

# Tiergerechte Haltung von Labormäusen

Ausschuss für Tiergerechte  
Labortierhaltung

## **Mitglieder des Ausschusses**

M. Busch, Hohenpeißenberg  
S. Chourbaji, Heidelberg  
P. Dammann, Essen  
S. Gerold, Tübingen  
A. Haemisch, Hamburg  
P. Jirkof, Zürich  
P. Oehlert, Emmendingen  
A. Osterkamp, Soest  
S. Ott, Ulm  
S. Peters, Gießen  
K. Spekl, Dresden  
P.P. Tsai, Hannover  
Gastautor: B. Langen, Biocrea

Stand: August 2014

### Haftungsausschluss:

Die Benutzung der 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 oder 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 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 keine Haftung für die Aktualität, Richtigkeit und Vollständigkeit der Inhalte, ebenso nicht für Druckfehler. Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandene Folgen der GV-SOLAS und den Autoren übernommen werden.

## Inhalt

1. Einleitung	4
2. Haltungsrelevante Aspekte der Biologie der Labormaus	4
3. Käfige und Haltungsformen	4
3.1 Werkstoffe für Käfigschalen und Tränkeflaschen	5
3.2 Überblick Haltungssysteme (Vor- und Nachteile)	6
3.2.1 Offene Käfighaltung	7
3.2.2 Tierhaltungsschränke	7
3.2.3 IVC (Individuell ventilierte Käfige)	7
3.2.4 Isolatoren	9
4. Flächenbedarf	9
4.1 Mindestflächen	9
4.2 Besatzdichte in der Haltung	9
4.3 Besatzdichte in der Zucht	9
4.4 Vorrathaltung	10
5. Individuelle- oder Gruppenhaltung	10
6. Enrichment im Mausekäfig	10
6.1 Enrichment und Wohlbefinden	11
6.2 Enrichment und Standardisierung	12
6.3 Enrichment und Good Laboratory Practice (GLP)	13
6.4 Enrichment und Stereotypien	13
7. Haltungspraxis	14
7.1 Beleuchtung	14
7.1.1 Hell-Dunkel-Rhythmus	14
7.1.2 Lichtintensität	14
7.2 Raumklima und Mikroklima in den Käfigen	15
7.2.1 Temperatur im Raum	15
7.2.2 Luftfeuchte im Raum	15
7.2.3 Luftwechselraten im Raum	15
7.2.4 Mikroklima in den Käfigen	16
7.2.5 Belüftung von IVC-Käfigen	16
7.3. Lärm	16
7.4 Umsetzen	17
7.5 Mäuse und Ratten in einem Raum	17
7.6 Einstreu- und Nestmaterial	17
7.7 Fütterung und Tränke	18
8. Gentechnisch veränderte Mäuse	18
9. Ausblick	19
10. Literatur	20

## **1. Einleitung**

Aktuelle neue europäische Handlungsrichtlinien, die zunehmende Verwendung von IVC Käfigsystemen und die Notwendigkeit der Realisierung von Enrichmentmaßnahmen machen eine Überarbeitung dieses Mausheftes notwendig. Tiergerechte Haltungsformen müssen den Zugang von Wissenschaftlern zu den Mäusen gewährleisten, ohne den notwendigen Schutz der Tiere vor Kontaminationen zu vernachlässigen und sie müssen die Empfehlungen zur Verwendung von Enrichment-Maßnahmen berücksichtigen, ohne Standardisierungsansprüche in Frage zu stellen.

Mit dem vorliegenden Heft werden Haltungsempfehlungen auf der Basis der gegenwärtigen Diskussionen überprüft. Die Flächenempfehlungen orientieren sich an den Handlungsrichtlinien des Europarates ETS 123 (Appendix A to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. Guidelines for accommodation and care of animals). Der Anhang A wurde im Juni 2006 vom Europarat verabschiedet und ist am 15.6.2007 in Kraft getreten (Council of Europe 2006).

## **2. Handlungsrelevante Aspekte der Biologie der Labormaus**

Es sind mehr als 450 Inzuchtstämme der Maus beschrieben und ihre Abstammungsverhältnisse analysiert (Beck et al. 2000). Die Labormaus stammt von verschiedenen Unterarten der Wildmaus *Mus musculus* ab (Festing & Lovell 1981, Wade & Daly 2005). Wildmäuse sind Fluchttiere. Nachtaktivität sowie die Bevorzugung einer Umgebung mit schützenden Strukturen wie Höhlen oder Unterschlupfe sind als Anpassungen an die ausgeprägte Räuberexposition im Freiland zu verstehen und im Verhalten der Labormäuse erhalten geblieben (Jennings et al. 1998). Ihre schnelle Entwicklung, frühe Geschlechtsreife und hohe Wurfgröße konstituieren die charakteristische Lebensstrategie einer Spezies mit geringer Lebensdauer ihrer Individuen. Während der Domestikation der Labormäuse sind alle Verhaltenselemente und die Grundmuster der sozialen Organisation der Wildmaus erhalten geblieben. Territorialität beider Geschlechter bei deutlich stärkerer Unverträglichkeit zwischen den Männchen sind die Grundmuster der sozialen Organisation im Freiland. Bei begrenztem Raumangebot in der Laborhaltung manifestieren sich diese Grundmuster in einer despotischen Hierarchie zwischen Männchen und Bildung stabiler Käfiggruppen zwischen Weibchen (Mackintosh 1981). Beachtenswert sind die deutlichen Unterschiede in der Auslösbarkeit und Häufigkeit nahezu aller Verhaltensmuster zwischen den verschiedenen Stämmen der Labormaus. Dies trifft auch auf die Verträglichkeit der Mäuse untereinander zu (Mondragon et al. 1987, Guillot & Chapouthier 1996). Stammspezifische Verhaltenseigenschaften entscheiden deshalb mit, ob eine Gruppenhaltung von männlichen Mäusen möglich ist.

## **3. Käfige und Haltungsformen**

Mäuse sollen in Käfigen mit solidem Boden auf Einstreu gehalten werden. Gitterböden sind nur dann zu verwenden, wenn dies aus experimentellen oder diagnostischen Gründen zwingend notwendig ist. Die Käfige müssen leicht zu reinigen und zu sterilisieren sein, dürfen keine Verletzungsgefahren bergen und sollen gut einsehbar sein. Die Käfige sollten nicht zu hoch sein, damit der Gitterdeckel zum Klettern und der Trinknippel auch für junge Mäuse erreichbar sind. Der Abstand Boden-Trinknippel sollte mind. 5,5 max. 6,5 cm betragen.

Flächenmaße und maximale Besatzdichten der gängigen Käfigtypen für die Maushaltung sind im Kapitel 4 gelistet (Tabelle 2).

### 3.1 Werkstoffe für Käfigschalen und Tränkeflaschen

Käfigschalen und Tränkeflaschen können aus Polycarbonat (PC, Markenname bei Bayer: Makrolon), Polysulphon (PSU), Polyetherimid (PEI) oder Polyphenylsulphon (PPSU) gefertigt werden. PC hat den Nachteil, bei häufigem Autoklavieren aufgrund der bei diesem Werkstoff unvermeidlichen Hydrolyse milchig und spröde zu werden. Die neueren Werkstoffe PSU und PEI sind thermisch, chemisch und mechanisch widerstandsfähiger. Am widerstandsfähigsten sind PEI und PPSU. Preislich sind Käfigschalen aus PSU etwa doppelt, solche aus PEI oder PPSU derzeit bis zu viermal so teuer wie PC-Käfige. Allerdings halten die hochwertigeren Kunststoffe auch entsprechend länger. Die Amortisierung der höheren Anschaffungskosten hängt wesentlich von der Methode und Häufigkeit des Autoklavierens ab. Werden die Käfigschalen nicht autoklaviert, kann PC das Material der Wahl sein, bei regelmäßigem Autoklavieren ist oft die Verwendung von PSU, PEI oder PPSU vorteilhaft. Diese Materialien bieten sich bei stark materialbelastenden Autoklaverroutinen an. Wenn z.B. Käfige nach Gebrauch zusammen mit der Einstreu autoklaviert werden, beschleunigen die Urin- und Kotablagerungen in Kombination mit der hohen Temperatur die Zerstörung von PC-Käfigschalen. Wenn gefüllte PC-Tränkeflaschen bei 121°C autoklaviert werden (und durch Temperaturvoreilung die Einströmtemperatur des Dampfes > 121°C liegt), können lokale Überschreitungen der von PC maximal tolerierten Temperatur von 121°C die PC-Flaschen zerstören. PEI und PPSU hat zusätzlich den Vorteil, gegenüber allen üblichen Spülmitteln und Klarspülern inert zu sein. Käfigschalen aus jedem der vier genannten Werkstoffe sollten nicht mit Wasserstoffperoxid begast werden, da sich H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> an diese Kunststoffe bindet und Restkonzentrationen noch nach Tagen in den begasten Käfigschalen messbar sind (zur Orientierung: MAK Wert 0,5 ml/m<sup>3</sup>, DFG 2005).

PEI ist ungefähr halb so lichtdurchlässig wie PC bzw. PSU und PPSU, die sich in dieser Hinsicht nicht wesentlich unterscheiden. In PEI-Käfigen (gemessen in IVC Käfigen mit Deckeln aus dem gleichen Material) wurden in etwa halb so hohe Lichtintensitäten gemessen wie in Käfigen aus PSU oder PC. Haltungsrelevante Konsequenzen von Lichtqualität und Intensität werden im Kapitel 7.1 Beleuchtung behandelt.

### 3.2 Überblick Haltungssysteme, Tabelle 1

System	Beschreibung	Vorteile	Nachteile
Offenes Regalsystem	Offene Regale, in die Standardkäfige (Typ II-IV) eingeschoben oder gestellt werden können, üblicherweise hinter einer Trockenbarriere. Hygieneeinheit ist der Raum.	Leichte Zugänglichkeit, geringerer Arbeitsaufwand  Leichte Hygieneüberwachung  Relativ geringe Anschaffungskosten	Innerhalb des Raumes kein Schutz vor Kontaminationen  Hohe Luftwechselraten im Raum notwendig
Tierhaltungsschrank (THS)	Geschlossene Schränke, die mit HEPA-gefilterter Raumluft durchströmt werden und in die offene Käfige (Typ II-IV) gestellt werden können.  Hygieneeinheit ist der THS. Bei Verwendung statischer Filterhauben ist der Käfig die Hygieneeinheit.	Relativ leichte Zugänglichkeit,  Guter Schutz, solange geschlossen  Besserer Schutz für die Anwender durch Allergen- und Staubreduktion  Hygieneüberwachung leicht möglich	Schutzwirkung ist aufgehoben, sobald der Schrank geöffnet wird.  Umsetzen in einer Werkbank notwendig
Individuell Ventilierte Käfige (IVC)	Regalsysteme mit Belüftungssystemen, in die Käfige mit speziellen Hauben eingeschoben werden. Die geschlossenen Käfige werden mit HEPA-gefilterter Luft durchströmt, auch die Abluft wird gefiltert.  Hygieneeinheit ist der Käfig.	Besserer Schutz für die Tiere (keine Kreuzkontamination)  Besserer Schutz für die Anwender durch Allergen- und Staubreduktion  Geringere Anforderungen an die Raumbelüftung  Längere Umsetzintervalle möglich	Höherer Arbeitsaufwand  Hygienemonitoring nur unzureichend möglich  Einfluss auf das Verhalten der Tiere im Vergleich zur offenen Haltung kaum untersucht
Isolator	Luftdichte, transparente Behälter, die mit HEPA-gefilterter Luft durchströmt werden. Doppeltürschleuse zum Ein- und Ausschleusen von Material und Tieren. Alle Arbeiten über Gummihandschuhe („glovebox“). Hygieneeinheit ist der Isolator.	Maximale Hygiene für Tier und Mensch  Haltung von keimfreien und gnotobiotischen Tieren gut möglich  Hygieneüberwachung leicht möglich	System mit höchstem Arbeitsaufwand  Ergonomisch ungünstig  Manipulationen an den Tieren sind sehr schwierig

Anmerkung: Hygienische Einheiten werden in der Praxis durch Arbeitsabläufe bestimmt. Art und Handhabung der Umsetzprozedur (offen oder unter der Werkbank) können gewollt oder ungewollt zu abweichenden Hygieneeinheiten führen.

