

Fachinformation

aus dem Ausschuss für Hygiene

Hygienerisiko beim Import von Mäusen und Ratten - Sanierungsstrategien

Stand: Juli 2014

Autoren:
Ausschuss für Hygiene

Haftungsausschluss

Die Benutzung der Hefte (Veröffentlichungen) und Stellungnahmen der GV SOLAS und die Umsetzung der darin enthaltenen Informationen erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko. Die GV-SOLAS und auch die Autoren können für etwaige Unfälle und Schäden jeder Art, die sich durch die Nutzung der Veröffentlichung ergeben (z.B. aufgrund fehlender Sicherheitshinweise), aus keinem Rechtsgrund eine Haftung übernehmen. Haftungsansprüche gegen die GV SOLAS und die en 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. Rechts- und Schadenersatzansprüche sind daher ausgeschlossen. Das Werk inklusive aller Inhalte wurde unter größter Sorgfalt erarbeitet. Die GV SOLAS und die Autoren übernehmen jedoch keine Gewähr für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen. Druckfehler und Falschinformationen können nicht vollständig ausgeschlossen werden. Die GV SOLAS und die Autoren übernehmen keine Haftung für die Aktualität, Richtigkeit und Vollständigkeit der Inhalte des Buches, ebenso nicht für Druckfehler. Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandenen Folgen von der GV SOLAS und den Autoren übernommen werden. Für die Inhalte von den in diesen Veröffentlichungen abgedruckten Internetseiten sind ausschließlich die Betreiber der jeweiligen Internetseiten verantwortlich. Die GV SOLAS und die Autoren haben keinen Einfluss auf Gestaltung und Inhalte fremder Internetseiten. Die GV SOLAS und die Autoren distanzieren sich daher von allen fremden Inhalten. V.i.S.d.P. der Vorstand der GV SOLAS

Inhalt

1	Generelle Überlegungen zum Import.....	3
2	Risikoabschätzung der Keimeinschleppung.....	3
2.a	Das Erregerspektrum/die Haltungsbedingungen beim Versender.....	3
2.a.1	Risiko der Keimeinschleppung beim Import von Tieren kommerzieller Herkunft	3
2.a.2	Risiko der Keimeinschleppung beim Import von Tieren aus experimentellen Tierhaltungen	4
2.a.3	Risiko der Keimeinschleppung beim internationalen Import von Tieren.....	4
2.b	Die Validität des Gesundheitszeugnisses	4
2.c	Die Transportbedingungen.....	5
2.d	Die Methode des Einbringens der Tiere in die Tierhaltung des Empfängers	5
2.d.1	Vorgehensweise zum Einbringen lebender Tiere.....	5
2.d.2	Sonderfall: Import gnotobiotischer Tiere (keimfrei, keimassoziiert).....	7
3	Methoden zur Sanierung eines zu importierenden Tierstammes.....	7
3.a	Embryotransfer (mit ex vivo gewonnenen oder in vitro produzierten Embryonen)	7
3.b	Sanierung mittels Hysterektomie	8
3.c	Neonataler Transfer ("cross fostering")	9
4	Literatur.....	10

Heute sind viele Mäuse- und Rattenstämme bei kommerziellen Züchtern in einem definierten hygienischen Status erhältlich und auch einige gentechnisch veränderte Tiere werden inzwischen kommerziell angeboten. In wissenschaftlichen Instituten werden jedoch

weiterhin transgene Tiere in einer großen Vielfalt generiert. Die einzelnen Linien werden dann meist von einem kleinen Kreis von Wissenschaftlern in geringen Mengen benötigt und untereinander ausgetauscht. Daher ist es für den Forscher unumgänglich, Zuchttiere aus verschiedenen, auch nicht kommerziellen Versuchstierhaltungen zu beziehen und für den eigenen Bedarf weiter zu züchten. Vor allem diesen Austausch von Tieren gilt es hygienisch risikoarm zu organisieren.

