

Åpningen av Sveriges 3R-senter
Jönköping, 21. november 2017



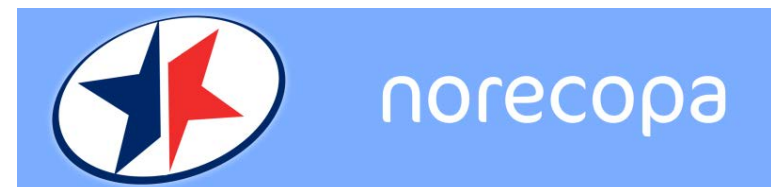
Raffinering av dyreforsøk: Askungen blant de 3 R'ene

Adrian Smith

adrian.smith@norecopa.no

Styremedlem av det danske 3R-senteret
Medlem av den danske nasjonale komitéen
Sekretær av den norske 3R-plattformene Norecopa

Danmarks 3R-Center
RRR
3Rcenter.dk



norecopa.no/211117.pdf

NATURE | NEWS



Swiss survey highlights potential flaws in animal studies

Poor experimental design and statistical analysis could contribute to widespread problems in reproducing preclinical animal experiments.

Ramin Skibba

20 December 2016

Pain management in pigs undergoing experimental surgery; a literature review (2012–4) FREE

A. G. Bradbury, M. Eddleston, R. E. Clutton

Br J Anaesth (2016) 116 (1): 37-45. DOI: <https://doi.org/10.1093/bja/aev301>

Published: 03 October 2015

with analgesic properties, but only 87/233 (37%) described postoperative analgesia. No article provided justification for the analgesic chosen, despite the lack of guidelines for analgesia in porcine surgical models and the lack of formal studies on this subject. Postoperative pain assessment was reported in only 23/233 (10%) articles. It was found that the reporting of postoperative pain management in the studies was remarkably low, reflecting either under-reporting or under-use. Analgesic description, when given, was frequently too limited to enable reproducibility. Development of a

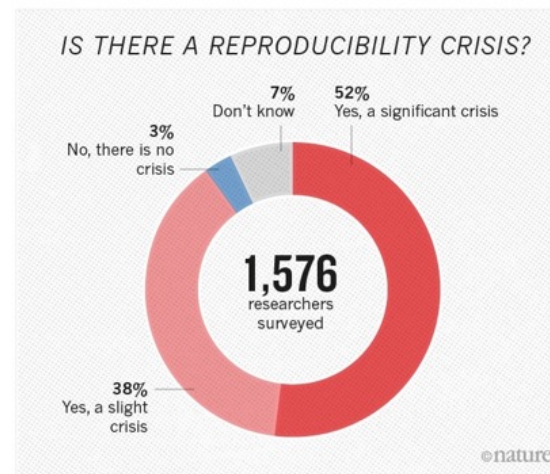
NATURE | NEWS FEATURE

1,500 scientists lift the lid on reproducibility

Survey sheds light on the 'crisis' rocking research.

Monya Baker

25 May 2016 | Corrected: 28 July 2016



More than 70% of researchers have tried and failed to reproduce another scientist's experiments, and more than half have failed to reproduce their own experiments. Those are some of the telling figures that emerged from Nature's survey of 1,576 researchers who took a brief online questionnaire on reproducibility in research.

Missing mice: gaps in data plague animal research

Reports of hundreds of biomedical experiments lack essential information.

Monya Baker

05 January 2016

 [Rights & Permissions](#)

Two studies have unveiled widespread flaws in the reporting of animal experiments — the latest in a series of papers to criticize [shoddy biomedical research](#).

Whereas reports of clinical trials in major medical journals routinely state how many patients die or drop out of analysis during the course of a study, animal studies generally fail to report this figure — or drop animals without saying why, according to a team led by Ulrich Dirnagl at the Charité Medical University in Berlin. That lapse could significantly bias results, the team reports in the journal *PLoS Biology*¹.

In a second study in the same journal², a team led by John Ioannidis, an epidemiologist at Stanford University in California who has repeatedly called for more reproducible and transparent research, criticizes the lack of data availability and detailed protocols in biomedical papers.

