



**Gesellschaft für
Versuchstierkunde**

**Society for Laboratory Animal
Science**

GV SOLAS

Ausschuss für Hygiene

**Hygiene-Überwachung von Maus- und Rattenbeständen bei
verschiedenen Haltungformen**

Ausschuss für Hygiene / Working Group on Hygiene

Hygiene-Überwachung von Maus- und Rattenbeständen bei verschiedenen Haltungsformen

Allgemeines

Gemäß FELASA Empfehlungen sollen im Abstand von höchstens drei Monaten aus jeder hygienischen Einheit wenigstens 10 gesunde Tiere einer Sektion sowie einer virologischen, bakteriologischen und parasitologischen Routineuntersuchung zugeführt werden (1). Dies gilt für Barrierehaltung und konventionelle Haltung von Populationen mit mehr als 100 Tieren, wenn bestimmte weitere Voraussetzungen gegeben sind (2). Bei Haltungsformen mit starker Kompartimentierung (z.B. Filterdeckelkäfige, IVCs [individual ventilated cages], Isolatoren) liegt die Zahl der Tiere pro hygienische Einheit aber oft weit unter diesem Wert. Die vorliegende Empfehlung soll bei der Planung der Hygiene-Überwachung besonders von solchen Beständen eine Hilfestellung bieten.

Definition: Hygienische Einheit

Eine hygienische Einheit umfasst den Bereich einer Versuchstieranlage, der von denselben Personen (Tierpflegern, Experimentatoren) betreut wird.

Dies können beispielsweise sein:

- eine Barriereinheit mit mehreren Räumen, die durch Schleusen (Dusche, Kleiderwechsel, Händedesinfektion) zugänglich ist
- mehrere konventionelle Tierräume in einem Gebäude
- mehrere Tierräume auf verschiedenen Stockwerken oder in verschiedenen Gebäuden, die von denselben Personen ohne Schutzmaßnahmen betreten werden
- ein Isolator
- ein Mikroisolatorkäfig (Filterdeckelkäfig, IVC). Dieser stellt eine wirksame Barriere dar, wenn der Käfig ausschließlich unter einer sterilen Werkbank geöffnet wird und geeignete Desinfektionsmittel für die Händedesinfektion (Handschuhe!) benutzt werden (siehe „Handhabung von Mikroisolatorkäfigen“, GV-SOLAS).

Stichprobengröße

Die notwendige Stichprobengröße bei offener Käfighaltung richtet sich nach der Größe des Bestandes, dem Ausbreitungsgrad einer möglichen Infektion und dem Untersuchungsintervall. Bei einem Bestand von über 100 Tieren wird bei Stichprobenentnahme von 10 Tieren nach dem Zufallsprinzip eine Infektion mit mehr als 95%iger Sicherheit erfasst, wenn mindestens 30% der Tiere in einer Population infiziert sind. Theoretisch kann bei 4 Untersuchungen pro Jahr eine Infektion mit einer Prävalenz von 10% mit nahezu 99%iger Sicherheit festgestellt werden (3). Ist das Risiko, Infektionserreger in den Bestand einzubringen, beispielsweise in experimentellen Abteilungen, sehr hoch (z. B., wenn Tiere mehr als einmal pro Monat importiert werden, wenn Tiere von unterschiedlichen Züchtern eingebracht werden oder wenn viele unterschiedliche Personen Zutritt haben), sollte die Untersuchungsfrequenz höher sein. In solchen Fällen wird empfohlen, 3-5 Tiere pro hygienische Einheit wenigstens einmal pro Monat zu untersuchen.

Auswahl der Tiere

Die Auswahl der für die Routineuntersuchung verwendeten Tiere hängt von verschiedenen Faktoren ab. Am besten geeignet sind Tiere direkt aus dem zu untersuchenden Bestand, die dort geboren wurden oder aber lange Zeit dort verbracht haben. Sind keine derartigen Tiere vorhanden, werden Sentineltiere (s.u.) verwendet.

Für die Untersuchung werden häufig alte Zuchttiere verwendet, da diese wegen ihrer langen Verweildauer im Bestand und ihrer abnehmenden Immunkompetenz das breiteste Erregerspektrum aufweisen. Außer für serologische Untersuchungen und bestimmte parasitologische Untersuchungen (Helminthen) sind aber auch Jungtiere mit einem Alter von mindestens 10 Wochen gut geeignet. Die Tiere werden aus möglichst verschiedenen Tierräumen und Käfigen einer Tierhaltungseinheit entnommen.