1 Generelle Überlegungen zum Import

Jeder Import von Tieren geht mit dem potenziellen Risiko des Eintrages unerwünschter Viren, Bakterien, Pilze oder Parasiten einher. Dazu gehören nicht nur Pathogene, sondern mitunter auch opportunistische oder andere für den Empfänger unerwünschte Keime, auf die unter Umständen nicht getestet oder deren Vorkommen nicht in Gesundheitszeugnissen aufgeführt wird. Das sind z.B. apathogene Protozoen sowie bestimmte Enterobacteriaceae, Staphylokokken und Streptokokken. Welchen Hygienestandard die zu importierenden Tiere aufweisen sollen, muss der Empfänger anhand der Hygienestandards in seiner eigenen Tierhaltung definieren.

Grundsätzlich kann bei hygienisch einwandfreien Tieren ein Import lebend erfolgen (siehe unter 2.d). Aus hygienischer und organisatorischer Sicht wie auch aus Gründen des Tierschutzes (Belastung durch Transport) ist jedoch der Import von Embryonen oder Spermien zu bevorzugen.

2 Risikoabschätzung der Keimeinschleppung

Dieses Risiko wird maßgeblich bestimmt durch:

- a. das Erregerspektrum/die Haltungsbedingungen beim Versender
- b. die Validität des Gesundheitszeugnisses
- c. die Transportbedingungen
- d. die Methode des Einbringens der Tiere in die Tierhaltung des Empfängers

Diese Punkte werden im Folgenden erläutert:

2.a Das Erregerspektrum/die Haltungsbedingungen beim Versender

2.a.1 Risiko der Keimeinschleppung beim Import von Tieren 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 kritisch zu hinterfragen und mit den eigenen Standards abzugleichen. Darüber hinaus wurden sporadische Infektionsausbrüche auch bei Tieren kommerzieller Züchter berichtet, so dass auch hier keine absolute Risikofreiheit gegeben ist. Es ist nicht auszuschließen, dass über unkritischen Zukauf von Tieren kommerzieller Züchter, die als Ammen, Sentinels oder für Kreuzungsexperimente verwendet werden sollen, opportunistische Keime wie z. B. *Staphylococcus aureus*, eingeschleppt werden. Solche Keime werden häufig nicht in Gesundheitszeugnissen aufgeführt.

2.a.2 Risiko der Keimeinschleppung beim Import von Tieren aus experimentellen Tierhaltungen

Die mikrobiologische Qualität der Versuchstiere hat sich auch in experimentellen Versuchstierhaltungen in den letzten Jahren stark verbessert, jedoch verfügt noch nicht jede Versuchstierhaltung über zuverlässige Informationen bezüglich des mikrobiologischen Status ihrer Tiere, weil regelmäßige mikrobiologische Kontrollen nicht oder nicht in ausreichender Form (siehe Empfehlungen der FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) (<http://www.felasa.eu/recommendations/recommendation/recommendations-for-health-monitoring-of-rodent-and-rabbit-colonies/> (2014)) durchgeführt werden. Die Publikation der GV-SOLAS: „Hygiene-Überwachung von Maus- und Rattenbeständen bei verschiedenen Haltungsformen“ (http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/hyg-ueberw_maus-ratte.pdf) gibt z.B. Hinweise, wie eine geeignete Hygienekontrolle bei verschiedenen Haltungsformen aussehen kann. Aber selbst wenn regelmäßige Kontrollen des Tierbestandes durchgeführt werden, zeigt sich immer wieder, dass ein aussagekräftiges Gesundheitszeugnis nicht erhältlich ist oder dass bei Eingangsuntersuchungen doch Infektionen mit unerwünschten Mikroorganismen vorliegen. Das Risiko, beim Import von lebenden Tieren aus experimentellen Haltungen einen Infektionserreger in den eigenen Tierbestand einzuschleusen, ist also hoch.