Raffinering for å unngå ”contingent suffering” (lidelse som ikke er et direkte resultat av prosedyren)

f.eks. frykt, angst, kjedsomhet, ubehag

Kan ha mange årsaker, f.eks. transport, oppstalling, stell, sosial hierarki

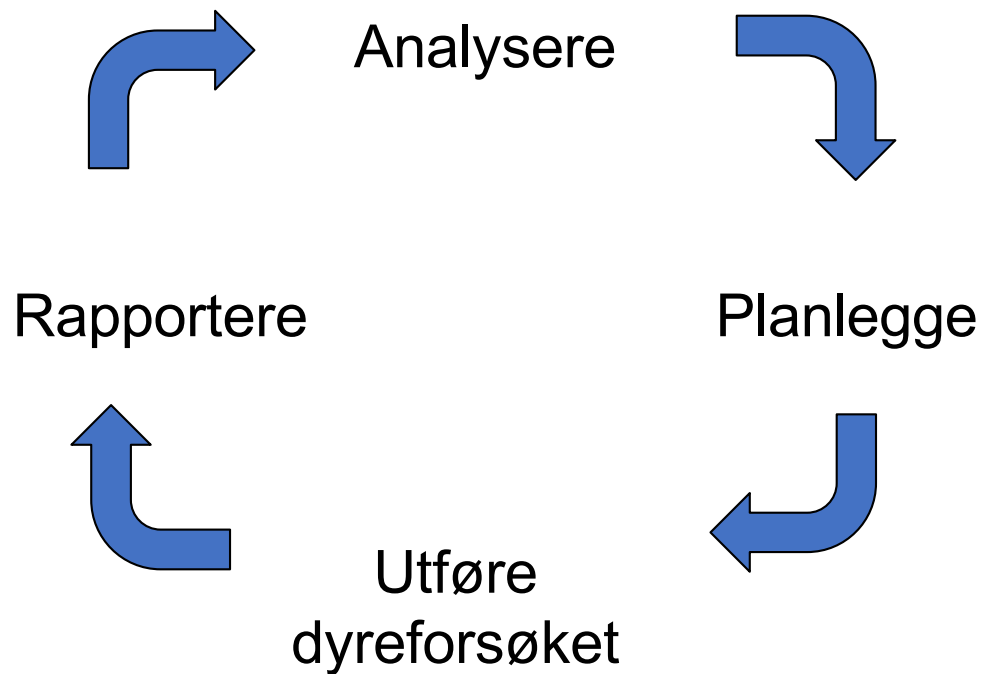


Hannmus oppstallet alene viser symptomer som ville vært karakterisert som depresjon hvis de var observert hos mennesker

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111065>



Scores of scientific studies based on mice thrown into doubt because they were picked up by the tail



Romfergen, NASA

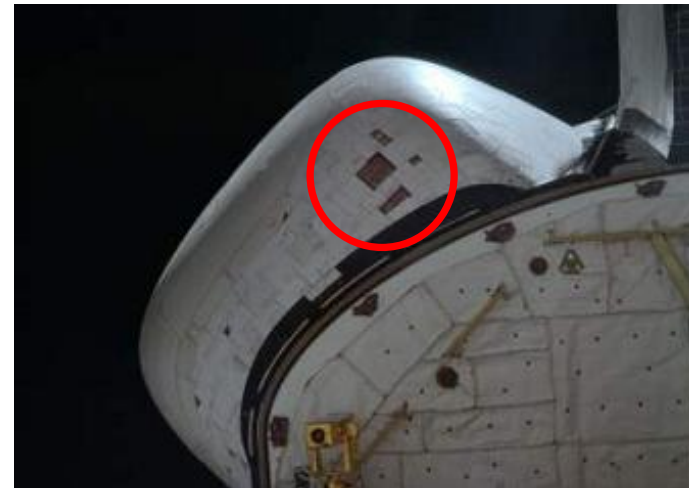
Identifisere og kvalitetssikre de kritiske punktene i forsøket som kan raffineres:

Kritisk for både dyrevelferd, personal-sikkerhet og vitenskapelig verdi

1) Columbia



Foto: gettyimages.no

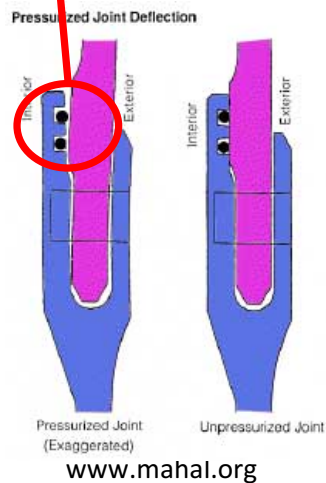


Første flyvning, Columbia, april 1981
Foto: nasaspaceflight.com



Columbia brant opp i 2003, alle 7 besetningsmedlemmer drept
Foto: cbsnews.com

2) Challenger



Challenger eksploderte i januar 1986,
alle 7 besetningsmedlemmer drept
Foto: no.wikipedia.org

Detaljer er viktige!

