



GV-SOLAS

Gesellschaft für Versuchstierkunde
Society for Laboratory Animal Science

Fachinformation

aus dem Ausschuss für Hygiene

Hygienerisiko beim Import von Nagetieren - Sanierungsstrategien

Stand Oktober 2020

**verfasst von: Andre Bleich, Bruny Illgen-Wilcke, Karin Jacobi,
Petra Kirsch, Thomas Kolbe, Bettina Kränzlin, Robert Leblanc,
Esther Mahabir-Brenner, Michael Mähler, Werner Nicklas,
Karin Seidel, Bastian Tiemann**

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Generelle Überlegungen zum Import von Nagetieren	3
3	Risikoabschätzung der Keimeinschleppung	3
3.1	Versendende Tierhaltung	3
3.1.1	Import von Nagetieren kommerzieller Herkunft	3
3.1.2	Import von Nagetieren aus experimentellen Tierhaltungen	4
3.1.3	Internationaler Import von Nagetieren	4
3.2	Validität des Gesundheitszeugnisses	4
3.3	Transportbedingungen	5
3.4	Methoden des Einbringens von Nagetieren in die Tierhaltung des Empfängers	5
3.4.1	Vorgehensweise für den Import lebender Nagetiere	6
3.4.2	Import gnotobiotischer Nagetiere (keimfrei, keimassoziiert)	7
4	Import von Tieren durch Rederivierung	8
4.1	Embryotransfer (mit <i>ex vivo</i> gewonnenen oder <i>in vitro</i> produzierten Embryonen)..	8
4.2	Sanierung mittels Hysterektomie	9
4.3	Neonataler Transfer (<i>cross fostering</i>)	10
5	Literatur	11

1 Einleitung

Mäuse- und Rattenstämme sind bei kommerziellen Züchtern heutzutage in einem definierten hygienischen Status erhältlich. Darüber hinaus wird eine große Vielfalt genetisch modifizierter Tiere in wissenschaftlichen Instituten generiert. Diese Tiere werden von Wissenschaftlern weltweit benötigt und untereinander ausgetauscht. Forscher beziehen Zuchttiere aus verschiedenen, z.T. auch nicht kommerziellen Versuchstierhaltungen, mit unterschiedlichem Hygienestatus, um für den eigenen Bedarf weiter zu züchten. Diesen Austausch von Tieren gilt es derart zu organisieren, dass ein hygienisches Risiko für die Tierhaltung des Empfängers ausgeschlossen wird.

2 Generelle Überlegungen zum Import von Nagetieren

Jeder Import von Tieren geht mit dem potenziellen Risiko des Eintrages unerwünschter Viren, Bakterien, Pilze oder Parasiten einher. Dazu gehören nicht nur pathogene, sondern auch opportunistische Mikroorganismen, auf die unter Umständen nicht getestet oder deren Vorkommen nicht in Gesundheitszeugnissen aufgeführt wird. Dabei handelt es sich z.B. um apathogene Protozoen sowie bestimmte *Enterobacteriaceae*, Staphylokokken und Streptokokken. Der Empfänger muss die Hygienestandards in seiner eigenen Tierhaltung definieren. Wenn die Hygienestandards der versendenden Tierhaltung den Hygienestandards des Empfängers entsprechen, können Tiere und Spermien/Oozyten lebend oder tiefgefroren importiert werden (siehe 3.4). Aus hygienischer und organisatorischer Sicht sowie auch aus Gründen des Tierschutzes (Belastung durch Transport) ist jedoch der Import von Embryonen oder Spermien zu bevorzugen.

3 Risikoabschätzung der Keimeinschleppung

Dieses Risiko wird maßgeblich bestimmt durch die:

- Versendende Tierhaltung
- Validität des Gesundheitszeugnisses
- Transportbedingungen
- Methode des Einbringens der Tiere in die Tierhaltung des Empfängers

3.1 Versendende Tierhaltung

Tiere können von kommerziellen Anbietern oder von experimentellen Tierhaltungen stammen. Das Risiko einer Erregerübertragung kann zwischen den verschiedenen Tierhaltungen variieren.

3.1.1 Import von Nagetieren kommerzieller Herkunft

In kommerziellen Zuchten erfolgen die Haltung und die Hygieneüberwachung nach internen, meist hohen Standards. Diese können jedoch zwischen den Züchtern, Standorten der Haltungseinrichtungen sowie den verschiedenen hygienischen Einheiten eines Züchters variieren. Trotz der hohen Haltungsstandards bei kommerziellen Züchtern ist es deshalb ratsam, die Angaben zum Gesundheitsstatus kritisch zu hinterfragen und mit den eigenen Standards abzugleichen. Darüber hinaus wurde auch von sporadischen Infektionsausbrüchen bei Tieren kommerzieller Züchter berichtet. Es ist daher nicht gewährleistet, dass Tiere mit einem Gesundheitszeugnis frei von unerwünschten Mikroorganismen sind. Es ist nicht

auszuschließen, dass über unkritischen Zukauf von Tieren kommerzieller Züchter, die als Ammen, Sentinels oder für Kreuzungsexperimente verwendet werden sollen, Mikroorganismen wie z.B. *Staphylococcus aureus*, eingeschleppt werden. Solche Keime werden häufig nicht in Gesundheitszeugnissen aufgeführt.