2.a.3 Risiko der Keimeinschleppung beim internationalen Import von Tieren

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 Kontamination mit Infektionserregern, andererseits können durch den Transportstress Immunantworten (bei kurz nach Ankunft der Tiere durchgeführten serologischen Kontrollen) beeinflusst werden (Aguila et al., 1988). Darüber hinaus ist zwar die hygienische Überwachung für Versuchstiere in Europa dank der FELASA-Empfehlungen harmonisiert, allerdings existiert weder ein vergleichbarer amerikanischer noch asiatischer Standard. Dieser fehlende internationale Standard erhöht das Risiko, Infektionserreger im Versuchstierbereich sowie Zoonosen (z.B. Hantavirus) einzuführen (Nicklas, 2008). Beim Vergleich der hygienischen Überwachungsergebnisse können vor allem folgende Unterschiede vorliegen:

- unterschiedliche präferierte Probeentnahme- und Nachweistechniken
- verschiedene Erregerlisten, auf die getestet wird (es wird jeweils die Prävalenz der Pathogene im eigenen Land berücksichtigt)

2.b Die Validität des Gesundheitszeugnisses

Vor der Beschaffung der Tiere sollte ein detailliertes Gesundheitszeugnis in Anlehnung an die Empfehlungen der FELASA (Nicklas et al., 2002 und Mähler et al., 2014) angefordert werden, mit dessen Hilfe das von diesen Tieren ausgehende Infektionsrisiko abgeschätzt werden kann. Das Zeugnis sollte u.a. Angaben bezüglich der Anzahl der untersuchten Tiere in einem Zeitraum von mindestens 18 Monaten, der Häufigkeit der Untersuchungen, des Erregerspektrums, der Untersuchungsmethoden, der Untersuchungsergebnisse und des Untersuchungslabors sowie Informationen über die Haltungsbedingungen enthalten. Nach speziellen Erregern, die in der eigenen Haltung 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 kann. 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 bei transgenen Nagerkolonien zur mikrobiologischen Bestandskontrolle immer auch sicher immunkompetente Tiere untersucht werden.

2.c Die Transportbedingungen

Der Transport der Importtiere 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 transgener 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 absendende Projektleiter (siehe Publikation der GV-SOLAS: „Empfehlungen zum Transport gentechnisch veränderter Mäuse und Ratten der Risikogruppe 1“ (http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/FI-GV-GL-Transport_transgene_Tiere-2014-03.pdf)). Der Empfänger sollte die Behältnisse nach Erhalt gründlich kontrollieren, da die Tiere auch bei kleineren Beschädigungen als potenziell kontaminiert angesehen werden müssen.

2.d Die Methode des Einbringens der Tiere in die Tierhaltung des Empfängers

Grundsätzlich können lebende Tiere in die eigene Tierhaltung eingebracht werden. Im Vergleich zu einer Sanierung ist diese Art des Imports jedoch immer mit einem höheren Risiko der Keimeinschleppung verbunden und sollte nur bei guter Qualität des Hygienezeugnisses und mit einer funktionierenden Quarantäneeinheit und erneuter Überprüfung des Hygienestatus der importierten Tiere nach Ankunft im eigenen Haus durchgeführt werden (siehe 2.d.1.). Es ist von entscheidender Bedeutung, dass das Gesundheitszeugnis von einer Person beurteilt wird, die die dafür erforderliche fachliche Kompetenz und Kritikfähigkeit besitzt. Bei allen Tieren mit nicht ausreichend bekanntem mikrobiologischem Status ist von einem deutlichen Risiko der Erregereinschleppung auszugehen. Diese Tiere sollten grundsätzlich als infektionsverdächtig angesehen und deshalb nur nach vorheriger Sanierung in Barrierebereiche eingeschleust werden.

Generell sind der Zeitaufwand (vgl. Dauer bei Einbringen über die Quarantäne von mind. 8-12 Wochen zuzüglich Hygieneuntersuchungszeit versus mind. 3-6 Monaten bei der Sanierung) und die Kosten für eine Sanierung hoch und die technischen Möglichkeiten sind nicht in jeder Einrichtung gegeben. Dem stehen aber sicherlich ein erheblicher Aufwand und wesentlich höhere Kosten bei einer akzidentiell durch den Import lebender Tiere in den Bestand eingetragenen Infektion gegenüber.