Kranke Tiere

Wertvolle Zusatzinformationen liefern außerdem kranke und gestorbene Tiere. Generell sollten zusätzlich zu den Routineuntersuchungen alle kranken und gestorbenen Tiere zur Untersuchung gelangen, damit auftretende Infektionen frühzeitig erfasst werden können und die Bedeutung auftretender Infektionserreger besser beurteilt werden kann. Das Personal der Forschergruppen sollte angewiesen werden, alle Tiere zur mikrobiologischen und pathologischen Untersuchung zu bringen, die Krankheitsanzeichen zeigen bzw. moribund oder schon verstorben sind.

Sentineltiere

Definition und Verwendung

Sentineltiere sind Anzeigertiere, die in Bestände eingesetzt werden, um festzustellen, ob darin Infektionserreger vorhanden sind. Es sind Tiere, die bewusst so gehalten werden, dass sie einem erhöhten Infektionsrisiko ausgesetzt sind, so dass in einem Bereich vorhandene Erreger mit möglichst hoher Wahrscheinlichkeit auf sie übertragen werden. Die Auswahl der Sentineltiere erfolgt nicht nach dem Zufallsprinzip. Sie kommen dann zum Einsatz, wenn aus dem zu untersuchenden Bestand nicht genügend Tiere zur mikrobiologischen Untersuchung abgegeben werden können (z. B. Tiere im Versuch, kleine Populationen, wertvolle transgene Tiere) oder wenn der zu untersuchende Bestand nicht sinnvoll untersucht werden kann, da z.B. serologische Tests bei immundefizienten Tieren nicht aussagekräftig sind.

Grundsätzlich unterscheidet man verschiedene Einsatzarten von Sentineltieren:

1. **Kontaktsentinels** = Haltung von Sentineltieren in demselben Käfig mit Tieren des zu untersuchenden Bestandes
2. **Einstreusentinels** = Haltung von Sentineltieren auf gebrauchter Einstreu aus mehreren Käfigen des zu untersuchenden Bestandes (z.B. in IVCs; jedoch nicht alle Erreger können so übertragen werden! [siehe: Übertragungswahrscheinlichkeit von Infektionen durch Sentinel-Methoden])
3. **Abluftsentinels** = Haltung von Sentinels in Käfigen, in die die Abluft aus den Käfigen des zu untersuchenden Bestandes geleitet wird (z.B. IVCs; jedoch nicht alle Erreger können so übertragen werden! [siehe: Übertragungswahrscheinlichkeit von Infektionen durch Sentinel-Methoden])

Auswahlkriterien für Sentineltiere

Werden die Sentineltiere nicht innerhalb der zu überprüfenden Kolonie gezüchtet, müssen sie aus einem Bestand mit bekanntem und regelmäßig überprüfem Hygienestatus bezogen werden:

- Die Tiere sollten frei von allen zu untersuchenden Infektionserregern (inkl. Parasiten) und auch frei von Antikörpern gegen diese Infektionserreger sein.
- Es sollten Tiere der gleichen Tierart wie die des zu untersuchenden Bestandes sein.
- Es sollten junge adulte Tiere sein, die eine gute Immunreaktion zeigen (Serologie).

Bezüglich des zu verwendenden genetischen Status der Sentineltiere gibt es unterschiedliche Meinungen:

- Auszuchttiere sind relativ preiswert zu erwerben, sind generell robust und besitzen eine gute Fertilität. Sie sind meist empfänglich für ein breites Keimspektrum, zeigen aber weniger oft klinische Anzeichen einer Erkrankung.
- Inzuchtstämme (z.B. DBA/2, BALB/c) sind oft teurer als Auszuchttiere. Die Empfänglichkeit für spezifische Infektionserreger bzw. für klinische Erkrankungen variiert zwischen den verschiedenen Stämmen. Beispielsweise zeigen A/J-Mäuse bei einer MHV-Infektion meistens keine klinischen Anzeichen, während in anderen Stämmen, z.B. C57BL/6, die Morbidität und Mortalität sehr hoch sein kann. Im Gegensatz dazu verläuft eine Infektion mit Ektromelievirus in C57BL/6-Mäusen und anderen resistenten Stämmen wie C57BL/10 meistens inapparent, während diese Infektion in empfänglicheren Stämmen wie A, DBA/2, BALB/c und C3H mit einer hohen Morbiditätsrate und Mortalitätsrate, die 80-90% der Kolonie betrifft, einhergehen kann.
- Immundefiziente Tiere sind gewöhnlich sehr teuer. Sie sind empfänglicher für klinische Erkrankungen als immunkompetente Tiere und müssen daher so gehalten werden, dass Keime, die nicht Gegenstand der Untersuchung sind, sie nicht infizieren können. Sie zeigen häufig keine Serokonversion, so dass Infektionen nicht mittels serologischer Untersuchungsmethoden beurteilt werden können. Daher sind sie in diesen Fällen als Sentineltiere nicht verwendbar. Allerdings bleiben immundefiziente Tiere häufig persistent infiziert und ermöglichen dadurch die Isolierung des Infektionserregers, während Infektionen in immunkompetenten Tieren oft selbstlimitierend verlaufen. Die Vermutung, dass immuninkompetente Tiere besonders gut als Sentinels für den Nachweis von parasitären Infektionen geeignet wären, konnte für *Spiroplasma muris* nicht bestätigt werden (28) und für *Syphacia obvelata* nur dahingehend bestätigt werden, dass immuninkompetente Tiere Wurmeier über einen längeren Zeitraum (bis 19 Wochen) stetig ausschieden, während die Ausscheidung bei immunkompetenten Mäusen ab der 13. Woche nahezu sistierte (27).

Im Regelfall werden Auszuchttiere als Sentinels eingesetzt. Die Verwendung von Inzuchttieren oder Mutanten als Sentinels bietet sich an, wenn bestimmte Erreger, für die diese Stämme bekanntermaßen besonders empfindlich sind, gezielt nachgewiesen bzw. ausgeschlossen werden sollen. Die Verwendung von immundefizienten Tieren ist nur in seltenen Ausnahmefällen (z.B. Nachweis oder Ausschluss von bestimmten Opportunisten wie *Pneumocystis* spp., Abklären von unklaren Befunden wie z.B. bei Nachweis von Antikörpern

gegen *Clostridium piliforme*) notwendig, da heute Methoden zum Infektionsnachweis auch bei klinisch inapparentem Infektionsverlauf zur Verfügung stehen.

In experimentellen Tierhaltungen werden üblicherweise Tiere derselben Art wie der übrige Tierbestand als Sentinels verwendet. Wenn möglich sollten sie von demselben Züchter (aus demselben Zuchtbereich) stammen wie die zu untersuchenden Versuchstiere und zur selben Zeit bestellt werden. Es ist von entscheidender Bedeutung, dass durch sorgfältige Auswahl der Zuchtbereiche eine Erregereinschleppung über die zugesetzten Sentineltiere sicher ausgeschlossen wird, d.h., sie sollten frei von allen zu untersuchenden Infektionserregern und auch von Antikörpern gegen diese Infektionserreger sein. Dies ist von besonderer Bedeutung für Populationen immundefizienter Tiere.

Beschaffung der Sentineltiere

In hygienischen Bereichen, in denen nachbelegt wird (Kurzzeitversuche, viele verschiedenartige Versuche), sollten mindestens (10)-20 Tiere jederzeit kurzfristig für Kontrolluntersuchungen zur Verfügung stehen. Es ist empfehlenswert, den Bedarf an Sentinels für einen längeren Zeitraum, z. B. für 6 Monate, zu bestellen. Dadurch ist eine ausreichend lange Expositionszeit der Tiere in dem zu untersuchenden Bereich gewährleistet.

Bei Einheiten, in denen nicht nachbelegt wird (Langzeitversuche, nur ein Typ Experiment, „all-in-all-out-Verfahren“), richtet sich die Zahl der Sentinels nach der voraussichtlichen Versuchsdauer. Wenn machbar, sollten ausreichend Sentinels für den gesamten Versuchszeitraum verfügbar sein. Dadurch lässt sich das Risiko der Erregereinschleppung über später zugekaufte Sentinels ausschließen.