3.1.2 Import von Nagetieren aus experimentellen Tierhaltungen

Die mikrobiologische Qualität der Versuchstiere in experimentellen Versuchstierhaltungen hat sich in den letzten Jahren stark verbessert, jedoch verfügt noch nicht jede Versuchstierhaltung über zuverlässige Informationen bezüglich des mikrobiologischen Status ihrer Tiere, da regelmäßige mikrobiologische Kontrollen nicht oder nicht in ausreichender Form (siehe Empfehlungen der FELASA¹) durchgeführt werden. Die Publikation der GV-SOLAS: „Hygiene-Überwachung von Maus- und Rattenbeständen bei verschiedenen Haltungsformen (2010)“² gibt Hinweise, wie eine geeignete Hygienekontrolle bei verschiedenen Haltungsformen aussehen kann. Selbst wenn regelmäßige Kontrollen des Tierbestandes durchgeführt werden, zeigt sich jedoch immer wieder, dass ein aussagekräftiges Gesundheitszeugnis nicht erhältlich ist oder dass bei Eingangsuntersuchungen doch Infektionen mit unerwünschten Mikroorganismen nachgewiesen werden können. Das Risiko, beim Import von lebenden Tieren aus experimentellen Haltungen einen Infektionserreger in den eigenen Tierbestand einzuschleusen, ist somit hoch.

3.1.3 Internationaler Import von Nagetieren

Die Zusammenarbeit auf internationalem Niveau ist für die biomedizinische Forschung unerlässlich, der Transport von Nagetieren (über Land- oder Luftweg) ist jedoch hygienisch besonders heikel. Einerseits steigt mit der Dauer des Transportes die Möglichkeit der mikrobiellen Kontamination, andererseits können durch den Transportstress Immunantworten (bei kurz nach Ankunft der Tiere durchgeführten serologischen Kontrollen) beeinflusst werden³. Die hygienische Überwachung für Versuchstiere ist in Europa zwar dank der FELASA-Empfehlungen harmonisiert, allerdings existiert weder ein vergleichbarer amerikanischer noch asiatischer Standard. Dieser fehlende internationale Standard erhöht das Risiko, Infektionserreger oder Zoonoseerreger (z.B. Hantavirus) in den Versuchstierbereich einzuführen⁴. Beim Vergleich der hygienischen Überwachungsergebnisse können vor allem folgende Unterschiede vorliegen:

- unterschiedliche Probeentnahme- und Nachweistechiken (z. B. Serologie, Kulturtechniken, PCR)
- verschiedene Erreger, auf die getestet wird (es wird jeweils die Prävalenz der Pathogene im eigenen Land berücksichtigt)

Der Hygieneausschuss der GV-SOLAS empfiehlt daher ausdrücklich die Verwendung eines standardisierten Formates, um die Beurteilung von Gesundheitszeugnissen beim Import von Nagern im europäischen und internationalen Raum zu verbessern und zu erleichtern⁵.

3.2 Validität des Gesundheitszeugnisses

Vor der Beschaffung der Tiere sollte ein detailliertes Gesundheitszeugnis in Anlehnung an die Empfehlungen der FELASA¹ angefordert werden, mit dessen Hilfe das von diesen Tieren ausgehende Infektionsrisiko abgeschätzt werden kann. Das Gesundheitszeugnis sollte folgende Angaben enthalten:

- Anzahl der untersuchten Tiere in einem Zeitraum von mindestens 18 Monaten vor dem Versand
- Häufigkeit der Untersuchungen
- Erregerspektrum
- Untersuchungsmethoden
- Untersuchungsergebnisse
- Untersuchungslabor
- Haltungsbedingungen

Die GV-SOLAS hat ein Beispiel für ein standardisiertes Format für ein Gesundheitszeugnis zur Verfügung gestellt⁵.

Nach Erregern, die nicht in den FELASA-Empfehlungen genannt sind, aber in der eigenen Tierhaltung unerwünscht sind, sollte explizit gefragt werden.

Bei gentechnisch veränderten Tieren sollte besonders beachtet werden, dass durch den genetischen Defekt eine Vielzahl physiologischer Parameter beeinflusst sein können. Dabei sind häufig auch Einflüsse auf das Immunsystem mit Ausbildung von Immundefekten oder einer Immunsuppression gegeben. Dies kann nicht nur die Anfälligkeit gegenüber bestimmten Mikroorganismen erhöhen, sondern auch eine unterdrückte oder fehlende Immunantwort zur Folge haben und damit zu falsch-negativen serologischen Ergebnissen führen. Deshalb sollte Wert darauf gelegt werden, dass zur mikrobiologischen Bestandskontrolle von genetisch modifizierten Nagetieren immer auch immunkompetente Tiere untersucht werden.

3.3 Transportbedingungen

Der Transport der Tiere sollte so erfolgen, dass eine Infektion während des Transportes ausgeschlossen ist. Das heißt, dass die Versandkäfige/-kartons mit Filtern versehen sind, die das Eindringen von Infektionserregern verhindern können. Darüber hinaus hat der Transport genetisch veränderter Tiere in geschlossenen und gegen Bruch geschützten Behältern zu erfolgen, um ein Entweichen der Tiere zu verhindern. Verantwortlich für die Wahl eines geeigneten Behälters und den ordnungsgemäßen Verschluss ist der versendende Projektleiter (siehe Publikation der GV-SOLAS⁶). Der Empfänger sollte die Behältnisse nach Erhalt gründlich kontrollieren, da die Tiere auch bei kleineren Beschädigungen als potenziell kontaminiert angesehen werden müssen.

