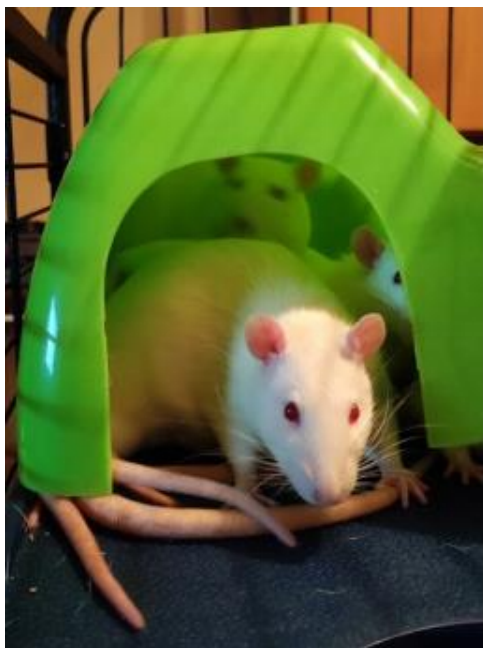
Kryjówka powinna być odpowiednio dopasowana do wielkości osobników. Często popełnianym błędem jest traktowanie rolki po papierze toaletowym jako wystarczające wzbogacenie dla dorosłych szczurów - tymczasem dorosłe osobniki nie mieszczą się w nich, co powoduje, że nie spełniają one roli kryjówki. W tym przypadku rolki mogą jedynie pełnić rolę materiału do zgryzienia lub zabawy.

Należy także zapewnić, aby kryjówka zajmowała tyle miejsca, aby zwierzętom pozostawiono swobodną przestrzeń do poruszania się. W przypadku niewielkich klatek alternatywą jest stosowanie kryjówek podwieszanych do kraty lub ewentualne umieszczanie w nich kryjówek jedynie tymczasowo. W odniesieniu do zwierząt znacznej wielkości, zamiast dużego domku warto rozważyć umieszczenie w klatce większej niż standardowo ilości materiału gniazdowego, który umożliwi zwierzęciu schowanie się, nie zajmując jednocześnie przestrzeni do poruszania się. Warto ponadto uwzględnić, że badania dowiodły, iż szczury preferują kryjówki z jednej strony zamknięte - przypominające norkę (I.J.Makowska, D. M. Weary, *The importance of burrowing, climbing and standing upright for laboratory rats*, *Royal Society Open Science*, <http://rsos.royalsocietypublishing.org/content/3/6/160136>).

Przykłady kryjówek dla szczurów:

- papierowe rurki, tekturowe tuby o średnicy dopasowanej do wielkości zwierząt,
- pojemniki z masy papierowej (np. stosowane do przechowywania malin),
- małe kartonowe pudełka z wyciętym otworem,
- rurki PCV,

- doniczki/osłonki,
- słoiki,
- drewniane arkady,
- domki





powyżej kryjówka tzw. sputnik - może być zarówno stojąca, jak i podwieszana





powyżej przykładowe podwieszane konstrukcje

Źródło: Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

3. Ściółka

Szczury preferują klatki z litymi podłogami i wykazują oznaki stresu i dyskomfortu, gdy są utrzymywane w klatkach z drucianą podłogą bez wzbogacania (van de Weerd, van den Broekb i Baumansaet 1996). Oznacza to, że o ile nie istnieje solidne naukowe uzasadnienie, aby zastosować inne warunki utrzymania, szczury powinny być umieszczane w klatkach z lity podłogą.

Ściółka stosowana w klatce powinna być niepyląca, nietoksyczna, sucha, chłonna i wolna od czynników zakaźnych. Ilość ściółki powinna umożliwiać zwierzętom zagrzebywanie się w celu termoregulacji i poczucia bezpieczeństwa. Należy jednak zwrócić uwagę, że szczury nie potrzebują tak grubej warstwy ściółki jak myszy czy myszokoczki.

Szczury preferują ściółkę drewnopochodną o większych cząsteczkach, taką jak bezpyłowe wióry. Także wielkość granulatu ma znaczenie, ponieważ szczury bawią się ziarnami, np. podrzucają je, przenoszą i układają (Blom HJ *et al.* (1996). Preferences of mice and rats for types of bedding material. *Laboratory Animals* 30(3)).

Częstotliwość wymiany ściółki powinna być dostosowana do rodzaju klatki, stanu zdrowia zwierząt, rodzaju doświadczenia, zagęszczenia zwierząt w klatce etc., jednakże powinna być ona wymieniana nie rzadziej niż raz na 2-3 tygodnie. . Czyszczenie klatek może zaburzać zachowania w grupie szczurów, nie tylko dlatego, że rutynowo odbywa się w ciągu dnia, kiedy zwierzęta zwykle śpią, ale także ze względu na umieszczenie ich w nowym środowisku, co spowoduje zmianę komunikacji feromonowej. Z uwagi na to zaleca się przeniesienie garści zużytej ściółki do nowej klatki, aby zachować elementy zapachowe znajome zwierzętom. Taka praktyka może obniżyć ich poziom stresu po zmianie ściółki.

Rodzaje polecanych ściółek:

- ściółki osikowe,
- odpylone trociny,
- ściółka lniana,

- ściółka konopna.