2.d.1 Vorgehensweise zum Einbringen lebender Tiere

Ein Import lebender Tiere ist nur anzuraten, wenn das Hygienezeugnis der zu importierenden Tiere ausreichend und vertrauenerweckend ist, der dort dokumentierte Keimstatus den eigenen Vorgaben entspricht und die beschriebenen Haltungsbedingungen erwarten lassen, dass dieser Hygienestatus bis zur Ankunft der Tiere beibehalten werden

kann. Solche Tiere sollten dann in eine Quarantäneeinheit, die idealerweise mit Isolatoren oder IVC-Systemen bestückt ist, eingeführt werden. Die Sicherheitsmaßnahmen müssen durch die verantwortliche sachkundige Person festgelegt 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 ferner keine weiteren Tiere untergebracht werden, und es sollten dort wegen eines hygienischen Restrisikos andere Pflegepersonen tätig sein als in der eigentlichen Tierhaltung. Experimentatoren sollten keinen Zutritt haben.

Zur hygienischen Überwachung bieten sich zusätzlich importierte Tiere desselben Stammes (serologisch nur wenn sie immunkompetent sind) bzw. immunkompetente Tiere eines anderen Stammes aus der gleichen Einheit des Versenders als Sentineltiere an. Weiterhin können auch Sentineltiere aus dem eigenen Bestand (bzw. zugekaufte Tiere) zur Überwachung eingesetzt werden. Da die zu untersuchenden Tiere eine mögliche Infektion bei den zu transferierenden Tieren anzeigen sollen, müssen sie maximal exponiert werden (idealerweise Kontaktsentinelns) und sollten erst nach einer ausreichenden Wartezeit von mind. 8-12 Wochen untersucht werden (notwendiger Sicherheitszeitraum für eine Antikörperproduktion nach später Infektion im Versendebetrieb, auf dem Transport oder in der Empfängereinheit); vgl. hierzu die Darstellung der Übertragungswahrscheinlichkeit verschiedener Erreger in der Empfehlung der GV-SOLAS „Hygiene-Überwachung von Maus- und Rattenbeständen bei verschiedenen Haltungsformen“ (http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/hyg-ueberw_maus-ratte.pdf). Die Untersuchung erfolgt nach hausinternen Standards (Serologie, Bakteriologie, Parasitologie). Zusätzlich zu den Sentinelproben können auch von den zu transferierenden Tieren direkt Blutproben, Abstriche und Kotproben für diagnostische Maßnahmen gewonnen werden. Entspricht das Ergebnis den eigenen Standards, können die Tiere in den Bestand überführt werden. Ist dies nicht der Fall, muss eine Sanierung der Importtiere (s.u.) erfolgen. Ein Beispiel für den Einsatz von Sentineltieren ist beschrieben bei Lipman und Homberger (2003).

Das Risiko, Erreger unbeabsichtigt in die Haltung zu transferieren, hängt von verschiedenen Faktoren ab: z.B. erregerassoziierte Faktoren wie eine verlängerte oder intermittierende Ausscheidung, die Wahrscheinlichkeit der Übertragung auf Anzeigertiere, Einfluss der Mausgenetik (z.B. stammspezifische Resistenzen für bestimmte Pathogene) oder des Mausalters auf Serokonversion oder Ausscheidung sowie die Sensitivität der Testmethoden. Zu den Erregern, die aus diesen Gründen mit einem erhöhten Risiko behaftet sein können, zählen z.B. Parvoviren (Janus et al., 2009; Janus und Bleich, 2012), Oxyuren, Protozoen, Pasteurellen und *Helicobacter* spp. (Brielmeier et al., 2006).

Eine medikamentöse Behandlung von Tieren ist für eine Sanierung ungeeignet. Lediglich eine Parasitenbekämpfung ist in Ausnahmefällen möglich (siehe „Prophylaktische und therapeutische Maßnahmen bei ausgewählten Infektionen von Labornagern und Kaninchen“ (http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/hyg-prophylak_0313.pdf)).