3.4 Methoden des Einbringens von Nagetieren in die Tierhaltung des Empfängers

Grundsätzlich können lebende Tiere in eine Tierhaltung eingebracht werden. Im Vergleich zu einer Sanierung ist diese Art des Imports jedoch immer mit einem höheren Risiko der Keimeinschleppung verbunden. Ein Import lebender Tiere sollte nur unter folgenden Bedingungen in Betracht gezogen werden:

- gute Qualität der Gesundheitszeugnisse
- beim Empfänger ist eine funktionierende Quarantäneeinheit vorhanden
- erneute Überprüfung des Hygienestatus der importierten Tiere nach Ankunft im eigenen Haus (siehe 3.4.1)

Darüber hinaus ist es von entscheidender Bedeutung, dass das Gesundheitszeugnis von einer Person beurteilt wird, die die dafür erforderliche fachliche Kompetenz besitzt. Bei Tieren mit

nicht ausreichend bekanntem mikrobiologischen Status ist von einem deutlichen Risiko der Erregereinschleppung auszugehen. Diese Tiere sollten grundsätzlich als infiziert angesehen und deshalb nur nach vorheriger Sanierung in die Tierhaltung eingeschleust werden.

Generell sind der Zeitaufwand und die Kosten für das Einbringen eines Mausstammes in eine Tierhaltung mittels Rederivierung höher als bei einem Direktimport (Dauer bei Einbringen über eine Quarantäne mind. 8-12 Wochen zuzüglich Hygieneuntersuchungszeit versus mind. 3-6 Monate bei Rederivierung). Ebenso sind die technischen Möglichkeiten für eine Rederivierung nicht in jeder Einrichtung gegeben. Dem stehen aber sicherlich ein erheblicher Aufwand und wesentlich höhere Kosten bei unabsichtlich durch den Import lebender Tiere in den Bestand eingetragenen unerwünschten Mikroorganismen gegenüber.

3.4.1 Vorgehensweise für den Import lebender Nagetiere

Ein Import lebender Tiere ist nur anzuraten, wenn die folgenden Bedingungen erfüllt sind:

- das Hygienezeugnis entspricht den Anforderungen der empfangenden Tierhaltung
- die Haltungsbedingungen gewährleisten, dass der Hygienestatus der Tiere bis zur Ankunft aufrecht erhalten werden kann
- Sicherheitsmaßnahmen müssen festgelegt werden

Die Tiere sollten in eine Quarantäneeinheit, die idealerweise mit Isolatoren oder IVC-Systemen bestückt ist, eingeführt werden. Bei bestimmungsgemäßem Gebrauch bieten diese Haltungssysteme zum einen Schutz vor Verbreitung von Keimen unter den eingeführten Tieren und minimieren zum anderen das Risiko, dass Erreger auf andere Haltungsbereiche übergreifen. Weiterhin sollte sich eine solche Quarantäneeinheit räumlich getrennt vom restlichen Haltungsbereich befinden, zumindest aber eine eigene hygienische Einheit bilden. Der Unterdruckbetrieb von Quarantäneräumen kann eine zusätzliche Sicherheit gegenüber anderen Haltungsbereichen geben, stellt aber u.U. eine zusätzliche Kontaminationsgefahr für Tiere in diesem Bereich dar. In einer Quarantäneeinheit sollten keine weiteren Tiere untergebracht werden, und es sollten dort wegen des hygienischen Restrisikos andere Pflegepersonen tätig sein als in der eigentlichen Tierhaltung. Anderes Personal sollte keinen Zutritt haben.

Die bevorzugte Methode für die mikrobiologische Überwachung ist das Testen von Einzeltieren (für serologische Untersuchungen müssen immunkompetente Mäuse eingesetzt werden). Alternativ können Tiere der importierten Kohorte für die direkte Überwachung verwendet werden. Die Gefahr, dass Mikroorganismen auf die Tiere der Quarantäne übertragen werden, steigt, wenn Mäuse aus anderen Bereichen importiert werden, um als Sentineltiere verwendet zu werden.

Da die Sentineltiere eine mögliche Infektion bei den importierten Tieren anzeigen sollen, müssen sie idealerweise als Kontaktsentinel exponiert werden und sollten erst nach einer ausreichenden Wartezeit von mind. 8-12 Wochen untersucht werden (notwendiger Sicherheitszeitraum für eine Antikörperproduktion nach Infektionen im Versandbetrieb, die zwischen letztem Untersuchungszeitraum und Versendezeitpunkt auftreten, sowie Infektionen, die auf dem Transport oder in der Empfängereinheit auftreten). Vgl. hierzu die Darstellung der Übertragungsmöglichkeiten verschiedener Mikroorganismen in der Empfehlung der GV-SOLAS². In Mauskolonien, die in IVCs oder Isolatoren gehalten werden, liefert die Verwendung von Sentinels im Unterschied zu offenen Käfigsystemen nur

unzuverlässige Daten bzgl. des mikrobiologischen Status der in die Quarantäne importierten Tiere. Weitere Informationen zur korrekten Verwendung von Sentineltieren finden sich in der Empfehlung der GV-SOLAS⁷ und bei Lipman und Homberger⁸. Neuere Publikationen weisen darauf hin, dass Abluftstaubproben für das Gesundheitsmonitoring verwendet werden können⁹⁻¹¹.

Die Untersuchung erfolgt nach hausinternen Standards (Serologie, Bakteriologie, Parasitologie). Zusätzlich zu den Proben von Sentineltieren können Blutproben, Abstriche und Kotproben direkt von den importierten Tieren der Quarantäne sowie Abluftstaubproben für diagnostische Maßnahmen gewonnen werden.

