

What is the burden of a genotype?

Veterinarian aspects focusing on mouse models

Dr. Christiana Winding-Zavadil, DVM

June 5th, 2023

Advisory Committee for Animal Experiments and
Institute of In-vivo and In-vitro Models



When to apply

- creation of GAAs
 - no valid documentation so far
- maintenance of GAAs with a (potentially) harmful phenotype
- use of GAAs in projects according to TVG 2012
 - consider cumulation of burdens
 - appropriate care to prevent unnecessary suffering - **3Rs!**

Beschreibung von genetisch veränderten Tieren/gemäß § 26 TVG 2012

1
Aufgabblatt No. 37000 vom Antrag
Projektid: 000001

1
(1) - Bezeichnung der genetisch veränderten Tiere/1
 Tierart, Bezeichnung der Linie, gegebenenfalls (über)interne Referenzbezeichnung:
 000001

2
(2) - Genetische Veränderung/2
 Genetisch veränderte Tiere (§ 4 Z 3 OTG)
 Induzierte / eingekreuzte natürlich vorkommende Mutation/2

3
 a) gegebenenfalls: Literaturreferenz / Bezeichnung laut Datenbanreferenz (z.B.: MGI ID - Nummer: <http://www.informatics.jax.org/> 000001)
 b) Stüßeln die Arbeiten mit transgenen Wirbeltieren zu Zwecken der Biomedizin oder der entwicklungsbiologischen Forschung (§ 9 Abs. 1 OTG):
 Ja = Nein
 c) - Beschreibung der veränderten Gene und deren Funktion (eingefügte/deletierte Sequenzen/Gene): 000001
 d) - Beschreibung des Phänotyps insbesondere im Hinblick auf die Belastung (inkl. genetischem Hintergrund, Phänotyp, Komplexitätsmerkmale, überabträglicher Auftreten...): 000001

4
 e) - Vorgesehene Methoden zur Verringerung der Belastung³ und Tierschutz (z.B.: Zuchtplan, veränderte Anforderungen an Pflege und Unterbringung, Abbruchkriterien...): 000001

(3) - Schweregrad der Belastung aufgrund der genetischen Veränderung/3
 Tiere der Linie sind:
 hochgradig nicht belastet (Dokumentation erforderlich; Angabe zu Punkt 4 und 5)
 mittelgradig belastet (Dokumentation erforderlich)
 katastrophal Schweregrade werden in diesem Projekt erfasst (ggf. Checkliste für biomedizinische Einrichtungen belegen)⁴

5
(4) - Zuordnung des höchsten ersichtlichen Schweregrades/4
 Höchster Schweregrad dem die Tiere aufgrund der genetischen Veränderung ausgesetzt sein könnten:
 gering = mittel = schwer

6
(5) - Genotypisierung/5
 Nein (nicht vorgesehen)
 Ja: geplante Methoden, Tierzahl und Schweregrad aufgrund der Genotypisierung sind im Projektantrag anzugeben.⁵

3 Die Übertragung dieses Antrags erfolgt bei Einreichung von Arbeiten mit transgenen Tieren gemäß § 23 Tierimpfgesetz 1980, BGBl. Nr. 114/1980 S. 6
 4 Schweregrad, Leiden, Begleit- und Dauerfolge Schäden gemäß § 2 Z 4 Nr. 6 TVG 2012

Template for description of genetically altered lines:

Schweregrad der Belastung aufgrund der genetischen Veränderung*

Tiere der Linie sind:

- nachgewiesen nicht belastet (Dokumentation erforderlich; Angabe zu Punkt 4 entfällt)
- nachgewiesen belastet (Dokumentation erforderlich);
- tatsächliche Schweregrade werden in diesem Projekt erfasst (ggf. Checkliste für linienspezifische Beobachtungen beilegen);

- template for prospective evaluation of a potential burden due to genetic alteration (independent of project)

Template for description of genetically altered lines

Schweregrad der Belastung aufgrund der genetischen Veränderung

Tiere der Linie sind:

- nachgewiesen nicht belastet* (Dokumentation erforderlich; Angabe zu Punkt 4 entfällt)
- nachgewiesen belastet* (Dokumentation erforderlich);
- tatsächliche Schweregrade werden in diesem Projekt erfasst* (ggf. Checkliste für linienspezifische Beobachtungen beilegen);

- *no burden due to genetic alteration/ no harmful phenotype
- * (potentially) harmful phenotype

Template for description of genetically altered lines

Schweregrad der Belastung aufgrund der genetischen Veränderung

Tiere der Linie sind:

- nachgewiesen nicht belastet ([Dokumentation erforderlich*](#); Angabe zu Punkt 4 entfällt)
- nachgewiesen belastet ([Dokumentation erforderlich*](#));
- tatsächliche Schweregrade werden in diesem Projekt erfasst (ggf. Checkliste für linienspezifische Beobachtungen beilegen);

- [*provide evidence: documentation must be listed under Point \(2a\) :](#)
 - [Publications](#)
 - [MGI-Number](#)
 - [\(unpublished\) data sheet](#)

Template for description of genetically altered lines

Schweregrad der Belastung aufgrund der genetischen Veränderung

Tiere der Linie sind:

- nachgewiesen nicht belastet (Dokumentation erforderlich; Angabe zu Punkt 4 entfällt)
- nachgewiesen belastet (Dokumentation erforderlich);
- tatsächliche Schweregrade werden in diesem Projekt erfasst* (ggf. Checkliste für linienspezifische Beobachtungen beilegen);

- *no documentation available so far: evaluation within project

How to assess

- only animals within authorised projects
 - no breeding just for this purpose - **3Rs!**
- only animals with desired and confirmed genotype
 - background strain as controls
- min. 14 (7/7) individuals of both sex of desired genotype*
- data sheets for documentation



www.jax.org

*Bundesinstitut für Risikobewertung. *Severity assessment of genetically altered mice and rats – Version 2*. Recommendation no. 002/2016 by the National Committee (TierSchG). Berlin, BfR, 9 September 2016.