2.d.2 Sonderfall: Import gnotobiotischer Tiere (keimfrei, keimassoziiert)

Keimfreie und von keimfreien Tieren durch Assoziation mit einer definierten Keimflora gewonnene Tiere gelten als hygienisch unbedenklich, wenn die Assoziationskeime dem Hygienestatus der Haltung entsprechen.

Voraussetzungen für das Einschleusen

- Angaben der Herkunftsinstitution zum Keimstatus (Haltungsbedingungen, Details zu durchgeführten Untersuchungen wie Häufigkeit, Zahl der untersuchten Tiere, Art der Untersuchungen, etc. entsprechend den Empfehlungen der FELASA).
- Bei assoziierten Tieren: Angaben zu Art(en) der für die Assoziation verwendeten Mikroorganismen.

Es ist ratsam auch in diesem Fall, durch eigene Untersuchungen (mindestens 3 Tiere) die Angaben der Herkunftsinstitution zu überprüfen. In diesem Fall sollten gelieferte Tiere bis zum Abschluss der Untersuchungen im Überdruckisolator gehalten werden. Bei geeigneter Qualität können die Tiere danach in die eigentliche Tierhaltung eingeschleust werden.

3 Methoden zur Sanierung eines zu importierenden Tierstammes

- a. Embryotransfer (mit ex vivo gewonnenen oder in vitro produzierten Embryonen)
- b. Hysterektomie
- c. „cross fostering“ (neonataler Transfer)

Am sichersten ist es, die Sanierung mittels der unter a.-c. genannten Methoden in einer Quarantäneeinheit (Isolator, räumlich völlig getrennter Quarantäneraum) durchzuführen und erst die sanierten, erneut hygienisch kontrollierten Tiere in den eigentlichen Zucht- oder Haltungsbereich der Tierhaltung einzubringen.

Zur hygienischen Kontrolle werden die Ammen nach dem Absetzen der Jungtiere untersucht. Wird die Ammenaufzucht in Isolatoren durchgeführt, können auch Kontaktsentinelletiere abschließend untersucht werden (siehe unter 2.d.1). Erst nach einer abschließenden hygienischen Kontrolle der Nachkommen bzw. Ammen oder Sentinels und dem Nachweis geeigneter mikrobiologischer Qualität können die Jungtiere nach Abschluss der Untersuchung in die eigene Tierhaltung eingeschleust werden.

3.a Embryotransfer (mit ex vivo gewonnenen oder in vitro produzierten Embryonen)

Die gelieferten Zuchttiere werden bis zur Entnahme der Embryonen isoliert gehalten (Unterdruckisolator, Unterdruck-IVC-Käfig, räumlich getrennte Tierhaltungseinheit mit eigenem Pflegepersonal). Wenn der mikrobiologische Status dieser Zuchttiere durch ein aussagekräftiges Gesundheitszeugnis der Herkunftsinstitution (z.B. bei Beschaffung von kommerziellen Züchtern) bekannt und unbedenklich ist, können Embryonen nach ausreichenden Waschgängen direkt in Barrieren eingeschleust und hier pseudoträchtigen Ammen, die dem Status der Haltung entsprechen, implantiert werden. Embryonen können auch kryokonserviert angeliefert werden. Damit werden das Risiko der Einschleppung von Mikroorganismen durch lebende Tiere minimiert und transportbedingte Tierbelastungen vermieden. Neben dem „klassischen“ Embryotransfer ist auch die Implantation von Embryonen, die einer in vitro-Fertilisation entstammen, eine bewährte Alternative. 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. Isolatoren (Unterdruck) sind für diese Zwecke gut geeignet oder auch 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 (Mims, 1966; Tuffrey et al., 1972; Abramczyk et al., 1978; Lavilla-Apelo et al., 1992; Tebourbi et al., 2002; Scavizzi et al., 2004; Agca et al., 2007; Zhang, 2008; Mahabir et al., 2007; Mahabir et al., 2009; Janus, et al., 2009). 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 (d.h. 10 Mal Waschen mit einer Mindestverdünnung von 1:100 zwischen den Tropfen (Peters et al., 2006; Mahabir et al., 2008; Mahabir et al., 2009). Heutzutage gilt der Embryotransfer bei Umsetzung der notwendigen hygienischen Maßnahmen als sicher (Carthew et al., 1983; Reetz et al., 1988; Okamoto et al., 1999; Van Keuren et al., 2004; Mahabir et al., 2008; Mahabir et al., 2009).