God planlegging er helt essensiell!



- Komplekse maskiner (dyr) skaper *kjente eller ukjente “unknowns”* (interne reaksjoner som er umulige å forutse før man “flyr”)
- *Mulige svakheter i design må diskuteres (ingeniørene visste om problemene!)*
- *Unngå press* (politisk eller vitenskapelig) “Publish or perish”
- *Ikke ta avgjørelser som kompromitterer sikkerhet*
“Vi har klart det før”
- *Det er ofte en kombinasjon av mange faktorer, som hver for seg er harmløse inntil de forekommer samtidig*
Ikke ignorere “ubetydelige” ting!
Attention to Detail

Begynn i begynnelsen ...



IKEA-rotter



Photo: NMBU

Jerry K-9 CPR Mannikin (Dog)

Record number: 8821 (legacy id: 4905)
Category: [Handling \(TextBase\)](#) - [Medicine](#)
Type: [Simulator](#)

A product line of animal CPR (Cardiopulmonary Resuscitation) training mannequins. Type: Simulator. Category: Handling & Veterinary Medicine.

[Jerry K-9 CPR Mannikin](#) is a full size dog for CPR (Cardiopulmonary Resuscitation) training. Features: Working lungs, artificial pulse, disposable and cleanable parts. Designed to perform CPR compressions, mouth-to-snout resuscitation. Also designed to splint and bandage. In addition, a non-removable, long oblique fracture of the right femoral leg bone can now be added to this mannikin. This will allow students to learn how to set and repair common K-9 fractures. This mannikin simulates a 60-70 lbs dog. Accessories included: Carrying case with kneeling pad, brush, 5 disposable lungs. This mannikin is a simplified version of [Critical Care Jerry](#).



Comments & References: Additional Disposable Lungs for Jerry: 24 disposable lungs: US\$128.00; 72 disposable lungs: US\$380.00. Suitable for training in the veterinary setting, search and rescue, veterinary schools, canine units and for pet owners. This item may be borrowed for up to 6 weeks through the Alternatives Loan System of the International Network for Humane Education (InterNICHE), free of charge, but return postage must be paid by the person who has borrowed the product. Please note that there are practical limitations on where some items can be sent. For more information, please contact loansystem@interniche.org. See also <http://www.interniche.org> for more information.

Item: 101

Price: US\$989.00. Loan Program: Free of charge
Free of charge: Loan Program: Free of charge

On loan: On loan

Supplier

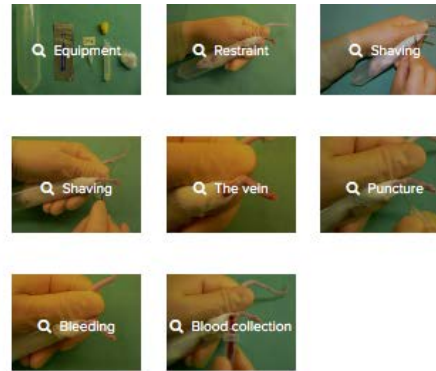
Rescue Critters, LLC

[All articles from Rescue Critters, LLC](#)

- > Address: 15635 Saticoy St. Unit A, Van Nuys, CA 91406, USA
- > Tel: Int-1-818-780-7860

NORINA-databasen

<https://norecopa.no/NORINA>



<https://norecopa.no/education-training/films-and-slide-shows>

Metoder for identifikasjon og merking er ikke alltid 'enkle'



Foto: T. Poppe, NMBU



http://blogs.discovermagazine.com/notrocketscience/2011/01/12/flipper-bands-impair-penguin-survival-and-breeding-success/#.VLU6_8Y7_wo



foto: NMBU

"Hvor mye alkohol må jeg gi en mus for å tilsvare et glass rødvin hver kveld hos mennesker?"