### **3.2.1 Offene Käfighaltung**

Die Tiere werden in „offenen“, lediglich mit einem Gitterdeckel verschlossenen Käfigen gehalten. Das Umsetzen der Tiere erfolgt ebenfalls offen im Haltungsraum ohne besondere Hygienemaßnahmen zwischen der Handhabung verschiedener Käfige. Die Hygieneeinheit ist in diesem Falle der Raum. Erreger können sich über Staubpartikel, Aerosole und während der Umsetzprozedur relativ ungehindert auf alle Käfige im Raum ausbreiten. Über die gleichen Wege verbreiten sich auch Allergene im Raum. Dem Staubanteil der Einstreu kommt für die Verbreitung vor allem der Allergene in der offenen Käfighaltung eine besondere Bedeutung zu. Die Belüftung der Käfige hängt wesentlich von der Luftführung der Raumbelüftung ab. Belegungsabhängig ist ein 10 bis 15facher Luftwechsel pro Stunde die technische Mindestanforderung an solche Räume (siehe auch 7.2.3). Die Luftwechselrate 'vor Ort', also im Käfig, kann je nach Standort des Käfigs und der Luftführung im Raum variieren.

Der Vorteil der offenen Haltung ist die einfache Handhabung und schnelle Zugänglichkeit der Tiere. Bei entsprechend rigider Barriere und Zugangskontrolle ist die Aufrechterhaltung eines hohen Hygieneniveaus bei relativ geringem Aufwand möglich. Die fehlende hygienische Trennung zwischen den Käfigen ermöglicht die Ausbreitung von Infektionen, hat aber den Vorteil, dass diese zuverlässig erkannt werden können. Die ungehinderte Ausbreitung von Allergenen im Tierraum ist ein fundamentaler Nachteil jeder offenen Käfighaltung.

### **3.2.2 Tierhaltungsschränke**

Tierhaltungsschränke sind geeignet, um begrenzte Tierzahlen in Räumen unterzubringen, die sonst aufgrund ihrer zu geringen Luftwechselrate nicht als Tierhaltungsräume ausgelegt sind. Sie eignen sich gut für die labornaher Unterbringung von Tieren im Versuch. Die üblicherweise verwendeten Tierhaltungsschränke ventilieren gefilterte Raumluft. Tierhaltungsschränke mit integrierter Steuerung von Temperatur, Luftfeuchte und Lichtrhythmus sind ebenfalls erhältlich. Die Luftwechselrate im Schrank ist wesentlich höher als die Luftwechselrate im Raum. Ein Tierhaltungsschrank kann als hygienische Einheit angesehen werden, wenn die Zuluft HEPA-gefiltert ist und das Öffnen des Schrankes und die Handhabung der offenen Käfige unter Laminar flow-Bedingungen erfolgt. Wenn Käfige mit statischen, d.h. nicht zwangsbelüfteten Filterhauben verwendet werden, ist der Käfig die Hygieneeinheit. In der Kombination mit dem Umsetzen unter Laminar flow -Bedingungen kann so im Tierhaltungsschrank eine dem IVC vergleichbare hygienische Abschirmung zwischen den einzelnen Käfigen erreicht werden. Tierhaltungsschränke, in denen die Luft über jeder statischen Filterhaube einzeln abgesaugt wird, verbessern die Lüftungsbedingungen in diesen Käfigen (ohne zusätzliche Belüftungsmaßnahmen sollten Filterhauben nicht verwendet werden, da der Luftaustausch zu stark behindert wird und sich Schadgase ansammeln).

### **3.2.3 IVC (Individuell ventilierte Käfige)**

IVC-Haltung bedeutet, dass der Haltungskäfig mit einer speziellen Haube geschlossen ist und über eine Gebläseeinheit mit HEPA-gefilterter, konditionierter Raumluft versorgt wird. In der Regel erfolgen im Käfig 60-90 Luftwechsel in der Stunde. Die Vorteile der IVC-Haltung liegen in der sehr guten hygienischen Abschirmung der Tiere, der deutlich verminderten Allergen- und Staubbelastung des Personals und, bedingt, der Einsetzbarkeit auch in Räumen, deren Lüftungskapazität für eine offene Käfighaltung unzureichend ist. Letzteres ist jedoch im Einzelfall kritisch zu prüfen. Nachteile gegenüber der offenen Käfighaltung sind die höheren Investitionskosten sowie die zeitlich aufwändigeren Umsetzroutinen, die, wie unten ausgeführt, nur begrenzt durch verlängerte Umsetzintervalle kompensiert werden können. Aus der Perspektive des

Käfigbewohners unterscheidet sich der IVC-Käfig vom offenen Käfig dadurch, dass er das Tier weitgehend von den akustischen und olfaktorischen Reizen der Außenwelt abschirmt.

Obwohl dieses seit den 80iger Jahren verfügbare Haltungssystem zunehmend verwendet wird, sind seine Auswirkungen auf Verhalten, Wohlbefinden und Reproduktionserfolg der Maus noch wenig untersucht. Die vorliegenden Ergebnisse, insbesondere zum Reproduktionserfolg (Reeb-Whitaker et al. 2001, Tsai et al. 2003a) sind uneinheitlich. Die Mehrzahl der Arbeiten befasst sich mit den klimatischen (Clough et al. 1995, Krohn 2002) oder hygienischen (Renstrom et al. 2001, Hoglund & Renstrom 2001) Bedingungen der IVC-Haltung.

Der Luftaustausch in den IVC-Käfigen kann technisch so gelöst werden, dass keine Zegerscheinungen auftreten. Ob die erhöhte Luftaustauschrate dennoch Auswirkungen auf die Physiologie der Tiere hat, ist noch nicht abschließend geklärt. Mäuse bevorzugen solche Käfige, bei denen die Luftführung oberhalb des Käfiggitters erfolgt. Bei Lufteinströmöffnungen auf der Höhe der Aktivitätsebene im Käfig meiden sie die Nähe dieser Öffnung oder versuchen sie mit vorhandenem Nistmaterial zu verschließen (Baumans et al. 2002). Die Gabe von Nestmaterial und Unterschlupf ermöglicht den Tieren eine aktive Thermoregulation (David et al. 2013).

Für die IVC-Haltung werden neben einigen Spezialgrößen im Wesentlichen die auch in der offenen Haltung gebräuchlichen Käfigschalen verwendet (Typ I lang, Typ II lang, Typ III erhöht). Für IVC und offene Käfighaltung gelten deshalb die gleichen maximalen Besatzdichten.

Da Mäuse einen wesentlichen Teil ihrer lokomotorischen Aktivität mit Klettern am Gitterdeckel verbringen, sollte auch im IVC-Käfig auf ein Gitterelement nicht verzichtet werden. Effekte auf die lokomotorische Entwicklung sind sonst nicht auszuschließen.

Aufgrund der hohen Luftwechselraten im IVC-Käfig werden Feuchtigkeit und Schadgase deutlich besser abtransportiert als im offenen Käfig. Dies ermöglicht theoretisch eine Verlängerung des üblicherweise wöchentlichen Intervalls des Käfigwechsels (Reeb-Whitaker et al. 2001).

Bei der Hygieneüberwachung von Tierbeständen in IVC-Haltungen (Compton et al. 2004a, Compton et al. 2004b) muss berücksichtigt werden, dass grundsätzlich jeder Käfig eine eigene hygienische Einheit darstellt. Die Untersuchung einer Stichprobe von Tieren aus der gesamten Population hat deshalb nicht die Aussagekraft einer gleich großen Stichprobe aus einer offenen Tierhaltung. Größere Tierpopulationen in IVCs können auch mittels Sentinels, die auf Einstreuproben aus verschiedenen Käfigen gehalten werden, nur unzureichend überwacht werden. Die geringere Diagnosesicherheit dieser Methode muß jedem Beteiligten bewusst sein (s. dazu vom Hygieneausschuss der GV-SOLAS:

[http://www.gv-solas.de/fileadmin/user\\_upload/pdf\\_publication/hyg-ueberw\\_maus-ratte.pdf](http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/hyg-ueberw_maus-ratte.pdf).)

Es bestehen große Unterschiede zwischen den IVC Systemen verschiedener Hersteller, sowohl was die Gestaltung der Käfige, die Luftführung, die Sicherheitstechnik als auch die Bedienung der Gebläseeinheiten, die praktische Handhabung und viele technische Details betrifft. Eine sorgfältige Systemauswahl ist daher dringend angeraten.

Anmerkung: In dem Umstand, dass der Abschnitt 3.2.2. mehr Raum als der Abschnitt 3.2.1. einnimmt, sollte keine Bewertung oder gar Präferenz für die IVC-Haltung gesehen werden. Vielmehr sind IVC-Systeme komplexer und benötigen daher auch mehr Erklärungen. Richtig und wichtig ist: Ein unsachgemäßer Umgang mit IVC-Systemen kann alle Hygienevorteile dieser Haltungsform zunichte machen. Ein sachgerechter Umgang mit offenen Käfigen in einer guten Raumbarrriere erlaubt gute hygienische Bedingungen.



### **3.2.4 Isolatoren**

Für die Zucht keimfreier Tiere sind Überdruckisolatoren das Mittel der Wahl. Unterdruckisolatoren sind essentiell für die Haltung von z.B. experimentell infizierten Tieren. Eine olfaktorische Abgrenzung der Käfige innerhalb des Isolators besteht nicht. Für viele Anwendungen mit geringeren Hygieneansprüchen, besonders im experimentellen Bereich, ist die IVC Haltung eine praktische und wirtschaftliche Alternative. Die mikrobiologische Sicherheit der Isolatorhaltung ist jedoch nach wie vor höher, es sei denn, dass es sich um IVC-Systeme handelt, die speziell für die Haltung von Gnotobionten entwickelt wurden.