Kopanie norek zajmuje szczirom średnio ok. 20-30 minut dziennie. Robią to w celu zapewnienia sobie schronienia, miejsca do spożywania pokarmów, spania oraz wychowywania młodych. Jest to istotne i naturalne zachowanie, właściwe dla tego gatunku – przejawiają je nawet szczury, które nie miały uprzednio technicznych możliwości jego realizowania, nadto u niektórych szczurów można zauważyć zachowania przypominające kopanie w podłożu, nawet gdy podłoże na to nie pozwala. Wówczas zachowane to przejawia się w sytuacjach stresujących, jako próba zachowania bezpieczeństwa i komfortu (I.J. Makowska, D. M. Weary).

4. Materiał gniazdowy

Wykazano, że stosowanie materiału do budowy gniazd w klatkach szczurów ma pozytywny wpływ zarówno na fizjologię, jak i psychologię tych zwierząt. Dlatego też w klatkach należy umieszczać materiał gniazdowy taki jak lignina, celuloza, wełna drzewna, papierowe chusteczki. Jest to szczególnie istotne w przypadku ciężarnych i karmiących samic, lecz nie powinno się ograniczać tylko do nich (Vitalo AG *et al.* (2012). *Environmental enrichment with nesting material accelerates wound healing in isolation-reared rats*. Behavioural Brain Research 226(2): 606-612. [doi: 10.1016/j.bbr.2011.09.038](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.09.038)). W przypadku braku możliwości zapewnienia zwierzętom kryjówki (np. domku) w klatce, można zastąpić ją dużą ilością materiału gniazdowego.

5. Materiał do gryzienia

Podobnie jak u wielu innych gryzoni, przednie zęby u szczurów rosną przez całe życie. Aby zapobiec ich przerostowi, niezbędne jest zapewnienie twardych przedmiotów do gryzienia. W przeciwnym razie istnieje możliwość rozwinięcia się u tych zwierząt wad zgryzu, w konsekwencji powodujących nawet niedożywienie. Dietę zawierającą twarde granulki należy uznać za minimalny wymóg niezbędny do utrzymania właściwej długości zębów. Ponadto należy zapewnić zwierzętom drewniane klocki lub, jeśli to możliwe, gałązki drzew liściastych. Wymaga podkreślenia, że zgryzanie pozwala zwierzętom również rozładować stres i pobudzenie.

6. Podwyższone pokrywy klatek lub klatki typu *double decker*

Rozciąganie się, czyli stawanie w wyprostowanej pozycji na tylnych nogach jest jedną z podstawowych potrzeb behawioralnych u szczurów – łączy się ona często z eksplorowaniem otoczenia poprzez wążanie, a także z rozprostowywaniem stawów, co szczury robią i wertykalnie i poziomo. Badania wykazały, że dorosłe szczury spędzają od 5 do 14% dziennej aktywności na staniu na tylnych kończynach i wspinaniu się do wysokości powyżej 22 cm i od 3 do 6% dziennej aktywności na staniu i wspinaniu się powyżej 27 cm. Młode szczury (2,5-miesięczne) stają na tylnych kończynach i wspinają się średnio do wysokości 22,5 cm,

a dorosłe (8-13 miesięcy) do wysokości 26-30 cm. Młode szczury częściej rozprostowują ciało na tylnych kończynach – 180 razy, czyli robią to przez ok. 10 minut dziennie, starsze – 75 razy.

Laboratoryjne klatki, których wysokość wynosi minimum 18 cm od podłogi uniemożliwiają dorosłym szczurom swobodne stawanie i rozprostowywanie ciała (należy także uwzględnić warstwę ściółki, która zmniejsza wysokość klatki dostępnej dla zwierzęcia). Prowadzi to do zubożenia katalogu naturalnych zachowań, które mogą być realizowane przez zwierzęta, a także do usztywnionej pozycji ciała. Często szczury decydują się na rozciąganie boczne, aby złagodzić negatywny wpływ konwencjonalnych klatek na ich posturę. (I.J.Makowska, D. M. Weary, *The importance of burrowing, climbing and standing upright for laboratory rats*, *Royal Society Open Science*, <http://rsos.royalsocietypublishing.org/content/3/6/160136>).

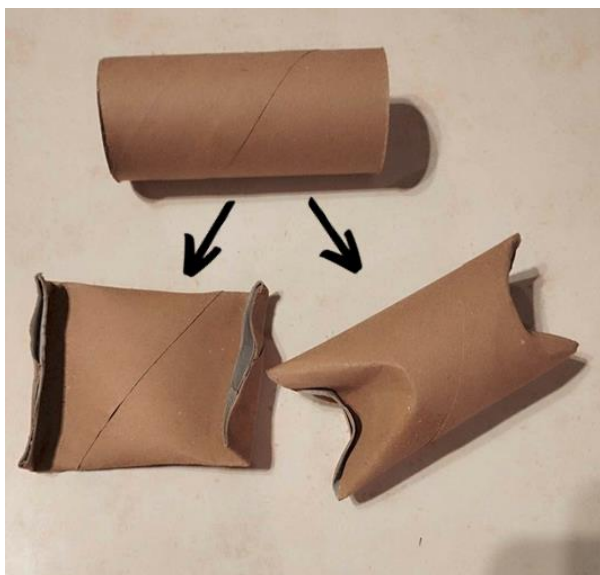
Szczurom laboratoryjnym, ze względu na osiadły tryb życia i ograniczone możliwości przemieszczania się, należy jednak zapewnić możliwość rozprostowywania sztywnych stawów nie tylko za pomocą poziomego rozciągania się. Aby podnieść poziom ich dobrostanu należy rozważyć wprowadzenie rozwiązania umożliwiającego czynność wspinania się (stosowane stale lub tymczasowo). W szczególności można rozważyć wymianę pokryw klatki na wyposażone w podwyższenie lub wymianę klatek na klatki typu *double decker*, gdzie całkowita wysokość klatki wynosi 38 cm, co zapewnia szczurom większą przestrzeń, umożliwiającą realizację naturalnych zachowań (<https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry-rat>), ale także umieszczanie zwierząt na wybiegach lub w „placach zabaw”, handling, a nawet częste otwieranie klatki.