Bei immundefizienten Tieren (z. B. thymusaplastischen *Foxn1^{nu}*-Mäusen oder *Whn^{nu}*-Ratten, B- und T-Zell-defizienten *Prkdc^{scid}*- oder *Rag^{tm1Mom}*-Mäusen) werden immunkompetente Tiere als Sentinels in derselben Einheit gehalten (bei Nacktmäusen am besten heterozygote Wurfgeschwister). Wichtig ist, dass die Sentineltiere frei sind von opportunistischen Pathogenen (z. B. *Staphylococcus aureus*, *Pneumocystis* spp.), die bei immundefizienten Tieren eine Erkrankung hervorrufen können.

Haltung der Sentineltiere

- Gleiche Haltungsbedingungen wie der Rest des Bestandes
- Zur Begünstigung einer Infektionsübertragung werden die Sentineltiere auf gebrauchte Einstreu aus möglichst vielen (allen) anderen Käfigen gesetzt und bekommen Futter aus Raufen benutzter Käfige bzw. gebrauchte Tränkeflaschen
- Verweildauer in dem zu untersuchenden Bereich: mindestens 6 Wochen (besser 8-10 Wochen oder länger)
- Käfige möglichst weit unten auf dem Gestell, gleichmäßig über den Raum verteilt
- Käfige mit Sentineltieren immer zuletzt anfassen und wechseln

Bei oben beschriebener Haltung lassen sich auch mit kleineren Untersuchungszahlen (Tieranzahl) aussagekräftige Ergebnisse erzielen. Bei Verwendung von gebrauchter Einstreu wird üblicherweise 50% frische und 50% gebrauchte Einstreu verwendet, damit die Haltung auf schmutziger Einstreu nicht zu belastend für die Sentineltiere wird. Es ist aber auch möglich, zur Vermeidung der Staubbelastung bei der Einstreuentnahme in der Käfigwechselstation, die Sentineltiere direkt in einen gebrauchten Käfig zu setzen und dabei

immer einen anderen Käfig zu wählen, so dass die Sentineltiere mit allen Käfigen eines IVC-Regals in Berührung kommen.

In kleinen Populationen (z.B. IVCs, Isolatoren) ist die Übertragungswahrscheinlichkeit eines Erregers besonders hoch, wenn Kontaktsentinelns benutzt werden, die im selben Käfig wie die zu untersuchenden Tiere gehalten werden (7).

Besonderheiten bei verschiedenen Haltungsformen

1. Infektionskontrolle bei konventioneller bzw. Barrierehaltung

(siehe auch „Stichprobengröße“)

Bei der häufig praktizierten konventionellen Haltung oder Barrierehaltung von Nagern (in offenen Käfigen) sollten die FELASA Empfehlungen angewendet werden.

2. Infektionskontrolle bei Isolatorhaltung

In Isolatoren werden meist kleine Tierpopulationen gehalten und es fehlt dort der Platz, um die für die Infektionsüberwachung von offenen Käfigen empfohlenen Tierzahlen zu halten. Eine aussagekräftige Infektionsüberwachung ist deshalb nur möglich, indem eine realistische Tierzahl in einem Isolator konsequent auf benutzter Einstreu (und mit Futter und Tränkeflaschen) aus möglichst vielen (allen) Käfigen gehalten wird. Der Einsatz von Kontaktsentinelns kann ebenfalls sinnvoll sein. Je nach Größe des Isolators sollten ein oder mehrere Käfige mit Sentineltieren vorgesehen werden, und für die, mit erhöhter Frequenz, vorgenommenen Infektionskontrollen, sollten pro Untersuchung etwa 3-5 Tiere herangezogen werden (1). (Für die Haltung keimfreier Tiere siehe „Mikrobiologische Untersuchung von keimfreien Tieren“, GV-SOLAS).