Entspricht das Ergebnis nach Überprüfung durch entsprechende Fachleute den eigenen Standards, können die Tiere in den Bestand überführt werden. Ist dies nicht der Fall, muss eine Sanierung der Importtiere (s. Abschnitt 4) erfolgen.

Das Risiko, Erreger unbeabsichtigt in die Haltung zu transferieren, hängt von verschiedenen Faktoren ab:

- erregerassoziierte Faktoren wie eine verlängerte oder intermittierende Ausscheidung
- Wahrscheinlichkeit der Übertragung auf Sentineltiere
- Einfluss der Mausgenetik (z.B. stammspezifische Resistenzen für bestimmte Pathogene) oder des Mausalters auf Serokonversion oder Ausscheidung
- Sensitivität der Testmethoden

Zu den Erregern, die aus diesen Gründen mit einem erhöhten Risiko behaftet sein können, zählen z.B. Parvoviren^{12,13}, Oxyuren, Protozoen, *Pasteurellaceae* und *Helicobacter* spp.¹⁴. Eine medikamentöse Behandlung von Tieren ist für eine Sanierung ungeeignet. Lediglich eine Parasitenbekämpfung ist in Ausnahmefällen möglich (siehe GV-SOLAS Empfehlung¹⁵).

3.4.2 Import gnotobiotischer Nagetiere (keimfrei, keimassoziiert)

Gnotobiotische Nagetiere können für folgende Zwecke importiert werden:

- zum Aufbau einer gnotobiotischen Kolonie beim Empfänger¹⁶
- für Experimente
- zum Aufbau einer neuen Zuchtkolonie

Beim Arbeiten mit Gnotobioten ist ein intensives Testen auf Infektionserreger (wie z.B. in den FELASA Empfehlungen) nicht notwendig. Folglich zielt die mikrobiologische Überwachung von Gnotobioten darauf ab, entweder das Fehlen von Mikroorganismen oder das Vorhandensein von Keim-assoziierten Mikroorganismen zu zeigen. Eine regelmäßige Überwachung mittels 16S-rRNA-Sequenzierung wird empfohlen¹⁶. Weitere Untersuchungen sollten Mikroorganismen beinhalten, die Gnotobioten leicht kontaminieren können, wie z. B. Bakterien und Pilze aus der Umwelt.

Gnotobiotische Tiere gelten als hygienisch unbedenklich, um eine neue Zuchtkolonie aufzubauen, wenn die assoziierte Keimflora mit dem Hygienestatus der Tierhaltung übereinstimmt. Voraussetzung für den Import sind Gesundheitszeugnisse mit diesen Informationen, die von der versendenden Tierhaltung zur Verfügung gestellt werden. Dennoch sollte diese Information der versendenden Tierhaltung durch den Empfänger überprüft werden. Daher sollten die Tiere zunächst in einem Isolator mit Überdruck gehalten werden, bis die

Testergebnisse vorliegen. Die Tiere können nur in die Tierhaltung importiert werden, wenn die hygienische Qualität dem Hygienestatus der Tierhaltung entspricht.

4 Import von Tieren durch Rederivierung

Eine Rederivierung kann mit folgenden Methoden durchgeführt werden:

- Embryotransfer (mit *ex vivo* gewonnenen oder *in vitro* produzierten Embryonen)
- Hysterektomie
- Neonataler Transfer (cross fostering)

Die Rederivierung sollte in einem ausgewiesenen Bereich (Isolator, räumlich getrennter Bereich) durchgeführt werden. Die sanierten Tiere sollten erst nach Überprüfung der mikrobiologischen Qualität in den eigentlichen Zucht- oder Haltungsbereich der Tierhaltung eingebracht werden. Zur hygienischen Kontrolle werden die Ammen nach dem Absetzen der Jungtiere untersucht. Erst nach dem Nachweis geeigneter mikrobiologischer Qualität können die Jungtiere nach Abschluss der Untersuchung in die eigene Tierhaltung eingeschleust werden.

4.1 Embryotransfer (mit *ex vivo* gewonnenen oder *in vitro* produzierten Embryonen)

Folgenden Methoden des Embryotransfers werden als sicher eingeschätzt, wenn alle notwendigen hygienischen Maßnahmen eingehalten werden¹⁷⁻²²:

- *ex vivo*: lebende oder kryokonservierte Embryonen
- *in vitro*: *in vitro* Fertilisierung (IVF) mit lebenden oder kryokonservierten Spermien

Die importierten Tiere werden bis zur Entnahme der Embryonen isoliert gehalten. Für importierte Tiere gelten dieselben Quarantänebedingungen wie für Embryonen- oder Spermien-spender (3.4.1). Isolatoren (Unterdruck) sind für diese Zwecke gut geeignet, ebenso wie eine komplette räumliche Trennung der importierten Tiere vom restlichen Tierbestand. Die Betreuung der Importtiere sollte dann durch andere Personen als in der eigentlichen Zucht erfolgen. Eine Unterbringung in IVC-Racks (Unterdruck), die sich in der Tierhaltung befinden, ist ebenfalls möglich, setzt aber ein korrektes Handling des IVC-Systems voraus.