Dose, allometrisk skalering, administrasjonsmetode, etc.

TRASH IN, TRASH OUT

Et ekstra verktøysett....

Carol M. Newton (1925-2014)



National Library of Medicine

De tre S-ene

- *Good Science*
- *Good Sense*
- *Good Sensibilities*

Carol M Newton, sitert i Rowsell HC (1977): *The Ethics of Biomedical Experimentation in The Future of Animals, Cells, Models, and Systems in Research, Development, Education, and Testing* pp. 267-281, National Academy of Sciences, Washington, D.C., ISBN 0-309-02603-2.

Smith AJ & Hawkins P: *Good Science, Good Sense and Good Sensibilities: The Three Ss of Carol Newton* Submitted to *Animals*, August 2016.

En moralsk forpliktelse å publisere raffineringer – et sted hvor informasjonen blir funnet!

f.eks. blodprøvetaking fra vena saphena på bakbeina hos mus og rotter, som alternativ til å stikke bak øyet



http://www.theodora.com/rodent_laboratory/blood_collection.htm



foto: NMBU

Skriv en metodeartikkel med klart budskap i tittelen:

Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guinea-pig, ferret and mink

Vejledninger til specifikke dyremodeller eller procedurer

I samarbejde med Rådet for Dyreforsøg udarbejder Udvalget for Forsøgsdyr og Alternativer retningslinjer/guidelines for diverse forsøgsprocedurer.

[Retningslinier for udtagning af blodprøver fra mus og rotter](#) ↗

[Retningslinier for vægttab hos mus og rotter](#) ↗

[Retningslinier for faste af mus og rotter i forsøg](#) ↗

[Retningslinier for dosering af stof til mus og rotter i forsøg](#) ↗

[Guidelines for taking blood samples from mice and rats](#) ↗

[Guidelines on weight loss in mice and rats](#) ↗

[Guidelines for fasting of mice and rats in experiments](#) ↗

[Guidelines for dosing og substances to mice and rats in experiments](#) ↗




Ændret 29. maj 2017

https://www.foedevarestyrelsen.dk/Dyr/dyrevelfaerd/Udvalget_for_forsoegsdyr_og_alternativer/Sider/Vejledninger_til_specifikke_dyremodeller_eller_procedurer.aspx


3R-tiltag til inspiration

Her kan du finde eksempler på tiltag, som forskellige dyrevelfærdsorganer har igangsat i forbindelse med implementering af de 3R'er og udvikling af bedste praksis. Har du selv et spændende tiltag, som du vil dele med andre, så send det til Udvalget for Forsøgsdyr og Alternativer: ufa@fvst.dk





Replacement

- [Blodprøvetagning på kunstigt hundeben](#) 
- [PO smertebehandling af marsvin post-operativt og træning af kirurgiske færdigheder med 3R-initiativer](#) 
- [Skift til et ikke-sentinelbaseret sundhedsmonitoreringsystem](#) 

Reduction

- [Brug af attraper til dyreforsøgskursus](#) 
- [Capillary microsampling \(CMS\) techniques in rodents](#) 
- [Krave til grise](#) 
- [PO smertebehandling af marsvin post-operativt og træning af kirurgiske færdigheder med 3R-initiativer](#) 

Refinement

- [Berigelsesmadpakker til aktivering af gnavere](#) 
- [Beriget rottekasse](#) 
- [Bordtennisbolde](#) 
- [Capillary microsampling \(CMS\) techniques in rodents](#) 

https://www.foedevarestyrelsen.dk/Dyr/dyrevelfaerd/Udvalget_for_forsoegsdyr_og_alternativer/Sider/3R_tiltag_til_inspiration.aspx

Kvalitetssikring av utstyr og lokaler



foto: NMBU

Murphys lov: ting som kan gå galt vil gå galt før eller senere

- og det skjer alltid når det passer dårligst

Helsefarer: mange å tenke på

Allergi mot dyrene
 mot strøet, redematerialet, fôret
 mot kjemikalier brukt i avdelingen eller i forsøket (irritasjon/allergi)
 mot latexhansker (pudderet)

Fysiske skader bitt, spark, kloring, kutt
 tunge løft (fôr- og strøsekker, kjemikaliekanner, bur)
 ved bruk av maskiner (autoklaver, vaskemaskiner, instrumenter)