## **4. Flächenbedarf**

Die zur Verfügung stehende Käfigfläche soll die Erfüllung biologischer Bedürfnisse nach Lokomotion, Nahrungsaufnahme und Ruhe möglichst wenig einschränken. Flächenempfehlungen begründen sich wesentlich aus der praktischen Haltungserfahrung und sind nicht wissenschaftlich begründet. Vor diesem Hintergrund wurden die Richtwerte der ETS 123 (Council of Europe 2006) als Mindestanforderungen zugrunde gelegt.

### **4.1 Mindestflächen**

Die minimale Grundfläche für einen Maushaltungskäfig beträgt gemäß ETS123 330 cm<sup>2</sup>. Damit ist die Haltung von Mäusen, auch von einer einzeln gehaltenen Maus, im sog. Typ I-Käfig (Grundfläche 180 cm<sup>2</sup>) nicht mehr zulässig.

### **4.2 Besatzdichte in der Haltung**

Für Tiere über 20 g Körpergewicht sollte eine Grundfläche von 100 cm<sup>2</sup> je Tier, für kleinere Tiere eine Grundfläche von mindestens 60 cm<sup>2</sup> je Tier zur Verfügung gestellt werden. Maximale Belegungsdichten für verschiedene Käfigtypen werden in Tabelle 2 ausgewiesen. Auf eine differenzierte Berechnung der Flächen für Tiere unter 30 g wurde verzichtet.

### **4.3 Besatzdichte in der Zucht**

Auf der Mindestfläche von 330 cm<sup>2</sup> wird die Haltung von nur einem Zuchtpaar empfohlen. Zwar ist nach europäischen Richtlinien (Council 2006, Rat 2010) die Unterbringung eines Trios Inzuchtmäuse auf 330 cm<sup>2</sup> erlaubt, jedoch ist die Aufzucht von 2 Würfen unter diesen Bedingungen kaum realisierbar, da der Platzbedarf sowohl pro Tier als auch für die Käfigausstattung unterschritten wird. Für jedes weitere Weibchen mit Wurf sind zusätzliche 180 cm<sup>2</sup> zur Verfügung zu stellen. Zucht-Trios sollten deshalb auf mindestens 510 cm<sup>2</sup> gehalten werden. Bei Linien mit bekanntermaßen großen Würfen ist jedoch zu empfehlen auf größere Käfige oder auf eine 1:1 Verpaarung auszuweichen.

## 4.4 Vorratshaltung

Unter dem Aspekt der Tiergerechtigkeit von Haltungsformen werden die obigen Besatzdichten auch für die Vorratshaltung kommerzieller Züchter empfohlen.

Tabelle 2:

In Europa übliche Käfige für die Haltung und Zucht von Mäusen (gem. ETS 123)

Käfigtyp („Euronorm“)	Käfiggrundfläche <sup>1</sup> in cm <sup>2</sup>	max. Anzahl an Mäusen (≥30g KM) <sup>2</sup>
I lang	335	3
II	370	3
I super lang	435	4
Typ 500	500-520	5
II lang	540	5
III	820	8
IV	1820	18

Die Mindestkäfighöhe beträgt 12 cm

<sup>1)</sup> Die Berechnung der Käfiggrundfläche variiert ggf. zwischen den verschiedenen Herstellern, da der Übergang von der schrägen Käfigwand zum ebenen Käfigboden zu verschiedenen Möglichkeiten der Grundflächendefinition führt

<sup>2)</sup> Die Besatzdichte richtet sich nach der Körpermasse (KM) der Mäuse. Bei jungen Tieren sollte dabei stets das Endgewicht der Tiere berücksichtigt werden.

## 5. Individuelle oder Gruppenhaltung

Grundsätzlich sollen Individuen einer sozialen Tierart paarweise oder in Gruppen gehalten werden. Bei Mäusen ist eine geschlechtsspezifisch differenzierte Betrachtung dieser Empfehlung sinnvoll. Während für die Weibchen die allgemeine Empfehlung der Vermeidung von Einzelhaltung uneingeschränkt gilt, stellt bei Mäuseböcken die Einzelhaltung häufig die einzige vertretbare Haltungsform dar. Anders als die Weibchen sind Mäuseböcke im Freiland typischer Weise territorial und im Käfig daher oft unverträglich gegenüber gleichgeschlechtlichen Artgenossen (Bronson 1979, Wolff & Sherman 2007). Der Grad der Unverträglichkeit ist vom Stamm, dem Alter und der Vorerfahrung des Tieres abhängig. Eine harmonische Gruppenhaltung von adulten Mausböcken ist am ehesten zwischen gemeinsam aufgezogenen Tieren bzw. Wurfgeschwistern ohne Zuchterfahrung zu erwarten. Adulte Mäuseböcke müssen getrennt werden, sobald es zu Rangauseinandersetzungen kommt ([http://www.gvsolas.de/fileadmin/user\\_upload/pdf\\_stellungnahme/Stell\\_hal\\_einzelMaus2013.pdf](http://www.gvsolas.de/fileadmin/user_upload/pdf_stellungnahme/Stell_hal_einzelMaus2013.pdf)).

## 6. Enrichment im Mauerkäfig

Unter „Environmental Enrichment“ oder auch nur „Enrichment“ versteht man das Einbringen von geeigneten Materialien und/oder Strukturen in den Käfig, welche natürliches Verhalten fördern und die Befindlichkeit der Tiere verbessern sollen. Damit sollen Defizite der früher üblichen, weitgehend unstrukturierten und damit sehr reizarmen Haltungsform vermieden werden. Gruppenhaltung (soweit möglich; s.o.) und die Gabe von Nestmaterial ggf. kombiniert mit einem zusätzlichen Unterschlupf (falls das Nestmaterial nicht zum Bau eines vollständigen, abgedeckten

Nestes ausreicht), wurden mit Inkrafttreten der ETS 123 Anhang A als quasi unabdingbar für Nager festgelegt, auch während des Experiments (“Bedding and nesting material, and refuges are very important resources for rodents in breeding, stock or under procedure and should be provided unless there is a justification on veterinary or welfare grounds against doing so.”). Die Gabe von Nagehölzchen hat sich bis jetzt weniger durchgesetzt, ist jedoch laut ETS123 für die Standardhaltung zugelassen.

Übersichten über Enrichment-Strategien und ihre Konsequenzen geben Olsson & Dahlborn (2002), Smith & Corrow (2005) sowie Baumans & Van Loo (2013). Enrichment-Maßnahmen bei Labormäusen werden in der ETS123 ausdrücklich empfohlen, wenngleich nicht explizit vorgeschrieben (“To increase environmental complexity the addition of some form of enclosure enrichment is strongly recommended.”). Bedenken gegenüber Enrichment-Maßnahmen gründen sich auf die Erfahrung, dass bestimmte Enrichment-Formen das Wohlbefinden von Mäusen nicht fördern, sondern beeinträchtigen können (Haemisch et al. 1994, Barnard et al. 1996). Es ist notwendig, dass angedachte Enrichment-Strategien gründlich evaluiert werden, bevor sie Eingang in die Haltungspraxis finden. Darüber hinaus gibt es die Besorgnis, dass bestimmte Enrichment-Maßnahmen zu physiologischen oder ethologischen Veränderungen führen und dadurch Versuchsergebnisse beeinflussen könnten (Bayne 2005, Tsai et al. 2006, Hutchinson et al. 2012), bzw. dass die entsprechende Homogenität der Versuchstiere erniedrigt und damit bisherige Standardisierungserfolge konterkariert werden (siehe 6.2). Letzteres würde aufgrund ggf. erhöhter Variabilität der Messparameter zu höheren Tierzahlen führen, um die erzielten Ergebnisse statistisch abzusichern. Die ETS123 trägt diesen Befürchtungen Rechnung („*Consideration should be given to the potential impact of the environmental and social enrichment programmes, on the outcome of scientific studies, in order to avoid the generation of invalid scientific data and consequential animal wastage.*“) Bei genauem Hinsehen muss jedoch konstatiert werden, dass die Datenlage – gerade auch in der Frage erhöhter Variabilität der Messparameter – sehr kontextabhängig ist und durchaus nicht pauschal beantwortet werden kann. Hier besteht dringender Forschungsbedarf.

## 6.1 Enrichment und Wohlbefinden

Unumstritten ist gegenwärtig der positive Effekt von Nestbaumaterialien. Dies lässt sich aus den Ergebnissen zahlreicher Studien ableiten, die weitgehend übereinstimmend berichten, dass sich Mäuse intensiv, d.h. bis zu 20% der täglichen Aktivität freiwillig mit dem Material beschäftigen (van de Weerd et al. 1997). Negative Auswirkungen von Nestmaterial auf physiologische oder ethologische Belastungsindikatoren werden in keiner Studie berichtet (Übersicht bei Olsson & Dahlborn 2002). Nestmaterial stellt damit eine Verbesserung der Haltungsbedingungen dar, indem es den Mäusen das natürliche Nestbauverhalten und die Wahl des Mikroklimas ermöglicht (Gaskill et al. 2012). Weitere dokumentierte Vorteile von Nestmaterial sind z.B. weniger Aggression unter männlichen Mäusen (Van Loo et al. 2003) und weniger Corticosteron im Urin (Van Loo et al. 2004). Gestützt wird diese positive Aussage auch durch Ergebnisse von Präferenzstudien (Blom et al. 1996, van de Weerd et al. 1998).

Nestboxen werden meist gut akzeptiert und gegenüber Käfigen ohne Boxen bevorzugt (Van de Weerd & Baumans 1999, Van de Weerd et al. 2004, van Loo 2005). Ein Motivationsversuch zeigte, dass weibliche BALB/c Mäuse für eine Nestbox stark arbeiteten (Hackbarth et al. 2009), allerdings gibt es bei männlichen Mäusen auch Berichte von erhöhter Aggression, höherem Stress-Level sowie gesteigerter Infektionsanfälligkeit (Barnard et al. 1998, Marashi et al. 2003).

Weniger einheitlich sind die Ergebnisse von Studien zur Auswirkung anderer Käfigeinrichtungen (Übersicht bei Olsson & Dahlborn 2002). Von zwölf Studien berichten vier eine Zunahme des aggressiven Verhaltens. In drei Studien wurden erhöhte Blutkonzentrationen von Corticosteron bzw. eine verminderte Resistenz gegenüber Parasiten gefunden. Nur eine Studie berichtet einen aggressionsmindernden Einfluss der Käfigstrukturierung. Die übrigen Studien kommen zu

unterschiedlichen Ergebnissen. Käfigstrukturen können bei Mäuseböcken zur Aktivierung ihres Territorialverhaltens führen. Dieses resultiert dann in zunehmend aggressiven Interaktionen zwischen den Käfigbewohnern und in einer Destabilisierung der sozialen Dominanzstruktur der Käfiggruppe (Haemisch & Gärtner 1997). Dieser Effekt wird ganz überwiegend zwischen Mäuseböcken beobachtet und hängt von Stamm, Alter und Vorerfahrung der Tiere ab. Die Verwendung von zusätzlichen Käfigstrukturierungen kann deshalb nicht uneingeschränkt empfohlen werden.