7. Wzbogacenia żywieniowe i zabawki ze „smaczkami”

Bardzo prostym sposobem na wzbogacenie środowiska gryzoni laboratoryjnych jest zastosowanie wzbogaceń żywieniowych, tj. podawanie zwierzętom pokarmu, który odbiega od ich codziennej diety (np. płatki owsiane), w sposób stymulujący je do aktywności. Wówczas zwierzęta mogą realizować swoje naturalne eksploracyjne potrzeby. Jest to ponadto dla nich również urozmaicenie, pozwalające redukować stres i nudę.

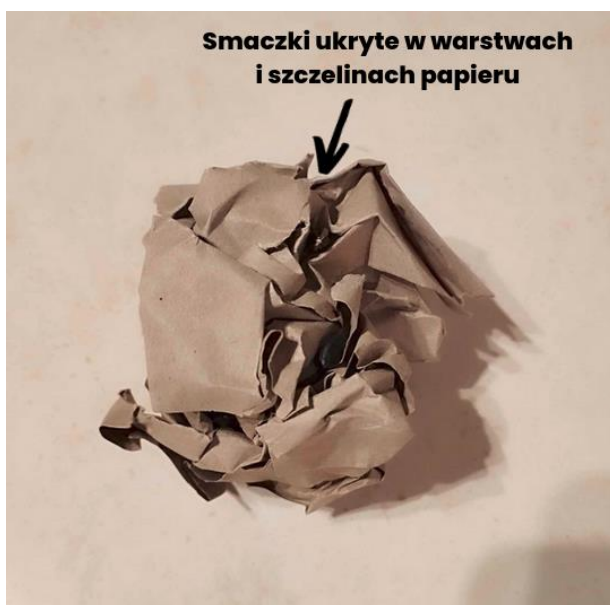
Przykłady aktywizujących form podania „smaczków”:

- rozrzucenie/zakopanie pokarmu w ściółce;
- użycie rolek po papierze toaletowym w charakterze zabawek, w których umieszcza się jedzenie (końce rolki należy zagiąć tak, by jedzenie nie wypadło ze środka, dostęp do pokarmu zwierzęta uzyskują dopiero po przegryzieniu rolki – zob. fotografia poniżej);



Źródło: Zofia Pawelska, Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

- papierowa kula ze smaczkami (należy zgnieść kulę z kartki papieru, a pomiędzy jej warstwy włożyć smaczki, np. płatki owsiane – zob. fotografia poniżej; wzbogacenie wprowadza konieczność poszukiwania pokarmu w szczelinach);



Źródło: Zofia Pawelska, Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

8. Wybiegi, „place zabaw”

Należy wziąć pod uwagę, że wzbogacenia nie muszą stanowić wyłącznie elementów umieszczanych w klatkach zwierząt w sposób stały. Niezwykle urozmaicającą zwierzętom środowisko formą wzbogacenia są wybiegi, „place zabaw” dla zwierząt, wykonane z dużych komercyjnych klatek lub laboratoryjnych klatek dla królików, w których zwierzęta mogą bawić się i eksplorować otoczenie.

Wymaga jednak podkreślenia, że tego typu rozwiązania powinny być wprowadzane wyłącznie, gdy nie stoją temu na przeszkodzie warunki hodowli (np. warunki podwyższonej sterylności) lub też specyfika konkretnego doświadczenia. Ponadto, nawet jeśli stosowanie tego rodzaju rozwiązań jest możliwe, należy zapewnić skuteczną sterylizację wykorzystywanych klatek i ich wyposażenia, w szczególności poprzez przecieranie powierzchni środkiem weterynaryjnym do dezynfekcji.

Tego typu wzbogacenia mogą być stosowane okazjonalnie, np. raz lub dwa razy w tygodniu. Mogą być one wyposażone w schodki do wspinania się, półki, zabawki, smakołyki, różnego typu przedmioty do gryzienia czy też tunele. Wykonanie tego rodzaju urozmaicenia nie jest skomplikowane, a może być ono wykorzystywane wielokrotnie, dla wielu pokoleń zwierząt.