Psykiske plager ved sjukdom hos forsøksdyrene
 ved enkelte inngrep og avlivingsmetoder
 ved omtale av yrket til vennekretsen

Smitte fra fôret, vannet, strøet, ventilasjonsanlegget, instrumenter
 forsøkssmitte
 fra forsøksdyrene
 fra skadedyr
 fra selskapsdyr

Kjemiske farer avdelingens egne kjemikalier (desinfeksjons- og vaskemidler,
 anestesigasser)
 kjemikalier brukt i forsøket

Stråling isotoper
 røntgen

FELLESTREKK for mange av disse: de er usynlige

Helsefarer: mange mennesker å tenke på

Forskere

Dyrepassere og forsøksdyteknikere

Forsøksdyr

Ansvarshavende

Sekretærer

Fagarbeidere

elektrikere

rørleggere

snekkere

reparatører

leverandører og montører

Salgsrepresentanter

Rengjøringspersonale

Renovasjonspersonale

Vaktpersonale

Besøkende

skoleelever

journalister

inspektører

+ familier, venner og arbeidskollegaer til alle disse...

FELLESTREKK for mange av disse:

- de er i avdelingen utenom vanlig arbeidstid
- de har liten faglig innsikt i og/eller redsel for potensielle helsefarer
- de er kvinner og menn i sin mest fertile alder

Helsefarer: konklusjon

- Snakk om risikoen - i forveien
- Vær realistisk om avdelingens kompetansenivå
- Lag standardprosedyrer (SOP'er) som i det minste dekker de viktigste HMS-situasjonene
- Tilstå uhell
- Sørg for begrensnig og opprydding når helsefarlige situasjoner oppstår

Det finnes mange retningslinjer for *rapportering* av dyreforsøk

- Öbrink & Waller, 1996
- Jane Smith *et al.*, 1997
- Adrian Smith & Trond Brattelid, 2000 (fish)
- Öbrink & Rehbinder: Animal definition: a necessity for the validity of animal experiments? *Laboratory Animals*, 2000
- **ARRIVE Guidelines**, 2010 (Kilkenny *et al.*, NC3Rs)
- Gold Standard Publication Checklist, 2010 (SYRCLE)
- Institute for Laboratory Animal Research, NRC, 2011
- “Instructions to authors”, i mange tidsskrift
f.eks. Nature’s Reporting Checklist

Men det finnes få retningslinjer for planlegging av dyreforsøk



<https://www.bls.gov/ooh/images/3077.jpg>

PREPARE

ARRIVE



<https://www.dreamstime.com>

The PREPARE Guidelines Checklist

Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence

Adrian J. Smith¹, R. Eddie Clutton², Elliot Lilley³, Kristine E. Aa. Hansen⁴ & Trond Brattelid⁵

¹Norecopa, c/o Norwegian Veterinary Institute, P.O. Box 750 Sentrum, 0106 Oslo, Norway; ²Royal (Dick) School of Veterinary Studies, Easter Bush, Midlothian, EH25 9RG, U.K.; ³Research Animals Department, Science Group, RSPCA, Wilberforce Way, Southwater, Horsham, West Sussex, RH13 9RS, U.K.; ⁴Section of Experimental Biomedicine, Department of Production Animal Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Norwegian University of Life Sciences, P.O. Box 8146 Dep., 0033 Oslo, Norway; ⁵Division for Research Management and External Funding, Western Norway University of Applied Sciences, 5020 Bergen, Norway.

PREPARE¹ består av riktlinjer för planering av djurförsök, och är ett komplement till riktlinjer för rapportering, såsom ARRIVE². PREPARE täcker de tre övergripande områdena som är avgörande för kvaliteten på arbetet med att förbereda djurförsök:

1. Studiens upplägg och utformning
2. Dialogen mellan forskare och försöksdjursanläggningen
3. Kvalitetskontroll av de olika delar som ingår i studien

Ämnena kommer inte alltid vara aktuella eller relevanta i den ordning som presenteras här, och vissa ämnen överlappar varandra. PREPAREs checklista kan anpassas för att möta speciella behov, som exempelvis fältstudier. PREPARE inkluderar vägledning kring hur försöksdjursanläggningar ska skötas, eftersom laborieförsök är beroende av att dessa fungerar väl och håller en hög kvalitet. Den fullständiga versionen av riktlinjerna, med länkar till andra dokument och resurser, finns tillgänglig på Norecopas hemsida på <https://norecopa.no/PREPARE>.