Verschiedene Infektionserreger wie z.B. LCMV (Lymphocytic choriomeningitis virus), MCMV (Mouse cytomegalovirus), MHV (Mouse hepatitis virus), MNV (Murine norovirus), MPV (Mouse parvovirus), MVM (Minute virus of mice), Polyomavirus und Sendaivirus wurden in Ovarien, Eizellen oder Embryonen nachgewiesen^{12,17,23-31}. Es ist jedoch davon auszugehen, dass das Risiko der Erregerverschleppung beim Embryotransfer bei intakter Zona Pellucida gering ist, wenn eine ausreichende Reinigung der Embryonen durchgeführt wird (z.B. 10-mal Waschen mit einer Mindestverdünnung von 1:100 zwischen den Waschschritten^{17,18,32}). Daher können frisch gewonnene oder kryokonservierte Embryonen nach entsprechenden Waschschritten direkt in die Embryotransfereinheit eingebracht werden. Damit wird das Risiko der Einschleppung von Mikroorganismen durch lebende Tiere minimiert und transportbedingte Tierbelastungen werden vermieden.

Eine weitere bewährte Methode zur Sanierung ist die Verwendung von Spermien der zu sanierenden Stämme. Spermien können entweder frisch oder kryokonserviert für eine *in vitro*-Befruchtung eingesetzt werden. Die männlichen Fortpflanzungsorgane inkl. Spermien könnten

ebenfalls verschiedene Infektionserreger wie z.B. MCMV, MHV, MNV, MPV, MVM, TMEV (Theiler's murine encephalomyelitis virus) und *Helicobacter* spp. übertragen^{12,28,29,31,33-35}. Es ist nicht möglich, Infektionserreger aus den Spermienproben unter Einsatz von Percollgradienten²⁹ oder mittels Waschen zu entfernen⁷. Jedoch kann eine IVF mit Spermien trotz Anwesenheit von Viren zu virus-freien, seronegativen Rezipienten führen, wenn entsprechende Waschschriffe eingehalten werden^{17,18,30,32}. Die Methode der IVF mit anschließendem Embryotransfer ist heute sehr gut etabliert³⁶ und dient als Alternative zum Mausimport oder dem Transfer *ex vivo* gewonnener Embryonen.

Nach ausreichenden Waschschriffen können die Embryonen direkt in Barrieren eingeschleust und hier in pseudoträchtige Ammen, die den Hygienestandards der Tierhaltung entsprechen, implantiert werden.

Wegen eines hygienischen Restrisikos bei der Durchführung des Embryotransfers ist dabei jedoch eine separate Haltung der Ammen notwendig. Die Ammen sollten so untergebracht werden, dass eine Gefährdung des Restbestandes ausgeschlossen ist.

4.2 Sanierung mittels Hysterektomie

Die Sanierung mittels aseptischer Hysterektomie (Gnotobioteknik) sollte idealerweise in Isolatoren (Überdruck) durchgeführt werden. Sie setzt ein gut eingespieltes Personal mit hygienisch einwandfreier und sorgfältiger Arbeitsweise voraus, insbesondere, wenn Tiere keimfrei saniert werden sollen.

Zur Durchführung der Hysterektomie wird das infizierte bzw. seropositive trächfide Muttertier so kurz wie möglich vor dem errechneten Wurftermin (aber vor Öffnung der Cervix) getötet. Tauchbäder mit einer absteigenden Konzentration einer gewebeschonenden Desinfektionsmittellösung (z.B. Jodophor-Lösung) dienen in wiederholten Arbeitsschriffen dem Abspülen bzw. Abtöten von Erregern, die an der Oberfläche von Gebärmutter, Plazenta und Fruchthüllen haften können. Nachdem der Uterus im Tauchbad aus dem Spendertier entfernt wurde, können die Feten durch Öffnen des Uterus in einem weiteren Tauchbad entwickelt werden. Anschließend werden entweder die noch mit Eihaut und Plazenta behafteten Feten oder der isolierte, aber noch geschlossene Uterus mit den darin befindlichen Feten in einen Isolator mit einer keimfreien oder spezifiziert pathogenfreien Amme transferiert, die kurz vor Durchführung der Hysterektomie geworfen hat³⁷⁻³⁹. Sämtliche, die Feten umgebene Hüllen, sind dann dort zu entfernen. Die Säuglinge sollten anschließend gut mit Nestmaterial aus dem Käfig der Amme abgeputft werden, um die Akzeptanz durch die Amme zu erhöhen.

Die Hysterektomie ist, ebenso wie der neonatale Transfer, nicht für jeden Erreger anwendbar. Diese Methode ist nur erfolgreich, wenn keine diaplazentare Erregerübertragung auf die Feten stattgefunden hat. Daher ist es empfehlenswert, die zu sanierenden Tiere zuvor auf vertikal übertragbare Mikroorganismen zu untersuchen. Ungeeignet ist die Hysterektomie beispielsweise, wenn Tiere aufgrund einer Infektion mit LCMV saniert werden sollen^{23,40}. Eine diaplazentare Übertragung von MCMV kann ebenso angenommen werden⁴¹. Auch gibt es Literaturberichte, die über eine vertikale Übertragung von Parvoviren berichten^{42,43}. Die diaplazentare Übertragung von MHV, zumindest experimentell, wurde ebenfalls beschrieben^{44,45}. Es ist jedoch anzunehmen, dass es sich hierbei um einen sehr unwahrscheinlichen, natürlich vorkommenden Übertragungsweg handelt^{41a}.