Szczury mogą być umieszczane w „placu zabaw” na kilkanaście lub kilkadziesiąt minut, w takich grupach, w jakich przebywają w klatkach domowych. Po upływie wskazanego czasu zwierzęta umieszcza się z powrotem w klatkach domowych. Przebywanie w takim środowisku pozwala w dużym stopniu zaspokoić potrzeby gatunkowe tych zwierząt, rozładować ich energię, odreagować stresujące sytuacje (np. związane z procedurą), rozprostować ciało, a także zachęcić do aktywności i zabawy, redukujących skutki dystresu. Szczury korzystające z „placów zabaw” lub wybiegów wykazują szerszy zakres zachowań, niż jest to możliwe w klatkach domowych, w tym rozciąganie w pionie, skakanie, kopanie, wspinanie się i wchodzenie w interakcje z innymi osobnikami.

Wymaga jednocześnie odnotowania, że „place zabaw” lub wybiegi stanowią ponadto okazję do wchodzenia w interakcję z opiekunem/eksperymentatorem, co wpływa pozytywnie na oswojenie zwierząt i redukcję stresu związanego z kontaktem z człowiekiem, w związku z czym mogą być one wykorzystywane w ramach handlingu. Okres przebywania poza klatką domową umożliwia ponadto zapoznanie zwierząt (np. poprzez obwąchanie) z nowymi przedmiotami, takimi jak narzędzia wykorzystywane w procedurach poprzez umieszczenie ich na wybiegu.

Poniższe linki zawierają więcej informacji na temat wybiegów oraz możliwości ich wykonania:
<https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/rat-playpens>
<https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/housing-and-husbandry-rat>

Poniższe zdjęcie ilustruje model klatki wykorzystanej jako wybieg lub „plac zabaw”:



Źródło: <https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/rat-playpens#improve>

Wymaga podkreślenia, że „plac zabaw” lub wybiegi mogą być stosowane incydentalnie lub cyklicznie zwłaszcza w przypadku eksperymentów zaplanowanych na dłuższy okres, zwłaszcza gdyby zwierzęta były utrzymywane pojedynczo. Wówczas szczególnie istotne jest zwiększenie aktywności zwierząt oraz zapewnienie im dodatkowych bodźców, poprzez umieszczenie w „placu zabaw” lub na wybiegu elementów, które nie mieszczą się w standardowej klatce np. długie tunele, drabinki, zabawki.

Myszy

Mysz jest gryzoniem nocnym o norująco-eksploracyjnej naturze. Na otwartych przestrzeniach może czuć się zagrożona, więc preferuje przebywanie w gniazdach, norkach i różnego rodzaju kryjówkach. Myszy są zwierzętami bardzo społecznymi i na wolności żyją w grupach rodzinnych, składających się zwykle z dominującego samca, kilku samic z potomstwem i podporządkowanych samców (van Loo PLP and Baumans V (2015). Mice. In: [Comfortable Quarters for Laboratory Animals](#) Eds. Liss C, Litwak K, Tilford D, Reinhardt V), Animal Welfare Institute).

1. Utrzymywanie w grupach

Podstawą zapewnienia myszom dobrostanu jest utrzymywanie ich w grupach. Zwierzęta te źle znoszą samotność, która może skutkować osłabieniem ich kondycji psychicznej i fizycznej, a co za tym idzie - obniżeniem poziomu dobrostanu. Myszy utrzymywane w grupach zapewniają sobie wzajemne wsparcie społeczne w obliczu stresującej sytuacji. Badania dowodzą ponadto, że myszy utrzymywane w grupie, w przeciwieństwie do myszy utrzymywanych pojedynczo, wykazywały mniejszą potrzebę otrzymywania środków przeciwbólowych w trakcie rekonwalescencji pooperacyjnej (Pham TM *et al.* (2010). Housing environment influences the need for pain relief during post-operative recovery in mice. *Physiology and Behaviour* 99(5): 663-8. [doi: 10.1016/j.physbeh.2010.01.038](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.01.038)).

Przy ustalaniu odpowiednich warunków, urozmaiceń oraz zagęszczenia osobników w klatce, oprócz wymogów prawnych, wskazane jest, aby uwzględniać również specyfikę konkretnego szczepu, gdyż dostrzeżono między nimi różnice behawioralne oraz w adaptacji do środowiska.

Samce myszy są terytorialne – w warunkach naturalnych dominujący samiec broni swojego terytorium oraz dostępu do pożywienia i samic. Utrzymywanie w klatce kilku samców może prowadzić do częstych walk (w tym nawet kończących się śmiercią zwierzęcia), w związku z czym istotne jest monitorowanie stabilności grupy, a także zaniechanie wprowadzania w niej zbędnych zmian, w tym zwłaszcza poprzez wprowadzanie nowego osobnika. Aby minimalizować wpływ agresji na relacje w stadzie, należy ponadto zapewniać wyposażenie klatki w jak największą liczbę urozmaiceń i kryjówek, umożliwiających zwierzętom unikanie konfliktowych sytuacji lub rozładowywanie stresu.

Może ponadto zdarzać się, że ze względu na dobrostan zwierząt uzasadnione będzie odizolowanie osobnika będącego agresorem. W takich okolicznościach bezwzględnie konieczne jest jednak zapewnienie mu większej liczby urozmaiceń i możliwości stymulacji, a także uważna obserwacja, czy nie pojawiają się u niego zachowania stresowe o podłożu izolacyjnym. Jak już jednak wskazano, myszy są zwierzętami stadnymi, w związku z czym jeśli ich życie i zdrowie nie jest zagrożone, należy unikać utrzymywania ich pojedynczo, gdyż znacząco wpływa to na obniżenie ich dobrostanu.