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 (IVF) 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 übertragen (Dutko et al., 1979; Scavizzi et al., 2004; Scavizzi et al., 2006; Agca et al., 2007; Zhang, 2008; Besselsen et al., 2008; Janus et al., 2009). Es ist nicht möglich, Infektionserreger aus den Spermienproben unter Einsatz von Percollgradienten (Agca et al., 2007) oder mittels Waschen zu entfernen (Janus et al., 2009). Jedoch kann eine in vitro Befruchtung mit Spermien trotz Anwesenheit von Viren zu virus-freien, seronegativen Rezipienten führen (Peters et al., 2006; Mahabir et al., 2007; Mahabir et al., 2008; Mahabi, et al., 2009). Die Methode der IVF mit anschließendem Embryotransfer ist heute sehr gut etabliert (Suzuki et al., 1996) und dient als Alternative zum Mausimport oder dem Transfer ex-vivo gewonnener Embryonen.

3.b 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. Durch zügiges Arbeiten kann die Sanierung innerhalb weniger Minuten durchgeführt werden. Zur Durchführung der Hysterektomie wird das infizierte bzw. seropositive trächtige Muttertier so kurz wie möglich vor dem errechneten Wurftermin (aber vor Öffnung der Cervix) z.B. mittels Cervikaldislokation getötet. Tauchbäder mit einer absteigenden Konzentration einer gewebeschonenden Desinfektionsmittellösung (z.B. Jodophor-Lösung) dienen in den folgenden Arbeitsschritten 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 hat (Madry et al., 1989; Boot et al., 1995; Hardy, 2012). Sämtliche, die Feten umgebene Hüllen, sind dann dort zu entfernen. Die Säuglinge sollten anschließend gut mit Nestmaterial aus dem Käfig der Amme abgetupft 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 (National Research Council, 1991; Mims, 1966). Eine diaplazentare Übertragung von MCMV kann ebenso angenommen werden (Percy et al., 2007). Auch gibt es Literaturberichte, die über eine vertikale Übertragung von Parvoviren berichten (Kilham et al., 1964; Kilham et al., 1966). Die diaplazentare Übertragung von MHV, zumindest experimentell, wurde ebenfalls beschrieben (Katami et al., 1978; Carthew et al., 1985). Es ist jedoch anzunehmen, dass es sich hierbei um einen sehr unwahrscheinlichen, natürlich vorkommenden Übertragungsweg handelt (Percy et al., 2007). 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 (Flynn et al., 1965; Reetz et al., 1988; Suzuki et al., 1996). Begleitmaßnahmen zur Sanierung von Parasiten oder Bakterien sind ähnlich wie beim neonatalen Transfer denkbar (siehe 3.c).

3.c Neonataler Transfer ("cross fostering")

Der neonatale Transfer beinhaltet den Transfer von Säuglingen infizierter und/oder seropositiver Muttertiere auf spezifiziert 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 stattfinden (Singletary et al., 2003). 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 abzuspülen bzw. abzutöten (Compton, 2008; Watson et al., 2005).

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.) (Lipman et al., 1987; Truett et al., 2000; Watson et al., 2005; Artwohl et al., 2008; Compton, 2008). 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 (Singletary et al., 2003; Jury et al., 2005; Kerton et al., 2006). Eine Kombination aus neonatalem Transfer und Medikamentengabe (Ivermectin®) ist für die Bekämpfung von Milben bei der Maus beschrieben (Huerkamp et al., 2005).