Wenn zusätzliche Käfigaccessoires wie Röhren, Häuser oder sonstige, den Käfig strukturierenden Maßnahmen verwendet werden sollen, müssen die Mäuse zu Beginn der Maßnahme engmaschig überwacht werden. Bei weiblichen Mäusen sind dabei negative Entwicklungen weniger häufig zu erwarten als bei Mäuseböcken. Auch auf Stammunterschiede ist hier zu achten (Nevison et al. 1999). Wenn eine konkrete Enrichment-Maßnahme bei einem bestimmten Mausstamm problemlos zu handhaben war, so ist dies nicht selbstverständlich auf andere Stämme zu übertragen. Selbst zwischen verschiedenen gentechnisch veränderten Mauslinien mit gleichem genetischem Hintergrund können Enrichment-Erfahrungen nicht unbedingt übertragen werden. Ohne vorherige Evaluation sollte (bei Gruppenhaltung) im Zweifel darauf verzichtet werden, monopolisierbare (und damit konfliktrichtige) Strukturen wie z.B. sehr kleine Röhren oder Häuschen einzubringen, v.a. bei Mäuseböcken (Gärtner 1999).

Forderungen der Europäischen Richtlinie 2010/63/EU (Rat der Europäischen Union 2010) wie die nach „Räumen hinreichender Komplexität“, dem Zulassen von „Futtersuche“ oder der Förderung von „manipulativem und kognitivem Verhalten“ gehen deutlich über die gegenwärtige Haltungspraxis hinaus.

## **6.2 Enrichment und Standardisierung**

Die Standardhaltung schließt heute die Verwendung von Nestmaterial, mit oder ohne zusätzlichen Unterschlupf, ein (s.o.). Nicht immer klar ist gegenwärtig die Frage, ob zusätzliche Enrichment-Maßnahmen, insbesondere die räumliche Strukturierung des Haltungskäfigs, die physiologische Homogenität der Versuchstiere herabsetzen und damit die Varianz von Messwerten ggf. erhöhen. Die Auswirkungen der verschiedenen Haltungsanreicherungen sind nicht konsistent, sondern unterscheiden sich je nach untersuchtem Merkmal und Versuchsdesign. Außerdem reagieren verschiedene Stämme und Geschlechter manchmal unterschiedlich auf die Haltungsanreicherungen (Tsai et al. 2002, Tsai et al. 2003b, Bayne 2005, Tsai et al. 2006). Einige Studien zeigen, dass die Varianz verschiedener Parameter durch bestimmte Enrichment-Maßnahmen nicht erhöht wird (van de Weerd et al. 2002, Augustsson et al. 2003, Wolfer et al. 2004, Lewejohann et al. 2006). In Studien, in denen Enrichment Maßnahmen in einer Gruppe die differenzierte Nutzung durch einzelne Mäuseböcke erlauben, wurde eine Erhöhung der Varianz festgestellt (Gärtner 1999). Eventuelle Varianzerhöhungen durch Enrichment müssen zu guter Letzt in Relation gesehen werden zur Varianz, wie sie im Forschungsalltag auch unter standardisierten Bedingungen auftritt (Crabbe et al. 1999, Lewejohann et al. 2006), sowie zur Art der wissenschaftlichen Fragestellung. Bei bestimmten Fragestellungen kann eine erhöhte Varianz durchaus wünschenswert sein und die universelle Aussagekraft der Ergebnisse erhöhen (Würbel et al. 2002, Würbel 2007), jedoch müssen die Varianzursachen kontrollierbar sein. In anderen Kontexten wiederum, wie z.B. bei der Chargentestung von Medikamenten, muss eine Erhöhung der Varianz des konkreten Messwertes durch etwaige Enrichment-Maßnahmen möglichst ausgeschlossen sein, um die Anzahl der eingesetzten Tiere nicht erhöhen zu müssen.

### 6.3 Enrichment und Good Laboratory Practice (GLP)

GLP bezieht sich auf einen klar umrissenen, beschränkten Bereich innerhalb der präklinischen Forschung und Entwicklung (Arzneimittel) bzw. der Sicherheitsbewertung vor der Vermarktung (Pestizide, Chemikalien). Aufgrund der großen Tierzahl, die dort zur Erfüllung der gesetzlichen Forderungen zum Einsatz kommt, hat dieser Bereich auch eine erhebliche Bedeutung, was das Wohlbefinden der Tiere betrifft.

GLP befasst sich nicht damit, *was* zu tun ist (das sind die wissenschaftlichen Aspekte einer Studie), sondern *wie* etwas zu tun ist. Das heißt: Tierversuche, die unter GLP durchgeführt werden, müssen gründlich und umfassend beschrieben werden – für wiederkehrende Tätigkeiten durch Standardarbeitsanweisungen (SOPs) und für die studienspezifischen Gegebenheiten durch den entsprechenden Versuchsplan. Materialien, Ausrüstungen und Tiere, die in GLP-regulierten Studien zum Einsatz kommen, sollten zertifiziert, validiert bzw. charakterisiert sein. Daraus folgt, dass GLP einem Enrichment nicht grundsätzlich im Wege steht, jedoch werden die Rahmenbedingungen zur Implementierung von Enrichment in dieser Art Studien durch GLP mitbestimmt.

GLP-Aspekte für das Enrichment lassen sich in Verfahrens- und Material-Aspekte einteilen. Hinsichtlich der Verfahrens-Elemente sollten Enrichment-Prozeduren (a) hinsichtlich ihres Einflusses auf das Ergebnis der Prüfung validiert sein, entweder durch eine gesonderte Validierungsstudie oder auf der Basis einer ausreichenden Menge und Qualität publizierter Ergebnisse, und (b) entweder standardisiert sein und immer auf die gleiche Weise ausgeführt werden und demzufolge in SOPs verankert sein oder in ausreichender Weise im Versuchsplan beschrieben werden.

Hinsichtlich der Materialanforderungen für Enrichment sind die Bedingungen unter GLP identisch mit denen für sonstige Materialien (Einstreu, Futter, Wasser, Desinfektionsmittel etc.). Sie müssen zertifiziert und/oder spezifiziert sein, um sicher zu gehen, dass sie nicht mit dem Versuchsziel (zum Beispiel der Ermittlung einer Dosis, die frei von toxischen Wirkungen ist) interferieren. Das heißt, dass Enrichment-Materialien innerhalb definierter Grenzen immer die gleiche Zusammensetzung aufweisen und keine Fremdstoffe oberhalb eines definierten Limits enthalten sollten. Es ist wünschenswert, wenngleich nicht in jedem Fall eine absolute Voraussetzung, dass dies durch ein Analysenzertifikat für die betreffende Charge des Materials unterstützt wird. Unter diesen Gegebenheiten sind Enrichment und GLP problemlos miteinander kompatibel.

Für Mäuse haben sich Nestbaumaterial, Nagehölzer und Unterschlupfmöglichkeiten aus Karton (z.B. shepherd shack) auch unter GLP-Bedingungen in der Praxis bewährt. Von bestimmten Lieferanten ist das Material mit Analysenzertifikat erhältlich. Eine weitere wichtige Enrichment-Maßnahme, die auch unter GLP-Bedingungen möglich ist, stellt die Gruppenhaltung dar (siehe Kapitel 5). In diesem Fall ist zu beachten, dass sich bei Umstellung von Einzelhaltung auf Gruppenhaltung die Normbereiche bestimmter Parameter (z.B. Körpergewicht und Futtermittelverbrauch) verschieben, was besonders bei Verwendung historischer Kontrolldaten von Bedeutung ist. Dies tangiert zwar nicht GLP, ist aber allgemein bei Toxizitätsstudien zu berücksichtigen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass trotz spezieller Rahmenbedingungen Enrichment auch unter GLP-Bedingungen möglich ist, wobei jedoch die eingesetzten Materialien und die angewandten Verfahren genau charakterisiert sein müssen. Mögliche Auswirkungen auf die Versuchsergebnisse müssen berücksichtigt werden.

### 6.4 Enrichment und Stereotypien

Die weitgehend synonymen Begriffe 'Stereotypien' oder 'ARBs' (abnormal repetitive behaviour) bezeichnen exzessiv wiederholte invariable Bewegungen ohne erkennbare Funktion (siehe Garner 2005). In Maushaltungen treten diese z.B. in Form von Gitternagen, Kreisrennen oder Hochspringen in einer Käfigecke auf. Das Auftreten von ARBs variiert stark zwischen Mausstämmen. Die Literatur zu ARBs von Labormäusen unter Enrichment-Bedingungen ist sehr

spärlich. Bei einem stark zu ARBs neigendem Mausstamm führte ein Enrichment in Form von Papprollen zur Reduktion derselben (Würbel et al. 1996). Stammspezifische Auswirkungen stellte Nevison et al. (1999) fest. Es ist anzunehmen, dass bereits einfache Strukturen wie Nestmaterial ARBs bei Labormäusen in der Regel reduzieren. Gezeigt wurde dies für Wühlmäuse (Cooper et al. 1996) oder Weißfußmäuse (deer mice, Powell et al. 2000, Turner & Lewis 2003). Die Einflüsse von Stereotypen bzw. ARBs auf die Ergebnisse wissenschaftlicher Studien an Labornagern behandelt Garner (2005).

## **7. Haltungspraxis**

### **7.1 Beleuchtung**

#### **7.1.1 Hell-Dunkel-Rhythmus**

Metabolische, endokrine, immunologische und Verhaltensparameter unterliegen einer circadianen Rhythmik. Sie wird vom Hell-Dunkel-Rhythmus im Tierraum synchronisiert. Ein konstantes Lichtregime mit einer Hellphase zwischen 10 und 14 Stunden ist essentiell für die Aufrechterhaltung biologischer Rhythmen. Die Hauptaktivitätszeit der Mäuse liegt in der natürlichen Dämmerungszeit, bevorzugt am Beginn der Dunkelphase. Wesentlich ist, dass ein auch nur kurzfristiges Einschalten von weißem Licht während der Dunkelphase vermieden wird. Wenn während der Dunkelphase Arbeitslicht erforderlich ist, kommt dafür nur Licht in Frage, das von Mäusen nicht wahrgenommen wird. Mäuse verfügen über zwei Sehpigment-Typen mit Absorptionsmaxima bei 360 nm (UV) und 510 nm (grün) Wellenlänge. Sie nehmen den langwelligen (>580 nm) roten Bereich unseres Lichtspektrums nicht wahr. Langwelliges Licht beeinflusst deshalb die circadiane Rhythmik der Mäuse nicht. Als Arbeitslicht während der Dunkelphasen kommen deshalb rotes Licht (die verwendeten Leuchtmittel sollten keine Wellenlängen < 580 nm emittieren) oder evtl. Natrium-Dampflampen (emittieren ausschließlich Licht der Wellenlänge 589 nm) in Betracht. Zur Verwendung der Natrium-Dampflampen liegt eine Publikation (McLennan & Taylor-Jeffs 2004) aber kaum praktische Erfahrung vor. Ein erwägenswerter Vorteil der Natrium-Dampflampen ist ihre deutlich höhere Helligkeit für das menschliche Auge, verglichen mit Rotlicht. Damit lässt sich der Beginn der Aktivitätsphase der Mäuse (Umschalten von Tageslicht auf ND-Licht) in die üblichen Arbeitszeiten von Tierpflegern und Wissenschaftlern verlegen, wodurch Beobachtungen und Messungen während der Aktivitätsphasen der Mäuse erleichtert oder erst ermöglicht werden.