Więcej informacji o strategiach minimalizowania agresji u samców myszy oraz unikania utrzymywania samców pojedynczo jest dostępnych pod linkiem: <https://www.nc3rs.org.uk/minimising-aggression-group-housed-male-mice>, a także w szczególności w publikacji Azkona G. and Caballero J.M. (2019). Implementing strategies to reduce singly housed male mice. *Laboratory Animals* 53(5): 508–510. [doi: 10.1177/0023677219845028](https://doi.org/10.1177/0023677219845028).

Odizolowanie osobnika od pozostałych zwierząt powinno być wyczerpująco i przekonująco uzasadnione potrzebą doświadczenia. Jeżeli rzeczywiście dowiedziono, że warunki eksperymentu wymagają utrzymywania zwierząt pojedynczo, wymagane jest zapewnienie im dostępu do urozmaiceń środowiska. W takich przypadkach zwierzęta powinny być ponadto utrzymywane w klatkach przezroczystych, we w miarę bliskim sąsiedztwie, tak aby mogły się ze sobą komunikować przynajmniej za pomocą bodźców węchowych, słuchowych oraz wzrokowych.

2. Schronienia, kryjówki, domki, platformy, zabawki

Myszy to zwierzęta bardzo płochliwe. Wykazują one silne zachowania lękowe w sytuacjach zagrożenia (ucieczka, chowanie się, gryzienie). W ten sposób postrzegają w szczególności ingerencję człowieka, jeżeli nie są z nim oswojone. Umożliwienie im dostępu do kryjówek jest jedną z podstawowych zasad, które powinny być uwzględnione w projektowaniu przestrzeni klatki. Jak sygnalizowano, kryjówki pozwalają również skryć się zwierzętom w sytuacjach konfliktowych w stadzie.

Ze względu na małe rozmiary tych zwierząt, o wiele łatwiej jest zapewnić myszom odpowiednie kryjówki i zabawki, niż szczurom. Naturalnym zachowaniem myszy jest także wspinalanie się, dlatego warto zapewnić im urozmaicenia takie jak mostki, antresole, drabinki lub zwisające zabawki.

Przykłady wzbogaceń:

- papierowe rurki (zarówno w charakterze kryjówek, jak i materiału gniazdowego oraz aktywizujących form podania „smaczków”);



Źródło: Zofia Pawelska, Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

- domki;
- wytłoczki po jajkach;
- pojemniki z masy papierowej (np. stosowane do przechowywania malin) lub pudełka;
- mostki, platformy, arkady;
- rurki PCV;
- doniczki/osłonki;
- słoiki;
- kawałki siatki (bez ostrych elementów) zwisające z pokrywy klatki (naturalną potrzebą myszy jest wspinanie się oraz ćwiczenia balansowania, równowagi; siatka stanowi zwisającą zabawkę, którą łatwo można poddać sterylizacji);



Źródło: <https://www.ri.se/en/what-we-do/expertises/3r-focus-on-animal-welfare>



powyżej kryjówka tzw. sputnik - może być zarówno stojąca, jak i podwieszana





powyżej przykładowe podwieszane konstrukcje

Źródło: Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

Dobrym rozwiązaniem pozwalającym na zapewnienie myszom odpowiedniej ilości ruchu są dyski do biegania. Mimo, że nie jest to najbardziej preferowane przez myszy wzbogacenie, należy wziąć pod uwagę pozytywny wpływ wysiłku fizycznego na organizm, przestrzenne uczenie się oraz wzmacnianie pamięci u myszy (U. Hobbiesiefken, P. Mieske, L. Lewejohann, K. Diederich, *Evaluation of different types of enrichment - their usage and effect on home cage behavior in female mice*, 2021,

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0261876>). Należy wziąć pod uwagę okoliczność, iż w warunkach laboratoryjnych dyski sprawdzają się lepiej od kołowrotek. Z kolei kołowrotek odpowiedni dla myszy powinien mieć średnicę minimum 20 cm. Mniejsze kołowrotki nie zapewniają myszom odpowiedniej przestrzeni, zmuszają do aktywności w nienaturalnej postawie ciała, co może prowadzić do schorzeń kręgosłupa.

Oczywiste jest, iż ze względów praktycznych, w tym w szczególności z uwagi na dopuszczoną przepisami prawa stosunkowo niewielką minimalną powierzchnię klatki, niemożliwe jest stosowanie wszystkich wzbogaceń jednocześnie. Z uwagi na ograniczenie przestrzeni (ale też np. z uwagi na specyfikę doświadczenia) z wielu z nich mysz nie będzie mogła korzystać w sposób optymalny. Dlatego też, podobnie jak w przypadku szczurów, można rozważyć stosowanie „placów zabaw”, do których myszy byłyby wprowadzane na okres kilkunastu lub kilkudziesięciu minut, kilka razy w tygodniu, w celu zaspokojenia naturalnych potrzeb.