4 Literatur

- Abramczyk, J, Vorbrodt A, Solter D, Koprowski H. 1978.** Infection of mouse preimplantation embryos with simian virus 40 and polyoma virus. *Proc. Natl Acad. Sci USA*. Bd. 75, S. 999-1003.
- 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.* Bd. 57, S. 51-56.
- Aguila, HN, Pakes SP, Lai WC, Lu YS. 1988.** The effect of transportation stress on splenic NK cell activity in C57BL/6J mice. *Lab. Anim. Sci.* Bd. 38, S. 148-151.
- Artwohl, JE, Purcell, JE und 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.* Bd. 47, S. 19-24.
- Besselsen, DG, Romero-Aleshire MJ, Munger SJ, Marcus EC, Henderson KS, Wagner AM. 2008.** Embryo transfer rederivation of CB-17/lcr-Prkdc^{scid} mice experimentally infected with mouse parvovirus 1. *Comp. Med.* Bd. 58, 4, S. 353-359.
- Boot, R, Koopman, JP und Kunstyr, I. 1995.** [Buchverf.] LFM Van Zutphen, V Baumans und AC Beyen. *Grundlagen der Versuchstierkunde*: Gustav Fischer Verlag, 1995.
- 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.* Bd. 40, S. 247-260.
- Carthew, P, Wood, MJ und Kirby, C. 1983.** Elimination of Sendai (parainfluenza type 1) virus infection from mice by embryo transfer. *J. Reprod. Fertil.* Bd. 69, S. 253-257.
- Carthew, P, Maureen, JW und Kirby, C. 1985.** Pathogenicity of mouse hepatitis virus for preimplantation mouse embryos. *J. Reprod. Fert.* Bd. 73, S. 207-213.
- Compton, SR. 2008.** Prevention of murine norovirus infection in neonatal mice by fostering. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* Bd. 47, S. 25-30.
- Dutko, FJ und Oldstone, MB. 1979.** Murine cytomegalovirus infects spermatogenic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. Bd. 76, S. 2988-2991.
- FELASA** <http://www.felasa.eu/recommendations/recommendation/recommendations-for-health-monitoring-of-rodent-and-rabbit-colonies/>
- Flynn, RJ, Brennan, PC und Fritz, TE. 1965.** Pathogen status of commercially produced laboratory mice. *Lab. Anim. Care.* Bd. 15, S. 440-448.
- GV-SOLAS, Ausschuss für Hygiene, 2009.** Hygiene-Überwachung von Maus- und Rattenbeständen bei verschiedenen Haltungformen. http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/hyg-ueberw_maus-ratte.pdf
- GV-SOLAS, Ausschuss für Hygiene. 2013.** Prophylaktische und therapeutische Maßnahmen bei ausgewählten Infektionen von Labornagern und Kaninchen. http://www.gv-solas.de/assets/files/PDFs/pdf_PUBLIKATION/hyg-prophylak_0313.pdf.
- GV-SOLAS, Ausschuss für Genetik und Zucht, 2014.** Empfehlungen zum Transport gentechnisch veränderter Mäuse und Ratten der Risikogruppe 1“ (http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/FI-GV-GL-Transport_transgene_Tiere-2014-03.pdf).
- Hardy, P. 2012.** In: H.J. Hedrich. [Hrsg.] *The Laboratory Mouse*. Academic Press, 2012.
- 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.* Bd. 44, S. 12-16.
- 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.* Bd. 81, S. 1010-1015.
- Janus, LM und Bleich, A. 2012.** Coping with parvovirus infections in mice: health surveillance and control. *Lab Anim.* Bd. 46(1), S.14-23.