Es ist sehr zu empfehlen, die Lichtschaltungen so auszulegen, dass während der Dunkelphase (außer im Notfall) nur rotes Licht eingeschaltet werden kann. Auch muss die Funktion der Zeitschaltuhren regelmäßig überprüft werden. Ein durch Fehlfunktionen oder Fehlbedienung verursachtes Dauerlicht kann sonst nur zufällig entdeckt werden, da die Umschaltzeitpunkte in der Regel außerhalb der üblichen Arbeitszeiten liegen. Fenster zu den Tierräumen können gegen Einfall von weißem Licht auf Fluren durch das Anbringen von roter Folie geschützt werden. Dämmerungsphasen bringen nach aktuellem Kenntnisstand keine Vorteile, erschweren aber die exakte Bestimmung der Lichtwechsel-Zeitpunkte. Während der Dunkelphase ist Rest- oder Dämmerlicht zu vermeiden (Fonken 2013). Als Notbeleuchtung kann Rotlicht verwendet werden, außerhalb des sichtbaren Spektrums der Mäuse.

#### **7.1.2 Lichtintensität**

Hohe Lichtintensitäten verursachen Retinadegenerationen bei dunkelaktiven Nagern und in besonderem Maße bei Albino-Tieren (Bellhorn 1980, LaVail 1987). Die Lichtintensität der Beleuchtung im Tierraum sollte deshalb 200 Lux nicht überschreiten. Höhere, für das Arbeiten im

Tierraum notwendige Lichtintensitäten sollten 400 Lux nicht überschreiten und auf die Anwesenheitszeiten von Personal im Tierraum beschränkt bleiben. Auch bei korrekter Raumbeleuchtung sind die Lichtintensitäten in den Käfigen sehr heterogen, sie sind in der Regel deutlich niedriger als im freien Raum und abhängig von der Position des Käfigs im Gestell, der Messposition im Käfig sowie dem Käfigmaterial. Besonders lichtexponiert sind offene Käfige in den obersten Positionen (Greenman et al. 1982). Diese Käfige müssen gegenüber der Deckenbeleuchtung abgeschirmt und sollten nicht mit Albinotieren belegt werden. Minimalwerte für die Lichtintensität können nicht angegeben werden, Mäuse reproduzieren auch bei niedriger Intensität (Donnelly 1993). Die Möglichkeit, durch die Wahl des entsprechenden Käfigmaterials auf die Lichtintensität im Käfig Einfluss zu nehmen, wurde bereits im Kapitel 3.1. beschrieben.

## **7.2 Raumklima und Mikroklima in den Käfigen**

### **7.2.1 Temperatur im Raum**

Die Temperatur im Tierraum sollte zwischen 20°C und 24°C liegen. Die von Mäusen bevorzugten Temperaturen (29°C in der Ruhezeit, 25°C in der Aktivitätszeit) liegen wesentlich darüber (Gordon et al. 1998, Gaskill et al. 2009, 2012 & 2013). Auch unter diesem Aspekt wird deutlich, wie wichtig die Zugabe von ausreichend Nestmaterial ist (in Mausnestern werden weit über 30°C erreicht, eigene Messungen) und, soweit möglich, die Haltung von Mäusen in Gruppen. Zu berücksichtigen ist, dass die Temperatur im Käfig bis zu 6°C höher liegen kann als die Raumtemperatur. Für haarlose Mäuse sollte die Raumtemperatur zwischen 24°C und 26°C liegen und ausreichend Nestmaterial verfügbar sein. Nestmaterial oder Nestboxen bieten den Mäusen die Möglichkeit der Wahl zwischen verschiedenen Mikroklimata. Die genannten Sollwerte für die Raumtemperatur sind unabhängig von der jeweiligen Haltungsform (vgl. Abschn. 3.2.1) stets über die Raumklimaanlage sicherzustellen. Werden zusätzliche Klimaaggregate oder Luftbefeuchter verwendet, sollten diese auf die Raumluft einwirken und nicht den IVC-Gebläseeinheiten oder THS vorgeschaltet werden. Damit können Störungen bei der Raumluftversorgung abgepuffert werden und wirken sich nicht auf das Käfigklima aus.

### **7.2.2 Luftfeuchte im Raum**

Die relative Luftfeuchte im Tierraum sollte zwischen 45% und 65% liegen. Dabei sind temporäre Unterschreitungen bis auf 40% und Überschreitungen auf bis auf 100% tolerierbar. Dauerhafte Unterschreitungen dieses Bereichs fördert die Bildung von Schwanznekrosen (ringtail), auch wenn Mäuse hierfür weniger anfällig sind als Ratten (Njaa et al. 1957, Flynn 1967). Dauerhafte Überschreitungen steigern die Produktion von Ammoniak. Abweichungen in beiden Richtungen können die Mortalität von Jungtieren vor dem Absetzen erhöhen. Aus den gleichen Gründen wie im Abschnitt 7.2.1 zur Temperatur dargelegt, muss die Luftfeuchte für den gesamten Raum von der Klimaanlage sichergestellt werden, um eine dezentrale Ent- oder Nachbefeuchtung zu vermeiden.

### **7.2.3 Luftwechselraten im Raum**

Grundsätzlich sollte in Tierhaltungsräumen ein 15-20facher Luftwechsel pro Stunde gewährleistet sein, Zugluft ist dabei zu vermeiden. Wenn IVC-Systeme verwendet werden und die Käfigabluft direkt in die Raumabluftkanäle geleitet wird, kann ein zehnfacher Luftwechsel ausreichend sein. Die Abfuhr der Wärmelast muss gewährleistet sein.

Der Anschluss der Abluft aus den IVC-Systemen an die Raumabluft hat über einen Zugunterbrecher zu erfolgen, damit bei Druckschwankungen im bauseitigen Abluftsystem die gesamte Raumluft als Puffer zur Verfügung steht und so eine direkte Einwirkung auf die Druckverhältnisse im Käfig vermieden wird.

## 7.2.4 Mikroklima in den Käfigen

Die Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) Entwicklung in den Käfigen ist abhängig von Besatzdichte, Geschlecht, Einstreumenge und Ventilation. Die Ventilation ist von besonderer Bedeutung, da sie im Wesentlichen die Feuchte bestimmt und diese für die Entstehung von Ammoniak maßgeblich ist. Die Ventilation in Käfigen mit statischen Filterhauben ist stark eingeschränkt. Sie sollten daher nicht ohne zusätzliche Unterstützung der Ventilation, z.B. durch Unterbringung in einem THS mit Luftwechselraten um 50fach/Stunde, benutzt werden.

## 7.2.5 Belüftung von IVC-Käfigen

IVC-Käfige können grundsätzlich auf zwei verschiedene Arten mit Luft versorgt werden: Entweder dezentral durch Gebläseeinheiten, die sich im Tierraum befinden und Raumluft ansaugen, oder zentral durch eine separate gebäudeseitige Klimaanlage außerhalb des Tierraumes, die unabhängig von der Klimatisierung der Räume die Luftversorgung der IVC-Käfige übernimmt.

Bei der dezentralen Lösung stammen die Komponenten des IVC Systems, also Racks, Käfige und Gebläseeinheiten, regelmäßig vom selben Hersteller. Für den Anwender besteht daher kein Schnittstellenproblem. Solche Systeme sind sehr flexibel einsetzbar. Sie erlauben, in der Regel ohne zusätzlichen Aufwand, auf raum- oder nutzungsbedingt geänderte Anforderungsprofile zu reagieren. Mögliche Fehlfunktionen des Raumluftsystems wirken sich nicht unmittelbar auf das Käfigklima aus, da zunächst der gesamte Haltungsraum die Auswirkungen abpuffert - dadurch gewinnt der Betreiber Zeit für Gegenmaßnahmen. Die Luft der Gebläseeinheit wird aus dem Raum angesogen.

Bei der zentralen Lösung werden die Haltungskäfige von einer zentralen Lüftungseinheit außerhalb des Haltungsraumes mit konditionierter Luft versorgt. Haltungsraum und Haltungskäfige können technisch getrennt versorgt werden, es findet jedoch ein Wärmeaustausch zwischen Käfig- und Raumluft statt. Die zentrale Lösung erfordert zwingend Schnittstellen zwischen der gebäudeseitigen Klimaanlage und den Haltungskäfigen. Installation, Einregulierung und Pflege der Schnittstelle erfordern die Verfügbarkeit spezieller technischer Expertise. Mögliche Fehlfunktionen der Käfigbelüftung wirken sich unmittelbar auf das Klima im Käfig aus. Die technische Beherrschbarkeit dieser Schnittstellenproblematik wurde in den letzten Jahren spürbar verbessert.

## 7.3 Lärm

Mäuse sind sensitiv gegenüber Ultraschall. Sie nehmen Schall zwischen 500 Hz und 120 kHz wahr. Ihr Hörbereich liegt damit über dem des Menschen (20 Hz bis 20 kHz). Sensitivitätsmaxima liegen bei 15-20 kHz und 50 kHz, also ebenfalls weit über denen des Menschen (3-4 bzw. 12 kHz) (Ehret 1983, 1989). Mäuse kommunizieren auch im für Menschen nicht hörbaren Ultraschallbereich z.B. während sexueller Interaktionen sowie in akuter Angst (Gourbal et al. 2004, Holy & Guo 2005). Hohe Geräuschpegel, Ultraschall und plötzliche hohe Geräusche sind zu vermeiden (zur Orientierung: bei Menschen treten ab 85 dB Dauerbeschallung Gesundheitsschäden auf). Während der Arbeitszeiten können in Tierräumen erhebliche Schalldrücke entstehen (Sales et al. 1988a, Milligan et al. 1993, Voipio et al. 2006). Generell sollte daher auf Lärmvermeidung geachtet werden. Technische Einrichtungen wie Motore, Spülmaschinen usw. im Tierhaltungsbereich sollten auf Ultraschall-Emissionen überprüft werden (Sales et al. 1988b, Voipio et al. 2010). Ultraschall-Reinigungs-Geräte dürfen in Tierräumen nicht verwendet werden. Tiefe Brummtöne unter 500 Hz, wie sie z.T. von Belüftungsmotoren verursacht werden, sind dagegen für Mäuse nicht hörbar.

Negative Effekte moderater Hintergrundmusik sind nicht bekannt. Nager bevorzugen Stille (Krohn 2011) jedoch sind auch positive Effekte auf Immunsystem, Stressbewältigung, Tumorabwehr und Lernleistung durch Musik nachgewiesen (Núñez 2002, Sutoo 2004, Angelucci 2007, Li 2010).