Neben diesen Berichten über Viren existieren auch Erfahrungsberichte, die vermuten lassen, dass die Hysterektomie nicht die Methode der Wahl sein sollte, wenn immundefiziente Mäuse erfolgreich von *Pasteurella pneumotropica* oder *Helicobacter hepaticus* saniert werden sollen^{20,36,46}. Begleitmaßnahmen zur Sanierung von Parasiten oder Bakterien sind ähnlich wie beim neonatalen Transfer denkbar (siehe 4.3).

4.3 Neonataler Transfer (*cross fostering*)

Der neonatale Transfer beinhaltet den Transfer von Säuglingen infizierter und/oder seropositiver Muttertiere auf spezifizierte pathogenfreie Ammen und ist nicht bei Vorliegen jeden Erregers anwendbar. Ein Erfolg dieser Methode setzt voraus, dass noch keine Infektion der Säuglinge vor, während oder kurz nach der Geburt stattgefunden hat. Deshalb sollte der Transfer möglichst in den ersten 24 Stunden nach der Geburt stattfinden⁴⁷. Des Weiteren können die Säuglinge vor dem Transfer für wenige Sekunden in eine gewebeschonende Desinfektionsmittellösung (z.B. Jodophor-Lösung) eingetaucht werden, um eventuell an der Körperoberfläche haftende Erreger abzuspuhlen bzw. abzutöten^{48,49}.

Die Erfolgsaussichten sind am größten bei immunkompetenten Tieren, da hier die Bildung maternaler Antikörper erfolgt und eine geringe Wahrscheinlichkeit einer diaplazentaren Übertragung besteht. Außerdem kann besonders dann erfolgreich mittels „cross fostering“ saniert werden, wenn eine Infektion mit Erregern vorliegt, die nur für kurze Zeit ausgeschieden werden (z.B. MHV, murines Rotavirus) und/oder primär fäkal-oral übertragen werden (z.B. MNV, TMEV, murines Rotavirus, *Helicobacter* spp.)⁴⁸⁻⁵². Als Begleitmaßnahme bei dieser Art der Sanierung kann zur Eliminierung von *Helicobacter*-Arten den trächtigen Muttertieren sowie den Ammen und Jungtieren ein antibiotikahaltiges Futter verabreicht werden^{47,53}. Eine Kombination aus neonatalem Transfer und Medikamentengabe (Ivomec®) ist für die Bekämpfung von Milben bei der Maus beschrieben⁵⁵.

Generell kann trotz gut etablierter Sanierungsstrategien ein Risiko des Einbringens unerwünschter Mikroorganismen beim Import von Nagetieren in Tierhaltungen nicht ausgeschlossen werden. Daher sind weitere wissenschaftliche Untersuchungen notwendig, um sicherzustellen, dass die Hygienestandards von Tierhaltungen nicht durch Importe neuer Mauslinien gefährdet werden.

5 Literatur

1. Mähler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, Raspa M. 2014. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim* 48:178–192.
2. GV-SOLAS, Ausschuss für Hygiene. 201. Hygienic monitoring of mice and rats in various housing systems.
http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publikation/Hygiene/hyg_mikrobiol-monito-hous2010.pdf
3. Aguila HN, Pakes SP, Lai WC, Lu YS. 1988. The effect of transportation stress on splenic natural killer cell activity in C57BL/6J mice. *Lab Anim Sci* 38:148-151.
4. Nicklas W. 2008. International harmonization on health monitoring. *ILAR J* 49:338-346.
5. GV-SOLAS, Ausschuss für Hygiene. 2018 Harmonisation of Health Monitoring Reports.
http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_stellungnahme/2018stell_hyg-Harmonisation_e.pdf
6. GV-SOLAS, Ausschuss für Genetik und Zucht. 2016. Empfehlungen zum Transport gentechnisch veränderter Mäuse und Ratten der Risikogruppe 1.
http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publikation/Genetik/201606Transport-GV-Tiere.pdf (2016)
7. GV-SOLAS, Ausschuss für Hygiene. 2014. Zur Aussagekraft von Gesundheitszeugnissen: Kritische Anmerkungen zum Einsatz von Sentinels zur Bestimmung des Infektionsstatus in Labortierhaltungen.
http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publikation/Hygiene/201411Sentinels_Nicklas.pdf (2014).
8. Lipman NS, Homberger FP. 2003. Rodent quality assurance testing use of sentinel animal systems. *Lab Anim* 32:36-42.
9. Miller M, Brielmeier M. 2018. Environmental samples make soiled bedding sentinels dispensable for hygienic monitoring of IVC-reared mouse colonies. *Lab Anim*. 52(3):233-239.
10. Miller M, Ritter B, Zorn J, Brielmeier M. 2016. Exhaust air dust monitoring is superior to soiled bedding sentinels for the detection of *Pasteurella pneumotropica* in individually ventilated cage systems. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 55(6):775-781.
11. Zorn J, Ritter B, Miller M, Kraus M, Northrup E, Brielmeier M. 2017. Murine norovirus detection in the exhaust air of IVCs is more sensitive than serological analysis of soiled bedding sentinels. *Lab Anim*. 51(3):301-310.
12. Janus LM, Smoczek A, Hedrich HJ, Bleich A. 2009. Risk assessment of minute virus of mice transmission during rederivation: detection in reproductive organs, gametes, and embryos of mice after in vivo infection. *Biol Reprod* 81:1010-1015.
13. Janus LM, Bleich A. 2012. Coping with parvovirus infections in mice: health surveillance and control. *Lab Anim* 46:14-23.
14. Brielmeier M, Mahabir E, Needham JR, Lengger C, Wilhelm P, Schmidt J. 2006. Microbiological monitoring of laboratory mice and biocontainment in individually ventilated cages: a field study. *Lab Anim* 40:247-260.
15. GV-SOLAS, Ausschuss für Hygiene. 2013 Prophylaktische und therapeutische Maßnahmen bei ausgewählten Infektionen von Labornagern und Kaninchen.
[http://www.gv-solas.de/fileadmin\(user_upload/pdf_publikation/Hygiene/hyg-prophylak_0313.pdf](http://www.gv-solas.de/fileadmin(user_upload/pdf_publikation/Hygiene/hyg-prophylak_0313.pdf)