PREPAREs riktlinjer är ett levande dokument, och kommer att utvecklas allteftersom mer art- och situationsspecifika riktlinjer tas fram, och i takt med att framsteg görs beträffande vad som är bästa praxis inom försöksdjursvetenskapen.

Ämne	Rekommendation
(A) Studiens upplägg och utformning	
1. Litteraturgenomgång	<input type="checkbox"/> Formulera en tydlig hypotes, med primära och sekundära uttall. <input type="checkbox"/> Överväg att göra en systematisk litteraturgenomgång. <input type="checkbox"/> Bestäm vilka databaser och specialister inom informationsvetenskap som ska/bör konsulteras, och skapa söktermer. <input type="checkbox"/> Bedöm relevansen vad gäller djurarten som ska användas, dess biologi, och lämplighet när det gäller att svara på forskningsfrågan med minsta möjliga lidande, samt dess behov utifrån ett välfärdsperspektiv. <input type="checkbox"/> Bedöm projektets reproducerbarhet och möjligheten att överföra och tillämpa resultaten i olika sammanhang.
2. Juridiska frågor	<input type="checkbox"/> Överväg hur forskningen påverkas av lagstiftning gällande djurförsök och andra relevanta områden, t.ex. djurtransport och arbetarskydd och arbetsmiljö. <input type="checkbox"/> Ta fram relevanta vägledningsdokument (t.ex. EUs vägledning för projektutvärdering).
3. Etiska frågor, utvärdering av lidande och nytta, samt skonsamma avbrytningspunkter och slutpunkter	<input type="checkbox"/> Skriv en populärvetenskaplig sammanfattning. <input type="checkbox"/> Inled en dialog med de djurförsöksrelaterade nämnderna, undersök om yttranden kring lidande/nytta för den aktuella typen av forskning redan har tagits fram. <input type="checkbox"/> Belys de 3R:n (Replace, Reduce, Refine), och de 3S:n (Good Science, Good Sense, Good Sensibilities). <input type="checkbox"/> Överväg förhandsregistrering och publicering av negativa resultat. <input type="checkbox"/> Genomför en lidande och -nyttoanalys ("Harm-Benefit Assessment") och motivera eventuellt lidande för djuren. <input type="checkbox"/> Diskutera lärandemålen, om djuren ska användas för utbildning eller i syfte att träna. <input type="checkbox"/> Bedöm och klassificera försökets svårighetsgrad. <input type="checkbox"/> Definiera syfte, lätt mätbara och entydiga skonsamma avbrytningspunkter och slutpunkter. <input type="checkbox"/> Diskutera det eventuella rättfärdigandet i att ha döden som slutpunkt.
4. Experimentdesign och statistiska analyser	<input type="checkbox"/> Överväg pilotstudier, beakta statistisk styrka och signifikansnivåer. <input type="checkbox"/> Definiera försöksenheten och bestäm antalet djur. <input type="checkbox"/> Välj metoder för randomisering, förebygg partiskhet och förutfattade meningar hos observatörerna, och bestäm kriterier för inkludering och exkludering.

The ARRIVE Guidelines Checklist

Animal Research: Reporting In Vivo Experiments

Carol Kilkenny¹, William J Browne², Innes C Cuthill³, Michael Emerson⁴ and Douglas G Altman⁵

¹The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, London, UK; ²School of Veterinary Science, University of Bristol, Bristol, UK; ³School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol, UK; ⁴National Heart and Lung Institute, Imperial College London, UK; ⁵Centre for Statistics in Medicine, University of Oxford, Oxford, UK.