## 7.4 Umsetzen

Saubere und trockene Käfigeinstreu ist für die Reduktion von Schadstoffen und Erregern und damit für die Gesundheit der Mäuse unerlässlich (Reeb-Whitaker et al. 2001). Ein wöchentlicher Einstreuwechsel ist bei Haltung von Mäusen in offenen Käfigen in aller Regel ausreichend. Aufgrund der besseren Lüftungsverhältnisse in IVC-Käfigen sind hier aus rein hygienischer Perspektive auch längere Reinigungsintervalle akzeptabel (Rosenbaum et al. 2009).

Der Wechsel von Käfig und Käfigeinstreu bedingt ein Eliminieren aller vorhandenen Duftmarken im Käfig. Diese müssen nach dem Einstreuwechsel neu gesetzt werden. In dieser Phase sind gehäuft aggressive Interaktionen im Käfig zu beobachten. Wenn ein Teil der benutzten Einstreu aus der vorherigen Nestecke in den sauberen Käfig transferiert wird, kann dies die aggressiven Auseinandersetzungen verringern (van Loo et al. 2000, 2004). Mäuse unmittelbar vor dem Wurftermin und bis zum 5. Lebenstag sollten nicht umgesetzt werden.

## 7.5 Mäuse und Ratten in einem Raum

Obwohl die räumliche Nähe von Ratten experimentell zur Erzeugung von Stresszuständen bei der Maus genutzt werden kann (Hayley et al. 2001, Strelakova et al. 2005), wird die gemeinsame Haltung der beiden Spezies vielerorts ohne ins Auge fallende Probleme praktiziert. Die Bedingungen, unter denen die gemeinsame Haltung mit Ratten für Mäuse belastend sein kann, sind bisher nur wenig untersucht. Die gemeinsame Haltung dieser beiden Spezies in einem Raum wird teilweise als problematisch beurteilt (Calvo-Torrent et al. 1999). Eine aktuelle Studie zeigt dagegen keine Effekte auf stressensitive Parameter wie Herzschlag oder Glukokorticoide-Konzentrationen unter üblichen Haltungsbedingungen (Meijer et al. 2009). Inwieweit diese Aussage verallgemeinert werden kann, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Insbesondere Adaptationszeiten und Vorerfahrungen können hier von Bedeutung sein. Um Belastungen und Effekte auf Messparameter sicher auszuschließen, ist eine getrennte Haltung der beiden Spezies bis auf weiteres angeraten.

## 7.6 Einstreu- und Nestmaterial

Die Einstreu ist das Material, mit dem die Tiere am meisten Kontakt haben. Sie bindet die Feuchtigkeit aus Harn und Kot und hält damit die Tiere und den Käfig sauber. Sie vermindert die Entstehung von Schadgasen wie Ammoniak. Einstreu dient, wenn kein geeigneteres Material vorhanden ist, auch zum Nestbau. Es ist stets mindestens so viel Einstreu zur Verfügung zu stellen, dass die anfallende Feuchtigkeit gebunden und eine Nestmulde angelegt werden kann.

Einstreu wird mit einer Feuchtigkeit unter 12% geliefert, so dass Pilze sich nicht entwickeln können. Sie ist damit sehr gut saugfähig, ohne dass neugeborene Tiere über die Haut dehydriert werden könnten. Der Staubanteil der Einstreu bestimmt wesentlich die Allergenbelastung des Personals, stellt ein mögliches karzinogenes Potential für die Mäuse dar und bestimmt maßgeblich den Verschmutzungsgrad von Geräten. Harz und daraus entstehende ätherische Öle können den Leberstoffwechsel beeinflussen (Cunliffe-Beamer et al. 1981) und Polycarbonatkäfige bei der Sterilisation zu trüben. Einstreu sollte daher sterilisierbar, staub- und harzarm sein (Wirth 1983). Die Einstreu sollte in aller Regel einmal pro Woche gewechselt werden. Bei den heute zulässigen Besatzdichten ist ein zweimaliger Wechsel - außer bei diabetischen Tieren - meist nicht erforderlich. Wo immer möglich, sollten Füllung und insbesondere die Leerung der Käfige außerhalb der Tierräume erfolgen.

Die früher verwendeten Substrate wie Torfmoos, Stroh, Sägespäne oder Hobelspäne enthalten zu viel Staub oder sie sind zu wenig standardisiert, d.h. sie stammen von verschiedenen Holzarten und sind nicht sicher frei von Holzschutzmitteln.

Üblicherweise wird die Einstreu heute aus dem Stammholz (ohne Rinde) von Fichten, Tannen oder Pappeln (Hybridpappel, Zitterpappel bzw. Espe) hergestellt. Für die Mäuse ist weniger die Art des

Holzes als die Struktur der Partikel von Bedeutung. Weiche Holzspäne und grobfaserige Materialien werden klar bevorzugt gegenüber granulierten, kleineren, < 3 mm großen Partikeln (Kirchner et al. 2011 & 2012), die jedoch wegen der größeren Holzmenge bei gleichem Volumen mehr an Feuchtigkeit, Ammoniak und Geruchsstoffen binden können.

Holzeinstreu kann in vitro zytotoxische Effekte und eine Induktion hepatischer mikrosomaler Enzyme (HME) auslösen. Diese ist bei Nadelhölzern, insbesondere bei Kiefernholz, stärker als bei Laubhölzern (Vesell et al. 1967 Törrönen 1989; Pelkonen & Hanninen 1997). Ebenso verhält es sich mit der Zytotoxizität, wobei Espenholz die geringste Toxizität aufweist (Törrönen 1989; Pelkonen u. Hanninen 1997). Die genaue Aufnahmeroute für HME-Inducer aus der Einstreu ist noch nicht bekannt. Möglich sind Fressen von Einstreu, Hautkontakt oder Dämpfe. Durch Autoklavieren kann die Menge an HME-Inducern in der Einstreu signifikant herabsetzen werden, wodurch die potentiellen Einflüsse auf die Ergebnisse der physiologischen, toxikologischen und pharmakologischen Studien stark reduziert werden können.

Nach ETS 123 und Richtlinie 2010/63/EU ist die Gabe von Nestmaterial eine Minimal-Anforderung. Nestmaterial stellt das wichtigste Element in der Käfigausgestaltung für Mäuse überhaupt dar. Sie leisten intensive Arbeit im Zernagen vorhandener oder auch im Zusammentragen unterschiedlicher Materialien. Nicht nur Weibchen, sondern auch Böcke beginnen kurz nach dem Umsetzen mit dem erneuten Nestbau. Sie befinden sich meist dort, wo die Mäuse auch ohne Nest geschlafen haben. Häufig sind dies relativ dunkle Stellen wie zum Beispiel unter der Futterraufe. Hier ist zu beachten, dass Nester unter der Raufe nicht zu groß geraten dürfen, da sie sonst den Flaschennippel berühren und die Flasche zum Auslaufen bringen könnten.

Offensichtlich haben die Nester nicht nur eine Funktion als Schutz für die Jungen, sondern auch für deren Temperaturregulierung. Bei niedrigen Temperaturen ist das Nestbauverhalten deutlich ausgeprägter als bei hohen (Gaskill et al. 2013). Nester bieten darüber hinaus auch Schutz vor Licht und vor aggressiven Artgenossen (van Loo et al. 2004). Nester reduzieren die Jungtierversuche (Tsai et al. 2003a), können jedoch bei nachlässigem Umsetzen dazu führen, dass Mäuse übersehen werden. Das Umsetzen ganzer Nester führt sicher auch zu einem Transferieren der Duftmarken, was vermutlich Stress mindert, aber noch nicht untersucht ist. Wichtig ist, dass sich ein mehr oder weniger geschlossenes Nest bauen lässt.

Wegen seiner Eigenschaft als Nestbaumaterial bevorzugen Mäuse Papier als Einstreu. Papier feuchtet jedoch rasch durch und absorbiert schlechter als Holzpartikel. Es ist deshalb nahe liegend, den Mäusen eine Einstreu auf Holzbasis zu geben und diese durch Zellstoff, Papierhandtücher oder Ähnliches zum Nestbau zu ergänzen (Van de Weerd et al. 1997).

## **7.7 Fütterung und Tränke**

Detaillierte Angaben zur Ernährung von Labormäusen bietet das Heft: „Besonderheiten von Nährstoffansprüchen von Mäusen im Tierversuch“ des Ausschusses für Ernährung der GV-SOLAS: [http://www.gv-solas.de/fileadmin/user\\_upload/pdf\\_publication/ern\\_ernaehrung\\_maus.pdf](http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publication/ern_ernaehrung_maus.pdf)

## **8. Gentechnisch veränderte Mäuse**

Die Haltungsempfehlungen gelten für gentechnisch veränderte Organismen (GVO) und konventionelle Stämme in gleicher Masse. GVO-Mäuse stellen jedoch häufig besondere Anforderungen an die tierpflegerische Betreuung, weil gegebenenfalls immunologische, lokomotorische und ernährungsphysiologische Defizite durch pflegerische Maßnahmen kompensiert werden müssen.

Gentechnisch veränderte Mäuse dürfen nur in solchen Einheiten gehalten werden, die von der lokalen Genehmigungsbehörde als gentechnische Anlage mindestens der Sicherheitsstufe S1

zugelassen sind. Die wesentlichen Voraussetzungen für den Betrieb einer S1-Maushaltung sind in der Gentechnik-Sicherheitsverordnung und der TRBA 120 für Tierräume nachzulesen.

Der Genotyp jeder genetisch veränderten Mauslinie muss bekannt sein. Solange der Genotyp einzelner Tiere, z.B. in der Aufzuchtphase (noch) nicht bestimmt ist, sind diese wie genetisch veränderte zu behandeln. Die Bestimmung des Genotyps erfordert oft eine Biopsienahme und damit einen Eingriff am Tier, der nur von dafür berechtigten Personen durchgeführt werden darf. Diese Arbeit kann vom tierpflegerischen Personal oder vom wissenschaftlichen Nutzer der entsprechenden Mauslinie durchgeführt werden. Aus Tierschutzgründen und Gründen der allgemeinen und hygienischen Disziplin in der Tierhaltung ist es notwendig, alle Arbeiten am Tier von geschultem Fachpersonal durchführen zu lassen. Dies erfordert auch eine regelmäßige und zweifelsfreie Kommunikation zwischen Wissenschaftler und Tierpfleger. Bei umfangreicheren Beständen an Linien gentechnisch veränderter Mäuse ist deshalb eine zentrale Auftragsabwicklung und Dokumentation der Mausbestände notwendig. Entsprechende Programme und Datenbanken sind am Markt erhältlich.

Desweiteren sei auf die Papiere des Ausschusses für Genetik der GV-SOLAS verwiesen:

<http://www.gv-solas.de/index.php?id=36>

## 9. Ausblick

Seit dem Einsatz von Mäusen als Modellorganismen in spezifischen wissenschaftlichen Disziplinen gewinnt deren systematische Weiterzucht und die damit verbundene, z.T. ausgedehnte Haltung der Tiere mehr und mehr an Bedeutung.