3. Ściółka

Myszy preferują lite podłogi z odpowiednią ściółką, np. wiórami drzewnymi. Stosowanie podłóg z siatki lub siatki drucianej wymaga wyczerpującego i przekonującego uzasadnienia naukowego. Co do zasady należy tego unikać, ponieważ takie warunki utrzymania mogą prowadzić do obrażeń ciała zwierząt i znaczącego obniżenia ich dobrostanu.

Ściółka stosowana w klatce powinna być niepyląca, nietoksyczna, sucha, chłonna i wolna od czynników zakaźnych. Ilość ściółki powinna umożliwiać zwierzętom zagrzebywanie się w celu termoregulacji i poczucia bezpieczeństwa. Naturalnym zachowaniem myszy jest tworzenie norek, więc ilość ściółki powinna umożliwiać im swobodne zakopywanie się.

Częstotliwość wymiany ściółki powinna być dostosowana do rodzaju klatki, stanu zdrowia zwierząt, rodzaju doświadczenia, zagęszczenia zwierząt w klatce etc., jednakże powinna być ona wymieniana nie rzadziej niż raz na 2-3 tygodnie. Istotne przy sprzątaniu klatek u samców jest zachowanie elementów zapachowych (na elementach urozmaicenia, ściółce lub gniazdach), gdyż redukcja wszystkich sygnałów zapachowych może zaburzać hierarchię oraz wywoływać agresję.

Polecane rodzaje ściótek:

- ściółki osikowe,
- odpylone trociny,
- ściółka lniana,
- ściółka konopna.

4. Materiał gniazdowy

W porównaniu z wszelkimi innymi formami wzbogaceń środowiska, myszy preferują materiał do gniazdowania. Spędzają od 10 do 20% czasu swojej aktywności na modyfikowaniu gniazda, dlatego materiał umożliwiający jego budowę powinien stanowić kluczowy element wzbogacenia klatki - zarówno dla samic, jak i samców (Olsson IA and Dahlborn K (2002). Improving housing conditions for laboratory mice: a review of 'environmental enrichment'. *Laboratory animals* 36(3): 243-70. [doi: 10.1258/002367702320162379](https://doi.org/10.1258/002367702320162379)).

Typowymi materiałami do budowy gniazd myszy laboratoryjnych są chusteczki, paski papieru, celuloza, lignina, sprasowane kawałki bawełny, wełna drzewna, wióry drzewne, siano.

Warto też odnotować, że obserwacja i ocena gniazd jest dobrym narzędziem umożliwiającym identyfikację problemów zdrowotnych i dobrostanowych u myszy. Więcej informacji w tym zakresie dostępnych jest w literaturze:

- Deacon R (2012). Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice. *Journal of Visualized Experiments* (59): e2607. [doi: 10.3791/2607](https://doi.org/10.3791/2607);
- Jirkof P (2013). Assessment of postsurgical distress and pain in laboratory mice by nest complexity scoring. *Lab Animals* 47(3): 153-61. [doi: 10.1177/0023677213475603](https://doi.org/10.1177/0023677213475603);
- Kraeuter A *et al.* (2019). The nest building test in mice for assessment of general welfare. *Methods in Molecular Biology*. 1916: 87-91. [doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_7);
- Gaskill BN *et al.* (2013). Nest building as an indicator of health and welfare in laboratory mice. *Journal of Visualized Experiments* (82): 51012. [doi: 10.3791/51012](https://doi.org/10.3791/51012);
- Jirkof P (2010). Burrowing Behavior as an Indicator of Post-Laparotomy Pain in Mice. *Frontiers in Behavioural Neuroscience* 4: 165. [doi: 10.3389/fnbeh.2010.00165](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2010.00165).

Należy zwrócić uwagę, że budowanie gniazd jest jedną z behawioralnych różnic pomiędzy szczepami - np. szczep BALB/c jest lepszym budowniczym gniazd niż np. szczep C57Bl/6

czy CD-1 (Lee C and Wong PTP (2013) Temperature effect and strain differences in the nest-building behavior of inbred mice. *Animal Psychology* 20: 9-10. [doi: 10.3758/BF03335572](https://doi.org/10.3758/BF03335572)). Kwestie te należy zatem uwzględnić przy planowaniu warunków utrzymania zwierząt.

5. Materiał do gryzienia

Zgryzanie jest naturalnym zachowaniem myszy, ich zęby rosną przez całe życie. Dlatego istotne jest zapewnienie myszom materiału do gryzienia. W przeciwnym razie istnieje możliwość rozwinęcia się u tych zwierząt wad zgryzu, w konsekwencji powodujących nawet niedożywienie. Zgryzanie pozwala zwierzętom również rozładować stres i pobudzenie.

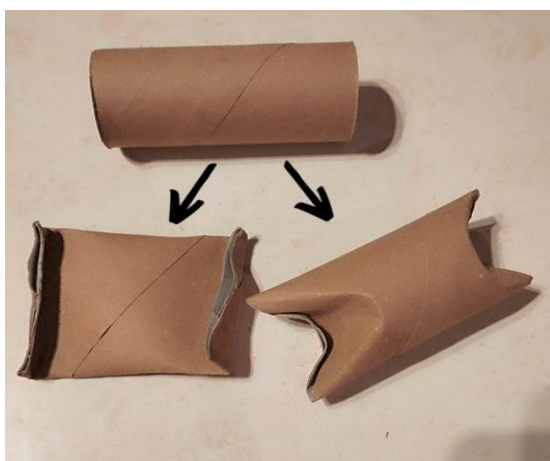
Dietę zawierającą twarde granulki należy uznać za minimalny wymóg niezbędny do utrzymania długości zębów. Należy również zapewnić zwierzętom także drewniane klocki lub, jeśli to możliwe, gałązki drzew liściastych. Najprostsze rozwiązanie to komercyjnie dostępne osikowe klocki.