- 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, Bd. 44, S. 8-11.
- Katami, K, Taguchi F, Nakayama M, Goto N, Fujiwara K. 1978. Vertical transmission of mouse hepatitis virus infection in mice. *Jpn. J. Exp. Med.* Bd. 48, S. 481-490.
- Kerton, A und Warden, P. 2006. Review of successful treatment for *Helicobacter* species in laboratory mice. *Lab. Anim.* Bd. 40, S. 115-122.
- Kilham, L und Ferm, VH. 1964. Rat virus (RV) infections of pregnant, fetal and newborn rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* Bd. 117, S. 874-879.
- Kilham, L und Margolis, G. 1966. Spontaneous hepatitis and cerebellar "hypoplasia" in suckling rats due to congenital infections with rat virus. *Am. J. Pathol.* Bd. 49, S. 457-475.
- Lavilla-Apelo, C, Kida, H und Kanagawa, H. 1992. The effect of experimental infection of mouse preimplantation embryos with paramyxovirus Sendai. *J. Vet. Med.* 54, S. 335-340.
- Lipman, NS und Homberger, FP. 2003. Rodent quality assurance testing: use of sentinel animal systems. *Lab. Anim. (NY)*. Bd. 32 (5), S. 36-42.
- Lipman, NS, Newcomer, CE und 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, Bd. 37, S. 195-199.
- Madry, M. und Heinecke, H. 1989. In: *Angewandte Versuchstierkunde*. Gustav Fischer Verlag.
- Mähler, M, Berard, M, Feinstein, R, Gallagher, A, Illgen-Wilcke, B, Pritchett-Corning K, und Raspa, M. 2014. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit. *Lab Anim* 48: 178-192
- 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.* Bd. 76, S. 189-197.
- 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.* Bd. 78, S. 53-58.
- 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.* Bd. 81, S. 531-538.
- Mims, CA. 1966. Immunofluorescence study of the carrier state and mechanism of vertical transmission in lymphocytic choriomeningitis virus infection in mice. *J. Pathol. Bacteriol.* Bd. 91, S. 395-402.
- National Research Council. 1991. *Infectious diseases of mice and rats*. National Academy Press.
- Nicklas, W, Baneux, P, Boot, R, Decelle, T, Deeny, A, Fumanelli M, Illgen-Wilcke, B. 2002. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab. Anim.* Bd. 36, S. 20-42.
- Nicklas, W. 2008. International harmonization of health monitoring. *ILAR J.* Bd. 49, S. 338-346.
- Okamoto, M und Masumoto, T. 1999. Production of germfree mice by embryo transfer. *Exp. Anim.* Bd. 48, S. 59-62.
- Percy, DH und Barthold, SW. 2007. In: *Pathology of laboratory rodents and rabbits*. Blackwell Publishing.
- 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.* Bd. 74, S. 246-252.
- Reetz, IC, Wullenweber-Schmidt M, Kraft V, Hedrich HJ. 1988. Rederivation of inbred strains of mice by means of embryo transfer. *Lab. Anim. Sci.* Bd. 38, S. 696-701.
- Scavizzi, F und Raspa, M. 2004. Tissue distribution and duration of mouse hepatitis virus in naturally infected immunocompetent ICR (D-1) and immunodeficient athymic nude-nu

mouse strains used for ovarian transplantation and in vitro fertilisation. *Lab. Anim.* Bd. 38, S. 189-99.

Scavizzi, F und Raspa, M. 2006. Helicobacter typhlonius was detected in the sex organs of three mouse strains but did not transmit vertically. *Lab. Anim.* Bd. 40, S. 70-79.

Singletary, KB, Kloster, CA und Baker, DG. 2003. Optimal age at fostering for derivation of Helicobacter hepaticus-free mice. *Comp. Med.* Bd. 53, S. 259-264.

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.* Bd. 45, S. 33-38.

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.* Bd. 17, S. 760-764.

Truett, GE, Walker, JA und Baker, DG. 2000. Eradication of infection with Helicobacter spp. by use of neonatal transfer. *Comp. Med.* Bd. 50, S. 444-451.

Tuffrey, M, Zisman, B und Barnes, DR. 1972. Sendai (parainfluenza 1) infection of mouse eggs. *Br. J. Exp. Pathol.* Bd. 53, S. 638-640.

Van Keuren, ML und Saunders, TL. 2004. Rederivation of transgenic and gene-targeted mice by embryo transfer. *Transgenic Res.* Bd. 13, S. 363-371.

Watson, J, Thompson, KN und Feldman, SH. 2005. Successful rederivation of contaminated immunocompetent mice using neonatal transfer with iodine immersion. *Comp. Med.* Bd. 55, S. 465-469.

Zhang, L. 2008. *Microbial pathogen contamination in mouse gametes and embryos.* University of Missouri-Columbia. Master of Science Thesis.