How to assess

- from birth until first onset of potential burden
 - different timepoints (birth – weaning - adults)
- until no abnormal or harmful signs can be expected (e.g. end of the project, death)
- in case of subsequent use in a follow-up project assessment must be carried on
- final assessment form for each established line
- if needed design early humane endpoints
 - parameters selected on prospective assessment



Susanne Hammerschmid / Vetmeduni Vienna

How to assess

- trained, qualified personnel
 - caretaker, vets, technicians, scientists...
- clinical and behavioral assessment at cage level
 - easy to integrate in daily routine
 - focus on observable and measurable parameters
 - avoid invasive assessment methods
- animalhouse software



Quelle: theodora.com / nc3rs.org.uk

Problems and Pitfalls

- Species specific expertise
- individual identification of animals
- most refined genotyping method/ method of tissue extraction
 - earliest timepoint preferred
- time
- no sufficient or thorough documentation
 - poor communication between working groups
 - in-house availability of documentation



Theodora.com

Parameters

General appearance

- Is it ,normal'?
- obvious malformations?
- body size, shape, growth
 - in relation to littermates
- posture, gait, condition of fur

Clinical symptoms

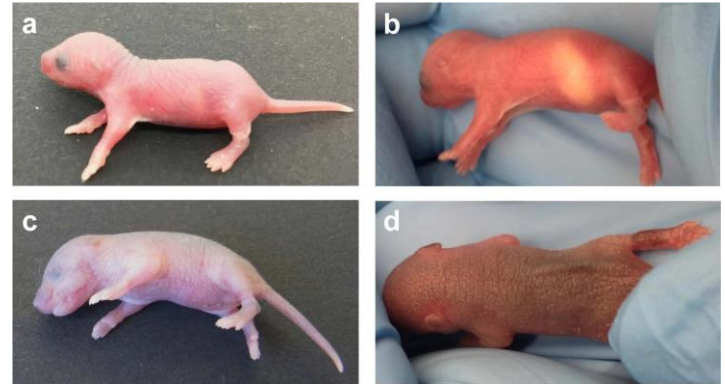
- including neurological symptoms
- animal numbers
 - fertility
 - unusual number of loss?
- necropsy

Behavior

- interaction with environment and conspecifics
- activity

Parameters for neonates

- skin color
 - capillary refill time, hydration
 - absence of fur and posture
- activity
 - different movement pattern
 - nursing/respective seeking behaviour
- litter
 - size, homogeneity, development and growth
- milk spot
- maternal care



Fehlhaber, B., Heinemann, A.S., Rübensam, K. et al. A sensitive scoring system for the longitudinal clinical evaluation and prediction of lethal disease outcomes in newborn mice. *Sci Rep* 9, 5919 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42414-4>

Finally...

- present/publish results
 - databases
 - peer reviewed journals
 - avoid double analysis/repeated work- 3Rs!
- provide data to the competent authorities
 - project authorization
 - reassessment of the severity degree
 - termination criteria

 ***determine refinement strategies!***



Body Condition Score Chart		
		<p>1 (Thin)</p> <p>• Significant weight loss</p> <p>• Prominent ribs</p> <p>• Prominent spine</p> <p>• Prominent hip bones</p>
		<p>2 (Slight hump)</p> <p>• Slight weight loss</p> <p>• Ribs visible</p> <p>• Spine visible</p> <p>• Hip bones visible</p>
		<p>3 (Moderate hump)</p> <p>• Moderate weight loss</p> <p>• Ribs not visible</p> <p>• Spine not visible</p> <p>• Hip bones not visible</p>
		<p>4 (Large hump)</p> <p>• Large weight loss</p> <p>• Ribs not visible</p> <p>• Spine not visible</p> <p>• Hip bones not visible</p>
		<p>5 (Very large hump)</p> <p>• Very large weight loss</p> <p>• Ribs not visible</p> <p>• Spine not visible</p> <p>• Hip bones not visible</p>

Conclusion

Minimizing the burden...

- Caretakers know their animals
- Vets do have clinical expertise
- Scientists know the potential adverse effects

...increasing animal welfare

Further information

- Federal Ministry of Education, Science and Research <http://www.bmbwf.gv.at/tierversuche>
- DIRECTIVE 2010/63/EU <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/AUTO/?uri=celex:32019R1010>
- Bundesinstitut für Risikobewertung. *Severity assessment of genetically altered mice and rats – Version 2*. Recommendation no. 002/2016 by the National Committee (TierSchG). Berlin, BfR, 9 September 2016.
- Zintzsch A, Noe E, Reißmann M, et al. *Guidelines on severity assessment and classification of genetically altered mouse and rat lines*. *Laboratory Animals*. 2017;51(6):573-582. doi:[10.1177/0023677217718863](https://doi.org/10.1177/0023677217718863)
- NC3Rs <https://www.nc3rs.org.uk/news/fresh-approach-training-welfare-assessment-laboratory-animals>

Thank you for your attention!

Dr. Christiana Winding-Zavadil, DVM

Advisory Committee for Animal Experiments
Institute of In-vivo and In-vitro Models
University of Veterinary Medicine, Vienna

+43 1 25077-4922
Christiana.winding@vetmeduni.ac.at
Veterinärplatz 1, 1210 Vienna
Austria

www.vetmeduni.ac.at

The author of this presentation is responsible for observance of the
copyright of the used images and graphics.