Während hierbei entsprechende artifizielle Bedingungen, z.B. in der Zucht, schon Auswirkungen auf das mütterliche Umfeld und damit verbunden auf das Verhalten der Jungtiere ausüben können, werden spezifische Modifikationen der Umgebungsfaktoren häufig gezielt ins experimentelle Design von verhaltensbiologischen Studien impliziert. Hierbei unterstreichen die profunden Auswirkungen von Umweltbedingungen – nicht nur bei der Betrachtung der epigenetischen Effekte – wie wichtig es ist, mögliche Einflussgrößen dieser Art zu eruieren und ggf. in die Interpretation von tierexperimentell gewonnenen Daten mit einzubeziehen.

Mit heutigen Analyseverfahren eröffnen sich Möglichkeiten, die Ursache von Erkrankungen, die ursprünglich auf eine limitierte Anzahl von Auslösern zurückgeführt wurde, auch auf multifaktorieller Ebene zu untersuchen. Gerade diese Erkenntnis sollte speziell beim Arbeiten mit Mausmodellen Anwendung finden, da eine fehlende Berücksichtigung von ggf. fundamentalen Größen im Experiment zu Artefakten in den entsprechenden Studien führen könnte.

Ebenso wie mikrobiologische Störgrößen Risikofaktoren für das Arbeiten mit Tierstudien darstellen, gilt dies gleichermaßen für bestimmte umwelt-assoziierte Bedingungen in der Haltung von Mäusen.

Da der verwendete Mausstamm bzw. das verwendete Geschlecht eine essentielle Angabe im Versuchsprotokoll sein sollte, erscheint es ebenso wesentlich, besondere Bedingungen bei der Haltung der Tiere zu beschreiben.

So sollten Umgebungsfaktoren, sowohl sozialer Natur (z.B. Gruppenkonstellation, Zuchtbedingungen) als auch im strukturellen Kontext (z.B. Käfiganreicherung, Platzangebot) unbedingt in das experimentelle Design und die Planung eines tierexperimentellen Ansatzes einfließen. Darüber hinaus erscheint es, besonders im Zusammenhang mit stress-assoziierten Fragestellungen, empfehlenswert, eine gezielte studien-bezogene Evaluation der Umgebungsfaktoren vorzunehmen, die in Form von Vorexperimenten oder auch einer systematischen Literaturrecherche gestaltet werden kann.

Bei gegebenen Bedingungen oder Bezug der Tiere von einem kommerziellen Züchter ist in jedem Fall zu reflektieren, inwieweit die entsprechende Haltung dort bzw. der Transport die Ergebnisse

wissenschaftlicher Studien beeinflussen könnten. Sicher ist dies je nach Fragestellung in seiner Relevanz abgestuft, dennoch sind auch sekundär auftretende Artefaktursachen bedingt durch Stress oder gemindertes Wohlbefinden nicht zu unterschätzen.

Es empfiehlt sich daher, die Haltungsbedingungen der im Experiment eingesetzten Tiere sowohl im Sinne des Tierschutzgedankens als auch im Bezug auf die Validität der Versuchsergebnisse entsprechend zu berücksichtigen und der Bedeutung dieser Faktoren eine angemessene Beachtung zukommen zu lassen!

## 10. Literatur

Angelucci F, Fiore M, Ricci E, Padua L, Sabino A, Tonali PA (2007) Investigating the neurobiology of music: brain-derived neurotrophic factor modulation in the hippocampus of young adult mice. *Behav Pharmacol. Sep*;18(5-6):491-6.

Augustsson H, van de Weerd HA, Kruitwagen CL, Baumans V (2003) Effect of enrichment on variation and results in the light/dark test. *Lab Anim* 37(4): 328-340.

Barnard CJ, Behnke JM, Sewell J (1996) Environmental enrichment, immunocompetence, and resistance to *Babesia microti* in male mice. *Physiol Behav* 60: 1223-1231.

Barnard CJ, Behnke JM, Gage AR, Brown H, Smithurst PR (1998) Maternal effects on the development of social rank and immunity trade-offs in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265, 2087–2093.

Baumans V, Schlingmann F, Vonck M, van Lith HA (2002) Individually ventilated cages: beneficial for mice and men? *Contemp Top Lab Anim Sci* 41: 13-19.

Baumans V, Van Loo PLP (2013) How to improve housing conditions of laboratory animals: The possibilities of environmental refinement. *Vet J* 195:24-32. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023312004212>

Bayne (2005) Potential for unintended consequences of environmental enrichment for laboratory animals and research results. *ILAR* 46: 129-139.

Beck JA, Lloyd S, Hafezparast M, Lennon-Pierce M, Eppig JT, Festing MF, Fisher EM (2000) Genealogies of mouse inbred strains. *Nat Genet* 24: 23-25.

Bellhorn RW (1980) Lighting in the animal environment. *Lab Anim Sci* 30: 440-450.

Blom HJ, Van Tintelen G, Van Vorstenbosch CJ, Baumans V, Beynen AC (1996) Preferences of mice and rats for types of bedding material. *Lab Anim* 30: 234-244.

Bronson FH (1979) The reproductive ecology of the house mouse. *Q Rev Biol* 54: 265–299

Calvo-Torrent A, Brain PF, Martinez M (1999) Effect of predatory stress on sucrose intake and behavior on the plus-maze in male mice. *Physiol Behav* 67: 189-196.

Clough G, Wallace J, Gamble MR et al (1995): A positive, individually ventilated caging system: a local barrier system to protect both animals and personnel. *Lab Anim* 29: 139-151

Compton SR, Homberger FR, MacArthur CJ (2004a) Microbiological monitoring in individually ventilated cage systems. *Lab Anim (NY)* 33: 36-41.

Compton SR, Homberger FR, Paturzo FX, Clark JM (2004b) Efficacy of three microbiological monitoring methods in a ventilated cage rack. *Comp Med*. 54: 382-392.

Cooper JJ, Odberg F, Nicol CJ (1996) Limitations on the effectiveness of environmental improvement in reducing stereotypic behaviour in bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Appl Ani Behav Sci* 48: 237-248.

Council of Europe (2006) European convention 123, appendix A revised 2006, European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, guidelines for accommodation and care of animals. <http://conventions.coe.int/Treaty/EN/Treaties/PDF/123-Arev.pdf>  
Mit Annahmeerklärung vom 15.6.2006, Bundesgesetzblatt 2007, II, 37, Bonn 26.11.2007

Crabbe JC, Wahlsten D, Dudek BC (1999) Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science* 284: 1670-1672.

Cunliffe-Beamer T, Freeman LC, Myers DD. (1981) Barbiturate sleeptime in mice exposed to autoclaved or unautoclaved wood beddings. *Lab Anim Sci* 31(6): 672-5.

David JM et al. (2013) Individually Ventilated Cages Impose Cold Stress on Laboratory Mice: A Source of Systemic Experimental Variability. *JAALAS* 52.6: 738-744.

DFG: [http://www.dfg.de/service/presse/pressemitteilungen/2005/pressemitteilung\\_nr\\_46/index.html](http://www.dfg.de/service/presse/pressemitteilungen/2005/pressemitteilung_nr_46/index.html)

Donnelly H, Saibaba P (1993) Light intensity and the oestrous cycle in albino and normally pigmented mice. *Lab Anim* 27: 385-390

Ehret G (1983) Psychophysics. In Williot JF, *The auditory psychobiology of the mouse*. Charles C Thomas Publisher LTD, Springfield IL, p. 13-56.

Ehret G. (1989) Hearing in the Mouse. In Doolong RJ and Hulse SH (ed.) *The Comparative Psychology of Audition: Perceiving complex sounds*. Psychology Press, Hilsdale. p. 3-32.

Festing MF, Lovell DP (1981) Domestication and Development of the Mouse as a Laboratory Animal. Berry, A. J. *Biology of the House Mouse. Symp.zool.Soc.Lond* 47: 43-62.

Flynn RJ (1967) Notes on ringtail in rats. *Proceedings of International Symposium of the International Committee on Laboratory Animals: Husbandry of laboratory animals*. Aca Press, London. p. 285-288.

Fonken LK et al (2013) Dim light at night disrupts molecular circadian rhythms and increases body weight. *J Biol Rhythms*, 28(4): 262-271

Garner JP (2005) Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes, *ILAR* 46: 106-117.

Gärtner K (1999) Cage enrichment occasionally increases deviation of quantitative traits., *Proceedings of the International Joint Meeting 12th ICLAS General Assembly and Conference, 7th FELASA Symposium* 17: 207-210.

Gaskill BN, Rohr SA, Pajor EA, Lucas JR, Garner JP (2009) Some like it hot: Mouse temperature preferences in laboratory housing. *Appl Ani Behav Sci* 116(2-4): 279-85.

Gaskill BN, Gordon CJ, Pajor EA, Lucas JR, Davis JK, Garner JP (2012) Heat or insulation: behavioral titration of mouse preference for warmth or access to nest. *PLoS One* 7, p. e32799  
<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0032799>

Gaskill BN, Gordon, CJ, Pajord EA, Lucase JR, Davisg JK, Garnerf JP (2013) Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology. *Physiol Behav* 110-111:87-95

- Gordon CJ, Becker P, Ali JS (1998) Behavioral thermoregulatory responses of single- and group-housed mice. *Physiol Behav* 65(2): 255-62.
- Gourbal BEF, Barthelemy M, Petit G, Gabrion C (2004) Spectrographic analysis of the ultrasonic vocalization of adult male and female BALB/c mice. *Naturwissenschaften* 91: 381-5.
- Greenman DL, Bryant P, Kodell RL, Sheldon W (1982) Influence of cage shelf level on retinal atrophy in mice *Lab Anim Sci* 32: 353-356.
- Guillot PV, Chapouthier G (1996) Intermale aggression and dark/light preference in ten inbred mouse strains, *Behav Brain Res* 77: 211-213.
- GV-SOLAS (2013) Stellungnahme aus dem Ausschuss für Tiergerechte Labortierhaltung zur Einzelhaltung von Mäusen zu Versuchszwecke.  
[http://www.gv-solas.de/assets/files/PDFs/pdf\\_STELLUNGNAHME/Stell\\_hal\\_einzelMaus2013.pdf](http://www.gv-solas.de/assets/files/PDFs/pdf_STELLUNGNAHME/Stell_hal_einzelMaus2013.pdf).
- Hackbarth H, Schraepfer A, Schmoock M, Tsai P (2009) Environmental enrichment: needs or luxury? In Bernadi C and MR G (eds.) *Proceeding of the tenth FELASA symposium and the XIV ICLAS general assembly & conference*. Royal Society of Medicine Press: London. p. 38-44.
- Haemisch A, Voss T, Gartner K (1994) Effects of environmental enrichment on aggressive behavior, dominance hierarchies, and endocrine states in male DBA/2J mice. *Physiol Behav* 56: 1041-1048.
- Haemisch A, Gartner K (1997) Effects of cage enrichment on territorial aggression and stress physiology in male laboratory mice. *Acta Physiol Scand Suppl* 640: 73-76
- Hayley S, Borowski T, Merali Z, Anisman H (2001) Central monoamine activity in genetically distinct strains of mice following a psychogenic stressor: effects of predator exposure. *Brain Res* 892: 293-300
- Hoglund AU, Renstrom A (2001) Evaluation of individually ventilated cage systems for laboratory rodents: cage environment and animal health aspects. *Lab Anim* 35: 51-57.
- Holy TE, Guo Z (2005) Ultrasonic songs of male mice. *PLoS Biol* 3(12): e386.  
<http://www.plosbiology.org/article/info:doi/10.1371/journal.pbio.0030386>
- Hutchinson EK, Avery AC, Vandewoude S (2012) Environmental enrichment during rearing alters corticosterone levels, thymocyte numbers, and aggression in female BALB/c mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* Jan;51(1):18-24.
- Jennings M, Batchelor GR, Brain PF et al. (1998) Refining rodent husbandry: the mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party. *Lab Anim* 32: 233-259.
- Kirchner J, Hackbarth H, Stelzer HD, Tsai PP (2011) Preference of group-housed female laboratory mice for different bedding materials. *Proceedings of a Joint FELASA/Scand-LAS Symposium* p.120-24.
- Kirchner J, Hackbarth H, Stelzer HD, Tsai PP (2012) Preferences of group-housed female mice regarding structure of softwood bedding. *Lab Anim* 46(2): 95-100.
- Krohn TC, Hansen AK (2002) Carbon dioxide concentrations in unventilated IVC cages. *Lab Anim* 36: 209-12
- Krohn TC, Salling B, Hansen AK (2011) How do rats respond to playing radio in the animal facility? *Lab Anim*. Jul;45(3):141-4
- LaVail MM, Gorrin GM, Repaci MA, Yasumura D (1987) Light-induced retinal degeneration in albino mice and rats: strain and species differences. *Prog Clin Biol Res* 147: 439-54