16. Nicklas W, Keubler L, Bleich A. 2015. Maintaining and Monitoring the Defined Microbiota Status of Gnotobiotic Rodents ILAR J 56(2):241–249.
17. Mahabir E, Bulian D, Needham J, Schmidt J. 2009. Lack of transmission of mouse minute virus (MMV) from in vitro produced embryos to recipients and pups due to the presence of cumulus cells during the in vitro fertilisation process. Biol Reprod 81:531- 538.
18. Mahabir E, Bulian D, Schmöller R, Needham J, Schmidt J. 2008. Production of virus-free seronegative pups from murine embryos arising from in vitro fertilisation with mouse minute virus-exposed spermatozoa. Biol Reprod 78:53- 58.
19. Carthew P, Wood MJ, Kirby C. 1983. Elimination of Sendai (parainfluenza type 1) virus infection from mice by embryo transfer. J Reprod Fertil 69:253-257.
20. Reetz IC, Wullenweber-Schmidt M, Kraft V, Hedrich HJ. 1988. Rederivation of inbred strains of mice by means of embryo transfer. Lab Anim Sci 38:696-701.
21. Okamoto M, Masumoto T. 1999. Production of germfree mice by embryo transfer. Exp Anim 48:59-62.
22. Van Keuren ML, Saunders TL. 2004. Rederivation of transgenic and gene-targeted mice by embryo transfer. Transgenic Res 13:363-371.
23. Mims CA. 1966. Immunofluorescence study of the carrier state and mechanism of vertical transmission in lymphocytic choriomeningitis virus infection in mice. J Pathol Bacteriol 91:395- 402.
24. Tuffrey M, Zisman B, Barnes DR. 1972. Sendai (parainfluenza 1) infection of mouse eggs. Br J Exp Pathol 53:638-640.
25. Abramczuk J, Vorbrodth A, Solter D, Koprowski H. 1987. Infection of mouse preimplantation embryos with simian virus 40 and polyoma virus. Proc Natl Acad Sci USA 75:999-1003.
26. Lavilla-Apelo C, Kida H, Kanagawa H. 1992. The effect of experimental infection of mouse preimplantation embryos with paramyxovirus Sendai. J Vet Med 54:335-340.
27. Tebourbi L, Testart J, Cerutti I, Moussu JP, Loeuillet A, Courtot AM. 2002. Failure to infect embryos after virus injection in mouse zygotes. Hum Reprod 17:760-764.
28. Scavizzi F, Raspa M. 2004. Tissue distribution and duration of mouse hepatitis virus in naturally infected immunocompetent ICR (CD-1) and immunodeficient athymic nude-nu mouse strains used for ovarian transplantation and in vitro fertilization. Lab Anim 38:189-199.
29. Agca Y, Bauer BA, Johnson DK, Critser JK, Riley LK. 2007. Detection of mouse parvovirus in Mus musculus gametes, embryos, and ovarian tissues by polymerase chain reaction assay. Comp Med 57:51-56.
30. Mahabir E, Bulian D, Needham J, Mayer A, Mateusen B, Van Soom A, Nauwynck H, Schmidt J. 2007. Transmission of mouse minute virus (MMV) but not mouse hepatitis virus (MHV) following embryo transfer with experimentally exposed in vivo-derived embryos. Biol Reprod 76:189-197.
31. Zhang L. 2008. Microbial pathogen contamination in mouse gametes and embryos. MSc Thesis, University of Missouri-Columbia. USA.
32. Peters DD, Marschall S, Mahabir E, Boersma A, Heinzmann U, Schmidt J, Hrabé de Angelis M. 2006. Risk assessment of mouse hepatitis virus infection via in vitro fertilisation and embryo transfer by use of zona-intact and laser-microdissected oocytes. Biol Reprod 74:246-252.
33. Dutko FJ, Oldstone MB. 1979. Murine cytomegalovirus infects spermatogenic cells. Proc Natl Acad Sci USA 76:2988-2991.
34. Scavizzi F, Raspa M. 2006. *Helicobacter typhlonius* was detected in the sex organs of three mouse strains but did not transmit vertically. Lab Anim 40:70-79.