6. Wzbogacenia żywieniowe i zabawki ze „smaczkami”

Bardzo prostym sposobem na wzbogacenie środowiska gryzoni laboratoryjnych jest zastosowanie wzbogaceń żywieniowych, tj. podawanie zwierzętom pokarmu, który odbiega od ich codziennej diety (np. płatki owsiane), w sposób stymulujący je do aktywności. Wówczas zwierzęta mogą realizować swoje naturalne eksploracyjne potrzeby. Jest to ponadto dla nich również urozmaicenie, pozwalające redukować stres i nudę.

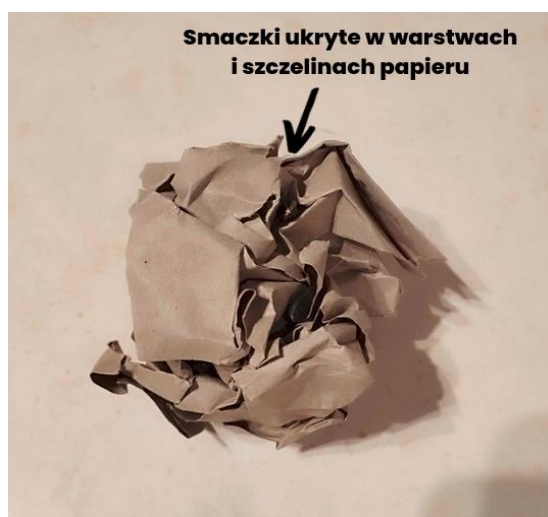
Przykłady aktywizujących form podania „smaczków”:

- rozrzucenie/zakopanie pokarmu w ściółce;
- użycie rolek po papierze toaletowym w charakterze zabawek, w których umieszcza się jedzenie (końce rolki należy zagiąć tak, by jedzenie nie wypadło ze środka, dostęp do pokarmu zwierzęta uzyskują dopiero po przegryzieniu rolki – zob. fotografia poniżej);



Źródło: Zofia Pawelska, Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

- papierowa kula ze smaczkami (należy zgnieść kulę z kartki papieru, a pomiędzy jej warstwy włożyć „smaczki”, np. płatki owsiane – zob. fotografia poniżej; wzbogacenie wprowadza konieczność poszukiwania pokarmu w szczelinach);



Źródło: Zofia Pawelska, Fundacja Lab Rescue - Adopcje Zwierząt Laboratoryjnych

7. Wybiegi, place zabaw

Należy wziąć pod uwagę, że wzbogacenia nie muszą stanowić wyłącznie elementów umieszczanych w klatkach zwierząt w sposób stały. Niezwykle urozmaicającą zwierzętom środowisko formą wzbogacenia są wybiegi, „place zabaw” dla zwierząt, wykonane z większych klatek, w których zwierzęta mogą bawić się i eksplorować otoczenie.

Wymaga jednak podkreślenia, że tego typu rozwiązania powinny być wprowadzane wyłącznie, gdy nie stoją temu na przeszkodzie warunki hodowli (np. warunki podwyższonej sterylności) lub też specyfika konkretnego doświadczenia. Ponadto, nawet jeśli stosowanie tego rodzaju rozwiązań jest możliwe, należy zapewnić skuteczną sterylizację wykorzystywanych klatek i ich wyposażenia, w szczególności poprzez przecieranie powierzchni środkiem weterynaryjnym do dezynfekcji.

Tego typu wzbogacenia mogą być stosowane okazjonalnie, np. raz lub dwa razy w tygodniu. Mogą być one wyposażone w schodki do wspinania się, półki, zabawki, smakołyki, różnego typu przedmioty do gryzienia czy też tunele. Wykonanie tego rodzaju urozmaicenia nie jest skomplikowane, a może być ono wykorzystywane wielokrotnie, dla wielu pokoleń zwierząt.

Myszy mogą być umieszczane w „placu zabaw” na kilkanaście lub kilkadziesiąt minut, w takich grupach, w jakich przebywają w klatkach domowych. Po upływie tego czasu zwierzęta umieszcza się z powrotem w klatkach domowych. Przebywanie w takim środowisku pozwala w dużym stopniu zaspokoić potrzeby gatunkowe tych zwierząt, rozładować ich energię, odreagować stresujące sytuacje (np. związane z procedurą), rozprostować ciało, a także zachęcić do aktywności i zabawy, redukujących skutki dystresu. Myszy korzystające

z „placów zabaw” lub wybiegów wykazują szerszy zakres zachowań, niż jest to możliwe w klatkach domowych, w tym skakanie, kopanie, bieganie, wspinanie się i wchodzenie w interakcje z innymi osobnikami.