3. Infektionskontrolle in Filterschränken

Filterschränke stellen an sich eine hygienische Einheit dar, in denen bei korrektem Umgang kleinere Tierpopulationen von anderen Tierpopulationen, die außerhalb eines Schrankes oder in anderen Schränken gehalten werden, isoliert werden können. Innerhalb eines Schrankes lässt sich - bei Haltung von Tieren in offenen Käfigen - nicht ausschließen, dass Erreger von einem Käfig auf einen anderen übertragen werden oder mit der Luft verbreitet werden. Aufgrund der in solchen Schränken gehaltenen geringen Tierzahlen und dem schwierig abzuschätzenden Risiko und Ausmaß einer Erregerübertragung von Käfig zu Käfig ist eine Infektionsüberwachung mit Sentinels analog zu der Haltung in Isolatoren oder Mikroisolatoren sinnvoll.

4. Infektionskontrolle in Mikroisolatorkäfigen (IVCs, Filterdeckelkäfige)

(siehe auch "Handhabung von Mikroisolatorkäfigen", GV-SOLAS)

Bei Mikroisolatorkäfigen ist die hygienische Einheit nicht der Raum, sondern jeder einzelne Käfig. Dieses Prinzip verhindert die Übertragung von Infektionen zwischen den Käfigen sehr effektiv, wenn die Käfige korrekt gehandhabt werden. Gleichzeitig behindert es den Einsatz von Sentineltieren zur Hygieneüberwachung, da eine homogene Verbreitung eines Erregers innerhalb des Bestandes verlangsamt oder verhindert wird. Dies gilt sowohl für 'klassische' Mikroisolatorkäfige (Filterdeckelkäfige ohne Zwangsbelüftung) als auch für individuell belüftete Mikroisolatorkäfige (IVCs) auf speziellen Gestellen. Es ist heute allgemein akzeptiert, dass Filterdeckelkäfige nicht für die längere Haltung von Tieren genutzt werden

sollten, da der Schadgasgehalt (Ammoniak, CO₂) in der Käfigluft schnell auf gefährliche Konzentrationen ansteigen kann und Temperatur und Luftfeuchtigkeit erhöht sind. Da aus praktischen Gründen nicht aus allen Käfigen eine Stichprobe für die Hygieneuntersuchung entnommen werden kann, gilt es hier Kompromisse zu schließen. Folgendes Vorgehen basiert auf der Verwendung von Einstreusentinels und ermöglicht eine relativ zuverlässige Überwachung, ohne das Mikroisolator-Prinzip zu durchbrechen.

- Sentineltiere werden ebenfalls in Filterdeckelkäfigen/IVCs gehalten.
- Nach dem Wechseln der Käfige des gesamten IVC-Regals (außer Sentineltieren) unter der sterilen Werkbank werden aus möglichst vielen verschiedenen schmutzigen Käfigen Einstreuproben und gebrauchtes Futter/Futterreste entnommen und zusammen mit 50% frischer Einstreu in einen separaten Käfig gegeben, in dem die Sentineltiere gehalten werden sollen (andere mögliche Methoden siehe S. 5 „Haltung der Sentineltiere“). Außerdem wird den Tieren eine bereits gebrauchte Tränkeflasche angeboten. Die Sentineltiere werden anschließend in diesem Käfig gehalten.
- Wöchentliches Wechseln der Einstreuspender bzw. Futter und Wasserflaschenspender ergibt einen guten Querschnitt durch die Kolonie.
- Die Sentineltiere bekommen über 10-12 Wochen Einstreuproben und gebrauchte(s) Futter/Wasserflaschen und die letzte Hygieneuntersuchung der Sentineltiere erfolgt erst 4-6 Wochen nach der letzten Einstreugabe. Sinnvoll ist dabei ein System, bei dem eine größere Gruppe von Sentineltieren max. 6 Monate gehalten wird und eine gestaffelte Entnahme aus dieser Sentinelgruppe erfolgt.

Übertragungswahrscheinlichkeit von Infektionen durch Sentinel-Methoden

Durch Kontaktsentinels können alle bekannten Infektionserreger bei Maus und Ratte (ausgenommen Retroviren) bei genügend langer Exposition im Bestand nachgewiesen werden. Für Keime, die primär oder ausschließlich durch direkten Kontakt von Tier zu Tier übertragen werden (z.B. *CAR* (cilia-associated respiratory)-*Bacillus*, *Pasteurella pneumotropica*, LDV), sind andere Sentinelmethoden (Abluftsentinels bzw. Einstreusentinels) nicht sinnvoll (10). Hier kann nur die Untersuchung von Tieren aus dem Bestand bzw. der direkte Kontakt von infizierten Tieren mit Sentinels verlässliche Ergebnisse erbringen.