35. Besselsen DG, Romero-Aleshire MJ, Munger SJ, Marcus EC, Henderson KS, Wagner AM. 2008. Embryo transfer rederivation of C.B-17/Icr-Prkdc(scid) mice experimentally infected with mouse parvovirus 1. *Comp Med* 58:353-359.
36. Suzuki H, Yorozu K, Watanabe T, Nakura M, Adachi J. 1996. Rederivation of mice by means of in vitro fertilization and embryo transfer. *Exp Anim* 45:33-38.
37. Heinecke H. 1989. *Angewandte Versuchstierkunde*. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, pp. 66-78.
38. Van Zutphen LFM, Baumans V, Beyen AC. 1995. *Grundlagen der Versuchstierkunde*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, pp. 131-150.
39. Hedrich HJ. 2012. *The Laboratory Mouse*. London: Elsevier, Academic Press, pp. 639-670.
40. National Research Council (US) Committee on Infectious Diseases of Mice and Rats. 1991. *Infectious diseases of mice and rats*. Washington (DC): National Academies Press (US), pp. 199-205.
41. Percy DH, Barthold SW. 2007. *Pathology of laboratory rodents and rabbits*. Ames (IA): Blackwell Publishing, pp.19-20.
- 41a. Percy DH, Barthold SW. 2007. *Pathology of laboratory rodents and rabbits*. Ames (IA): Blackwell Publishing, pp. 28-31.
42. Kilham L, Ferm VH. 1964. Rat virus (RV) infections of pregnant, fetal and newborn rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 117:874-879.
43. Kilham L, Margolis G. 1966. Spontaneous hepatitis and cerebellar "hypoplasia" in suckling rats due to congenital infections with rat virus. *Am J Pathol* 49:457-475.
44. Katami K, Taguchi F, Nakayama M, Goto N, Fujiwara K. 1978. Vertical transmission of mouse hepatitis virus infection in mice. *Jpn J Exp Med* 48:481-490.
45. Carthew P, Wood MJ, Kirby C. 1985. Pathogenicity of mouse hepatitis virus for preimplantation mouse embryos. *J Reprod Fertil* 73:207-213.
46. Flynn RJ, Brennan PC, Fritz TE. 1965. Pathogen status of commercially produced laboratory mice. *Lab Anim Care* 69:253-448.
47. Singletary KB, Kloster CA, Baker DG. 2003. Optimal age at fostering for derivation of *Helicobacter hepaticus*-free mice. *Comp Med* 53:259- 264.
48. Watson J, Thompson KN, Feldman SH. 2005. Successful rederivation of contaminated immunocompetent mice using neonatal transfer with iodine immersion. *Comp Med* 55:465-469.
49. Compton SR. 2008. Prevention of murine norovirus infection in neonatal mice by fostering. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 47:25-30.
50. Lipman NS, Newcomer CE, Fox JG. 1987. Rederivation of MHV and MEV antibody positive mice by cross-fostering and use of the microisolator caging system. *Lab Anim Sci* 37:195-99.
51. Truett GE, Walker JA, Baker DG. 2000. Eradication of infection with *Helicobacter* spp. by use of neonatal transfer. *Comp Med* 50:444-451.
52. Artwohl JE, Purcell JE, Fortman JD. 2008. The use of cross-foster rederivation to eliminate murine norovirus, *Helicobacter* spp., and murine hepatitis virus from a mouse colony. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 47:19-24.
53. Jury J, Gee LC, Delaney KH, Perdue MH, Bonner RA. 2005. Eradication of *Helicobacter* spp. from a rat breeding colony. *Contemp Top Lab Anim Sci* 44:8-11.
54. Kerton A, Warden P. 2006. Review of successful treatment for *Helicobacter* species in laboratory mice. *Lab Anim* 40:115-122.
55. Huerkamp MJ, Zitzow LA, Webb S, Pullium JK. 2005. Cross-fostering in combination with ivermectin therapy: a method to eradicate murine fur mites. *Contemp Top Lab Anim Sci* 44:12-16.

Haftungsausschluss

Die Nutzung und Verwendung der Veröffentlichungen (Fachinformationen, Stellungnahmen, Hefte, Empfehlungen, u. ä.) der Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS und die Umsetzung der darin enthaltenen Informationen und Inhalte erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko der jeweiligen Nutzer*innen oder Verwender*innen.

Die GV-SOLAS und auch die Autor*innen können für etwaige Unfälle und Schäden jeder Art, die sich durch die Nutzung der Veröffentlichung ergeben, keine Haftung übernehmen.

Die GV-SOLAS übernimmt keine Haftung für Schäden jeglicher Art, die durch die Nutzung der Webseite und das Herunterladen der Vorlagen entstehen. Ebenfalls haftet die GV-SOLAS nicht für unmittelbare oder mittelbare Folgeschäden, Datenverlust, entgangenen Gewinn, System- oder Produktionsausfälle.

Haftungsansprüche gegen die GV-SOLAS und die Autor*innen für Schäden materieller oder ideeller Art, die durch die Nutzung oder Nichtnutzung der Informationen bzw. durch die Nutzung fehlerhafter und/oder unvollständiger Informationen verursacht wurden, sind grundsätzlich ausgeschlossen.

Schadenersatzansprüche sind daher sowohl gegen die Gesellschaft für Versuchstierkunde GV-SOLAS wie auch gegen die Autor*innen ausgeschlossen.

Die Werke inklusive aller Inhalte wurden unter größter wissenschaftlicher Sorgfalt erarbeitet. Gleichwohl übernehmen die GV-SOLAS und die Autor*innen keinerlei Gewähr und keine Haftung für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen, ebenso nicht für Druckfehler.

Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandene Folgen von der GV-SOLAS und den Autor*innen übernommen werden.

Für die Inhalte von den in diesen Veröffentlichungen abgedruckten Internetseiten sind überdies ausschließlich die Betreiber der jeweiligen Internetseiten verantwortlich.

Die GV-SOLAS und die Autor*innen haben keinen Einfluss auf Gestaltung und Inhalte fremder Internetseiten und distanzieren sich daher von allen fremden Inhalten.