Wymaga jednocześnie odnotowania, że „plac zabaw” lub wybiegi stanowią ponadto okazję do wchodzenia w interakcję z opiekunem/eksperymentatorem, co wpływa pozytywnie na oswojenie zwierząt i redukcję stresu związanego z kontaktem z człowiekiem, w związku z czym mogą być one wykorzystywane w ramach handlingu. Okres przebywania poza klatką domową umożliwia ponadto zapoznanie zwierząt (np. poprzez obwąchanie) z nowymi przedmiotami, takimi jak narzędzia wykorzystywane w procedurach poprzez umieszczenie ich na wybiegu.

Wymaga podkreślenia, że „plac zabaw” lub wybiegi mogą być stosowane incydentalnie lub cyklicznie zwłaszcza w przypadku eksperymentów zaplanowanych na dłuższy okres, zwłaszcza gdyby zwierzęta były utrzymywane pojedynczo. Wówczas szczególnie istotne jest zwiększenie aktywności zwierząt oraz zapewnienie im dodatkowych bodźców, poprzez umieszczenie w „placu zabaw” lub na wybiegu elementów, które nie mieszczą się w standardowej klatce np. długie tunele, drabinki, zabawki.

Wzbogacenia w specjalnych warunkach

Przykład: doświadczenia żywieniowe

Doświadczenia żywieniowe stanowią szczególną grupę doświadczeń, w której eksperymetatorzy uzasadniają konieczność odstąpienia od wzbogaceń ze względu na możliwość zaburzenia wyników doświadczenia. Należy wziąć przy tym pod uwagę, iż doświadczenia żywieniowe z reguły są planowane na okresy co najmniej kilkutygodniowe, bardzo często zwierzęta w nich wykorzystywane mają być utrzymywane pojedynczo. Ponadto ze względu na specyfikę doświadczenia, mają one również stosunkowo niewielki kontakt z eksperymentatorem (w odróżnieniu do szeregu doświadczeń, w którym ten kontakt jest wymuszony przez konieczność adaptacji do szeregu czynności wymaganych procedurą lub wykorzystywanych urządzeń, w tym np. aparatów, w których wykonuje się testy pamięci).

Z uwagi na powyższe często w przypadku eksperymentów żywieniowych wzbogacenia środowiska są nawet bardziej istotne, niż w przypadku innych eksperymentów. Negatywny wpływ braku wzbogacenia może przełożyć się bowiem na ogólny stan zwierząt, w tym na ekspresję poszczególnych białek czy też parametrów biochemicznych.

Należy jednak uwzględnić, że w doświadczeniach żywieniowych, ze względu na ich charakter, nie są zalecane wzbogacenia pokarmowe. Problematiczne i ryzykowne z perspektywy celu doświadczenia są także wzbogacenia papierowe, z tektury, ligniny, celulozy lub drewniane, gdyż mogą zostać spożyte przez zwierzęta. Niemniej należy zauważyć, iż często w doświadczeniach żywieniowych zwierzęta są utrzymywane na standardowej ściółce laboratoryjnej, której wszak nie spożywają. Nie ma więc przesłanek, że będą zgryzać i spożywać domki czy klocki drewniane. Natomiast, zwłaszcza w przypadku doświadczeń, w których podawana jest przykładowo wyłącznie karma mokra, tego rodzaju wzbogacenia wydają się niezbędne w celu zapewnienia ścierania stale rosnących zębów.

Należy także rozważyć stosowanie wzbogaceń z materiałów niemożliwych do pogryzienia przez zwierzęta. W szczególności można stosować wzbogacenia metalowe, takie jak schodki, drabinki, półki itd., wzbogacenia z twardego tworzywa takie jak domki, a także szklane, np. słoik jako kryjówka, szklane zabawki, pod warunkiem, że wzbogacenia te będą wykonane ze szła odpowiedniej grubości oraz będą bezpieczne dla zwierząt (w tym bez ubytków, ostrych krawędzi, pęknięć, wielkości uniemożliwiającej połknięcie etc.).

Wymaga podkreślenia, że w przypadku rezygnacji ze wzbogaceń środowiska (w ogóle lub określonego rodzaju) wymagane jest wyczerpujące i przekonujące naukowe uzasadnienie takiej konieczności.

W przypadku doświadczeń o charakterze żywieniowym można wykorzystać wzbogacenia bierne, w tym w szczególności muzykę. Jak dowodzą badania, muzyka A. Mozarta puszczana zwierzętom w sposób powtarzalny, poprawia ich dobrostan oraz zdolności poznawcze:

- Long-term enhancement of maze learning in mice via a generalized Mozart effect. Aoun P, Jones T, Shaw GL, Bodner M. *Neurol Res.* 2005 Dec;27(8):791-6. doi: 10.1179/016164105X63647;
- Auditory stimulation of opera music induced prolongation of murine cardiac allograft survival and maintained generation of regulatory CD4+CD25+ cells. Uchiyama M, Jin X, Zhang Q, Hirai T, Amano A, Bashuda H, Niimi M. *J Cardiothorac Surg.* 2012 Mar 23;7:26. doi: 10.1186/1749-8090-7-26;
- Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice; Linck VM, da Silva AL, Figueiró M, Caramão EB, Moreno PR, Elisabetsky E. *Phytomedicine.* 2010 Jul;17(8-9):679-83. doi: 10.1016/j.phymed.2009.10.002. Epub 2009 Dec 3.