Die Exposition von Sentineltieren zur Abluft (einige Hersteller von IVCs bieten die Möglichkeit, die Abluft aus den Tierkäfigen durch einen Sentinelkäfig zu leiten) kann sinnvoll sein bei der Detektion von Erregern, die auch durch die Luft übertragbar sind (z.B. Hepatitisvirus der Maus, Sendaivirus) (6, 7).

Andere Erreger jedoch, wie das Rotavirus der Maus, Parvoviren der Maus oder *Helicobacter* spp., sind gewöhnlich nicht über die Luft übertragbar, können aber in benutzter Einstreu infektiös bleiben (4-25). Auch Milben (*Myobia musculi*) waren über benutzte Einstreu, wenn auch effektiv (d.h. 75% der Käfige) erst nach einer Zeit von 5 Monaten, übertragbar (26). Die Haltung von Sentineltieren, die sowohl auf benutzter Einstreu gehalten werden als auch Abluft von den anderen Tierkäfigen erhalten, erhöht daher die Effizienz der Infektionskontrollen in IVCs (8).

Experimentell wurde die Übertragbarkeit einer Infektion durch benutzte Einstreu für folgende Infektionserreger nachgewiesen, von denen die meisten überwiegend fäkal ausgeschieden werden: Ektromelievirus (11), Hepatitisvirus der Maus (4, 9, 26), Rotavirus (6), Sialodacryoadenitisvirus (SDAV) (12), verschiedene Parvoviren bei Maus und Ratte (auch Kilham rat virus) (9, 13, 14, 15, 25), Theilers murines Enzephalomyelitisvirus (TMEV) (16), Norovirus der Maus (23), *Clostridium piliforme* (17, 18), *Helicobacter hepaticus* und *H. bilis* (19, 22) sowie auch für das Sendaivirus (20), das jedoch - eventuell durch seine geringe

Stabilität - in einer anderen Untersuchung nicht übertragbar war (4). Denkbar ist auch eine Übertragbarkeit für relativ resistente Erreger wie das Adenovirus der Maus (21). Bezüglich der Übertragbarkeit von Endoparasiten gibt es nur wenige Quellen. Für *Spironucleus muris* wurde eine inkonsistente Übertragung auf Mäuse durch benutzte Einstreu beschrieben, deren Variabilität wohl mit der relativ schnellen Austrocknung der ausgeschiedenen Zysten (ein Großteil ist schon nach 2 h nicht mehr infektiös) zusammenhängt. Die Infektiosität von *Spironucleus muris* war auch stark abhängig von der Zeit der Exposition der Sentinels zur gebrauchten Einstreu, die in dieser Studie mindestens 6 (bis 16) Wochen betragen musste (28). Für Wurminfektionen (*Syphacia obvelata*) wurde bisher nur die Übertragbarkeit durch Kontaktsentinelns beschrieben, wobei immuninkompetente Tiere dabei eine verlängerte Ausscheidungszeit zeigten, während die Ausscheidung der immunkompetenten Tieren nach 13 Wochen sistierte (27). Für andere Erreger - und dies sind insbesondere Infektionserreger der Luftwege - wurde eine Übertragbarkeit durch gebrauchte Einstreu nicht nachgewiesen (*CAR-Bacillus*) (10) bzw. noch nicht untersucht (Pneumovirus der Maus, *Mycoplasma pulmonis*) (21). *Pneumocystis carinii* jedoch -auch ein Infektionserreger der Luftwege- konnte von chronisch infizierten Tieren auf Sentineltiere (*Prkdc^{scid}*-Mäuse) nach 12-wöchiger Haltung auf gebrauchter Einstreu übertragen werden (22). Die Infektion dauerte jedoch länger und war auch weniger effizient als bei Übertragungsversuchen mit Kontaktsentinelns. Für *Pasteurella pneumotropica* liegen widersprüchliche Berichte vor, einer Arbeitsgruppe gelang die Infektion von Einstreusentinelns mit *Pasteurella pneumotropica* nach 12 Wochen, wenn auch nicht in allen Fällen (22), einer anderen Arbeitsgruppe gelang dies nicht (24).