	ITEM	RECOMMENDATION	Section/ Paragraph
Title	1	Provide as accurate and concise a description of the content of the article as possible.	
Abstract	2	Provide an accurate summary of the background, research objectives, including details of the species or strain of animal used, key methods, principal findings and conclusions of the study.	
INTRODUCTION			
Background	3	a. Include sufficient scientific background (including relevant references to previous work) to understand the motivation and context for the study, and explain the experimental approach and rationale. b. Explain how and why the animal species and model being used can address the scientific objectives and, where appropriate, the study's relevance to human biology.	
Objectives	4	Clearly describe the primary and any secondary objectives of the study, or specific hypotheses being tested.	
METHODS			
Ethical statement	5	Indicate the nature of the ethical review permissions, relevant licences (e.g. Animal [Scientific Procedures] Act 1986), and national or institutional guidelines for the care and use of animals, that cover the research.	
Study design	6	For each experiment, give brief details of the study design including: <ol style="list-style-type: none"> a. The number of experimental and control groups. b. Any steps taken to minimise the effects of subjective bias when allocating animals to treatment (e.g. randomisation procedure) and when assessing results (e.g. if done, describe who was blinded and when). c. The experimental unit (e.g. a single animal, group or cage of animals). A time-line diagram or flow chart can be useful to illustrate how complex study designs were carried out. 	
Experimental procedures	7	For each experiment and each experimental group, including controls, provide precise details of all procedures carried out. For example: <ol style="list-style-type: none"> a. How (e.g. drug formulation and dose, site and route of administration, anaesthesia and analgesia used [including monitoring], surgical procedure, method of euthanasia). Provide details of any specialist equipment used, including supplier(s). b. When (e.g. time of day). c. Where (e.g. home cage, laboratory, water maze). d. Why (e.g. rationale for choice of specific anaesthetic, route of administration, drug dose used). 	
Experimental animals	8	a. Provide details of the animals used, including species, strain, sex, developmental stage (e.g. mean or median age plus age range) and weight (e.g. mean or median weight plus weight range). b. Provide further relevant information such as the source of animals, international strain nomenclature, genetic modification status (e.g. knock-out or transgenic), genotype, health/immune status, drug or test naïve, previous procedures, etc.	



- PREPARE Checklist | 1-Literature searches | 2-Legal issues |
- 3-Ethical issues, Harm-Benefit Assessment and humane endpoints | 4-Experimental design and statistical analysis |
- 5-Objectives and timescale, funding and division of labour | 6-Facility evaluation | 7-Education and training |
- 8-Health risks, waste disposal and decontamination | 9-Test substances and procedures | 10-Experimental animals |
- 11-Quarantine and health monitoring | 12-Housing and husbandry | 13-Experimental procedures |
- 14-Humane killing, release, re-use or re-homing | 15-Necropsy | Comparison with ARRIVE

norecopa.no / PREPARE



Harm-Benefit Assessment

[Harm-Benefit assessment](#), an evaluation of the likely sources and level of suffering of a planned procedure, followed by an assessment of the potential benefits of the research weighed against these harms, lies at the heart of [legislation in the EU](#) and elsewhere. [A framework for severity assessment and severity classification](#) must be established and justified. The likely adverse effects of each procedure should be described, along with their likely incidence and methods of recognising them, with indications of how these effects can be mitigated by implementing refinement. This necessitates the involvement of personnel with the relevant expertise to recognise, assess and reduce animal suffering, especially severe suffering. [Guidance on this is available on the RSPCA website](#). Specific justification of all unalleviated animal suffering must be provided. An estimate must be made of the maximum amount of pain, distress or lasting harm to which an individual can be exposed.

Lenker til retningslinjer fra hele verden, om f.eks. blodprøvetaking, injeksjonsvolum, oppstalling, smertestillende behandling, eksperimentelt design



foto: FRAME

Oppsummering

Med Refinement mente Russell og Burch metoder som reduserer forekomsten eller intensiteten av inhumane prosedyrer.

Konseptet er blitt utvidet: alt som kan gjøres for at dyrene ikke bare er smertefrie, men at de trives så godt som mulig innenfor lokalene hvor det holdes.

Dette er i den troen at dyr som er i harmoni med sine omgivelsene leverer de beste (= mest korrekte) vitenskapelige data: **Happy Animals make Good Science**

En vinn-vinn situasjon.

Etikk og vitenskap går dermed hånd i hånd.



fotos: NMBU





Takk til Norecopas hovedsponsorer:



- Standing Committee on Business Affairs, Norwegian Parliament
- Norwegian Ministries of Agriculture and Fisheries
- Research Council of Norway
- Laboratory Animals Ltd.
- Nordic Society Against Painful Experiments (NSMSD)
- Novo Nordisk
- Scottish Accreditation Board
- Stiansen Foundation
- Universities Federation for Animal Welfare (UFAW)
- US Department of Agriculture, Animal Welfare Information Center

Grafikk: colourbox.com