- Lewejohann L, Reinhard C, Schrewe A, Brandewiede J, Haemisch A, Gortz N, Schachner M, Sachser N (2006) Environmental bias? Effects of housing conditions, laboratory environment and experimenter on behavioral tests. *Genes Brain Behav* 5(1):64-72.
- Li WJ, Yu H, Yang JM, Gao J, Jiang H, Feng M, Zhao YX, Chen ZY(2010) Anxiolytic effect of music exposure on BDNF<sup>Met/Met</sup> transgenic mice. *Brain Res* Aug 6;1347:71-9.
- Mackintosh JH (1981) Behaviour of the House Mouse. In Berry AJ (ed.) *The proceedings of Symposium on Biology of the House Mouse*. Aca Press, London. p.337-359.
- McLennan IS, Taylor-Jeffs J (2004) The use of sodium lamps to brightly illuminate mouse houses during their dark phases. *Lab Anim* 38: 384-392
- Meijer MK, van Loo PL, Baumans V (2009) There's a rat in my room! Now What? Mice show no physiological response to the presence of rats. *Appl Ani Welf Sci* 12(4): 209-305.
- Milligan SR, Sales GD, Khirnykh K (1993) Sound levels in rooms housing laboratory animals: an uncontrolled daily variable, *Physiol Behav*. 53: 1067-1076.
- Njaa LR, Utne F, Braekkan OR (1957) Effect of relative humidity on rat breeding and ringtail. *Nature* 180(4580): 290-1.
- Nevison CM, Hurst JL, Barnard CJ (1999) Strain-specific effects of cage enrichment in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Anim Welf* 8(4): 361-379.
- Núñez MJ, Mañá P, Liñares D, Riveiro MP, Balboa J, Suárez-Quintanilla J, Maracchi M, Méndez MR, López JM, Freire-Garabal M (2002) Music, immunity and cancer. *Life Sci* Jul 19;71(9):1047-57.
- Olsson IA, Dahlborn K (2002) Improving housing conditions for laboratory mice: a review of "environmental enrichment", *Lab Anim* 36: 243-270.
- Pelkonen KH, Hänninen OO (1997) Cytotoxicity and biotransformation inducing activity of rodent beddings: a global survey using the Hepa-1 assay. *Toxicology* 122(1-2): 73-80.
- Powell S, Newman HA, McDonald TA, Bugenhagen P, Lewis MH (2000) Development of spontaneous stereotyped behavior in deer mice: effects of early and late exposure to a more complex environment. *Dev Psychobiol* 37(2):100-8.
- Rat der Europäischen Union (2010) Europäische Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. [http://www.gv-solas.de/assets/files/PDFs/pdf\\_DOK/EU\\_Richtlinie\\_2010-63-EU\\_DE.pdf](http://www.gv-solas.de/assets/files/PDFs/pdf_DOK/EU_Richtlinie_2010-63-EU_DE.pdf) (Council of European Union 2010. EU Directive 2010/63/EU of the European parliament and the council on the protection of animals used for scientific purposes. <http://register.consilium.europa.eu/pdf/en/10/st06/st06106.en10.pdf>)
- Reeb-Whitaker CK, Paigen B, Beamer WG, Bronson RT, Churchill GA, Schweitzer IB, Myers DD (2001) The impact of reduced frequency of cage changes on the health of mice housed in ventilated cages. *Lab Anim* 35: 58-73.
- Renstrom A, Björing G, Högglund AU (2001) Evaluation of individually ventilated cage systems for laboratory rodents: occupational health aspects. *Lab Anim* 35: 42-50.
- Rosenbaum MD, VandeWoude S, Johnson TE (2009) Effects of cage-change frequency and bedding volume on mice and their microenvironment. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 48(6): 763-73.
- Sales GD, Milligan SR, Kirnykh K (1988a) Sources of sound in the laboratory animal environment: A survey of the sounds produced by procedures and equipment. *Anim Welf* 8: 97-115.

- Sales GD, Wilson KJ, Spencer KE, Milligan SR (1988b) Environmental ultrasound in laboratories and animal houses: a possible cause for concern in the welfare and use of laboratory animals. *Lab Anim* 22: 369-375.
- Smith AL, Corrow DJ (2005) Modifications to husbandry and housing conditions of laboratory rodents for improved well-being. *ILAR* 46: 140-147.
- Strekalova T, Spanagel R, Dolgov O, Bartsch D (2005) Stress-induced hyperlocomotion as a confounding factor in anxiety and depression models in mice. *Behav.Pharmacol.* 16: 171-180.
- Sutoo D, Akiyama K (2004) Music improves dopaminergic neurotransmission: demonstration based on the effect of music on blood pressure regulation. *Brain Res* Aug 6;1016(2):255-62.
- Törrönen R, Pelkonen K, Kärenlampi S (1989) Enzyme-inducing and cytotoxic effects of wood-based materials used as bedding for laboratory animals. Comparison by a cell culture study. *Life Sci* 45(6): 559-65.
- Tsai PP, Oppermann D, Stelzer HD, Mahler M, Hackbarth H (2003a) The effects of different rack systems on the breeding performance of DBA/2 mice. *Lab Anim* 37: 44-53.
- Tsai PP, Stelzer HD, Hedrich HJ, Hackbarth H (2003b) Are effects of different enrichment designs consistent on the physiology and behaviour of DBA/2 mice. *Lab Anim* 37 (4): 314-327.
- Tsai PP, Stelzer HD, Schraepfer A, Hackbarth H (2006) Importance and effects of enrichment on the physiology, behaviour and breeding performance in mice. *ALTEX* 23: 65-67.
- Turner CA, Lewis MH (2003) Environmental enrichment: effects on stereotyped behavior and neurotrophin levels. *Physiol Behav* 80(2-3): 259-66.
- Van de Weerd HA, Van Loo PL, Van Zutphen LF, Koolhaas JM, Baumans V (1997) Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Lab Anim* 31: 133-143.
- Van de Weerd HA, Van Loo PLP, Van Zutphen LFM, Koolhaas JM, Baumans V (1998) Strength of preference for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Appl Anim Behav Sci* 55: 369-382.
- Van de Weerd HA, Baumans V (1999) Evaluation of environmental enrichment for laboratory mice. *AWIC* 3-4:1-19
- Van de Weerd HA, Aarsen EL, Mulder A, Kruitwagen CLJJ, Hendriksen CFM, Baumans V (2002) Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. *Appl Anim Behav Sci* 5(2) 87-109.
- Van de Weerd HA, Van Loo PL, Baumans V (2004) Environmental enrichment: room for reduction? *Altern Lab Anim* 32 (Suppl 2): 69-71
- Van Loo PL, Kruitwagen CL, Van Zutphen LF, Koolhaas JM, Baumans V (2000) Modulation of aggression in male mice: influence of cage cleaning regime and scent marks. *Anim Welf* 9: 281-295.
- Van Loo PL, Van Zutphen LF, Baumans V (2003) Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice. *Lab Anim* 37(4), 300-13.
- Van Loo PL, Van de Weerd HA, Van Zutphen LF, Baumans V (2004) Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory mice. *Lab Anim* 38(2), 178-88.
- Van Loo PL, Van der ME, Kruitwagen CL, Koolhaas JM, Van Zutphen LF, Baumans V (2004) Long-term effects of husbandry procedures on stress-related parameters in male mice of two strains. *Lab Anim* 38: 169-177.



- Van Loo PL, Blom H, Mejer M, Bauman V (2005) Assessment of the use of two commercially available environmental enrichments by laboratory mice by preference testing *Lab Anim* 39:58-67
- Vesell ES (1967) Induction of Drug-Metabolizing Enzymes in Liver Microsomes of Mice and Rats by Softwood Bedding. *Science* 157(3792):1057-8.
- Voipio H-M, Nevalainen T, Halonen P, Hakumaki M, Bjork E (2006) Role of cage material, working style and hearing sensitivity in perception of animal care noise. *Lab Anim* 40(4): 400-9.
- Voipio H-M, Tsai PP, Brandstetter H, et al. (2010) Housing and care of laboratory animals, In Howard B, Nevalainen, T, Perretta, G (ed.) *The COST manual of laboratory animal care and use: Refinement, Reduction, and Research*. CRC Press: Boca Raton, Finland. p. 29-73.
- Wade CM, Daly MJ (2005) Genetic variation in laboratory mice. *Nature Genetics* 37: 1175-1180
- Wirth H (1983) Criteria for the evaluation of laboratory animal bedding. *Lab Anim* 17: 81-84.
- Wolff JO, Sherman PW (2007) *Rodent Societies. An Ecological & Evolutionary Perspective*. University of Chicago Press, Chicago and London
- Wolfer DP, Litvin O, Morf S, Nitsch RM, Lipp HP, Würbel H (2004) Laboratory animal welfare: cage enrichment and mouse behaviour. *Nature* 432: 821-822.
- Würbel H, Stauffacher M (1996) Prevention of stereotypy in laboratory mice: effects on stress physiology and behaviour. *Physiol Behav* 59: 1163-1170.
- Würbel H (2002) Behavioral phenotyping enhanced--beyond (environmental) standardization. *Genes Brain Behav* 1: 3-8.
- Würbel H (2007) Environmental enrichment does not disrupt standardisation of animal experiments. *ALTEX Special Issue*: 70-3.