Allerdings ist die Effizienz einer Übertragung von Infektionserregern über die gebrauchte Einstreu besonders abhängig von der Stabilität und der Dosis des Erregers, so dass eine experimentell nachgewiesene Infektiosität gebrauchter Einstreu (bei der mit hohen Erregerzahlen aus der akut gesetzten Infektion gerechnet werden kann) nicht unbedingt vergleichbar ist mit der Infektiosität gebrauchter Einstreu beim Vorliegen chronischer Infektionen, bei denen oft nur geringe Erregermengen ausgeschieden werden (21, 24). So konnten bei Übertragungsversuchen mit dem Parvovirus der Maus (MPV) und dem Hepatitisvirus der Maus (MHV) durch gebrauchte Einstreu hohe Infektionsraten nur während des Höhepunktes der Virusausscheidung (d.h. nach 1 Woche p.i. bei MPV und nach 3 Tagen p.i. bei MHV) erreicht werden (9). In einer anderen Untersuchung waren die Infektionsraten bei MPV-1 zwei bis drei Wochen p. i. ebenfalls nur bei hohen Virusdosen hoch (90-100%), während bei geringeren Virusdosen, dosisabhängig, nur Infektionsraten zwischen 20 und 60% nach einem Zeitraum von 2-6 Wochen erreicht wurden (25). Bei Übertragungsversuchen von MHV aus einem chronisch infizierten Bestand konnte eine Infektion der Einstreusentinelns erst nach 4 Monaten (50%) bzw. 5 Monaten (100%) festgestellt werden (26). Bei Übertragungsversuchen mit dem Norovirus der Maus konnte nach 12 Wochen Einstreusentinelnhaltung eine Infektionsrate von 80% nachgewiesen werden (23).

Zusätzlich zur Untersuchung von Einstreusentinelns ist die Verwendung von Abluftfiltern oder Abklatschpräparaten von Käfigoberflächen für Infektionskontrollen mittels PCR („Environmental Monitoring“) ebenfalls möglich, da einige virale und bakterielle Nukleinsäuren für Wochen/Monate detektierbar sind (6, 7, 25).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass keine Methode allein völlig ausreicht, um das Vorhandensein von allen Erregern überprüfen zu können und ein vollständiger Einblick in die Hygienesituation gerade von kompartimentierten Tierhaltungen (z.B. IVCs) sehr schwer zu erreichen ist. Eine komplexe Vorgehensweise, die den Besonderheiten der Infektionserreger aber auch den individuellen Gegebenheiten der Tierhaltungseinrichtung gerecht wird, ist daher notwendig. Daher stellt die Planung eines effektiven Hygieneprogrammes für die Tierhaltung in IVC-Einheiten oft eine Herausforderung dar.

Literatur:

1. FELASA working group on health monitoring of rodent and rabbit colonies (2002). Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab. Anim.* 36: 20-42.
2. ILAR (1976). Long term holding of laboratory rodents. *ILAR News* 19: L1-L25.
3. GV-SOLAS (1989). Mikrobiologische Diagnostik bei Laboratoriumstieren. GV-SOLAS Veröffentlichung Nr. 11.
4. Dillehay DL, Lehner ND, Huerkamp MJ (1990). The effectiveness of a microisolator cage system and sentinel mice for controlling and detecting MHV and Sendai virus infections. *Lab. Anim. Sci.* 40: 367-70.
5. Lipman N S and Homberger F R (2003). Rodent quality assurance testing: use of sentinel animal systems. *Lab Anim. (NY)* 32(5): 36-43.
6. Compton S R, Homberger F R, Paturzo F X and Clark J M (2004). Efficacy of three microbiological monitoring methods in a ventilated cage rack. *Comp. Med.* 54: 382-392.
7. Compton SR, Homberger FR, MacArthur Clark J. (2004). Microbiological monitoring in individually ventilated cage systems. *Lab Anim. (NY)* 33(10): 36-41.
8. Brielmeier M, Mahabir E, Needham JR, Lengger C, Wilhelm P, Schmidt J (2006). Microbiological monitoring of laboratory mice and biocontainment in individually ventilated cages: a field study. *Lab. Anim.* 40: 247-60.
9. Smith PC, Nucifora M, Reuter JD, Compton SR (2007). Reliability of soiled bedding transfer for detection of mouse parvovirus and mouse hepatitis virus. *Comp. Med.* 57: 90-6.
10. Cundiff DD, Riley LK, Franklin CL, Hook RR Jr, Besch-Williford C (1995). Failure of a soiled bedding sentinel system to detect cilia-associated respiratory bacillus infection in rats. *Lab. Anim. Sci.* 45: 219-21.
11. Bhatt PN, Jacoby RO (1987). Mousepox in inbred mice innately resistant or susceptible to lethal infection with ectromelia virus III. Experimental transmission of infection and derivation of virus-free progeny from previously infected dams. *Lab. Anim. Sci.* 37: 23-7.
12. La Regina M, Woods L, Klender P, Gaertner DJ, Paturzo FX (1992). Transmission of sialodacryoadenitis virus (SDAV) from infected rats to rats and mice through handling, close contact, and soiled bedding. *Lab. Anim. Sci.* 42: 344-6.
13. Smith AL, Jacoby RO, Johnson EA, Paturzo F, Bhatt PN (1993). In vivo studies with an "orphan" parvovirus of mice. *Lab. Anim. Sci.* 43: 175-82.
14. Ueno Y, Sugiyama F, Yagami K (1996). Detection and in vivo transmission of rat orphan parvovirus (ROPV). *Lab. Anim.* 30: 114-9.
15. Yang FC, Paturzo FX, Jacoby RO (1995). Environmental stability and transmission of rat virus. *Lab. Anim. Sci.* 45: 140-4.
16. Brownstein D, Bhatt P, Ardito R, Paturzo F, Johnson E (1989). Duration and patterns of transmission of Theiler's mouse encephalomyelitis virus infection. *Lab. Anim. Sci.* 39: 299-301.
17. Gibson SV, Waggle KS, Wagner JE, Ganaway JR (1987). Diagnosis of subclinical *Bacillus piliformis* infection in a barrier-maintained mouse production colony. *Lab. Anim. Sci.* 37: 786-8.
18. Waggle KS, Ganaway JR, Wagner JE and Spencer TH (1984). Experimentally induced Tyzzer's disease in mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Lab. Anim. Sci.* 34: 53-57.
19. Livingston RS, Riley LK, Besch-Williford CL, Hook RR Jr, Franklin CL (1998). Transmission of *Helicobacter hepaticus* infection to sentinel mice by contaminated bedding. *Lab. Anim. Sci.* 48: 291-3.

20. Artwohl JE, Cera LM, Wright MF, Medina LV, Kim LJ (1994). The efficacy of a dirty bedding sentinel system for detecting Sendai virus infection in mice: a comparison of clinical signs and seroconversion. *Lab. Anim. Sci.* 44: 73-5.
21. Boot R, Hardy P (2004). La transmission d'agents pathogènes des rongeurs par la litière sale: mythe ou réalité? *Sci. Tech. Anim. Lab.* 29(2-3): 35-41.
22. Myers DD, Smith E, Schweitzer I, Stockwell JD, Paigen BJ, Bates R, Palmer J, Smith AL (2003). Assessing the risk of transmission of three infectious agents among mice housed in a negatively pressurized caging system. *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.* 42: 16-21.
23. Manuel CA, Hsu CC, Riley LK, Livingston RS (2008). Soiled-bedding sentinel detection of murine norovirus 4. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 47: 31-6.
24. Scharmann W and Heller A (2001). Survival and transmissibility of *Pasteurella pneumotropica*. *Lab. Anim.* 35: 163-166.
25. Besselsen DG, Myers EL, Franklin CL, Korte SW, Wagner AM, Henderson KS, Weigler BJ (2008). Transmission probabilities of mouse parvovirus 1 to sentinel mice chronically exposed to serial dilutions of contaminated bedding. *Comp. Med.* 58: 140-4.
26. Thigpen JE, Lebetkin EH, Dawes ML, Amyx HL, Caviness GF, Sawyer BA, Blackmore DE (1989). The use of dirty bedding for detection of murine pathogens in sentinel mice. *Lab. Anim. Sci.* 39: 324-7.
27. Clarke CL, Perdue KA (2004). Detection and clearance of *Syphacia obvelata* infection in Swiss Webster and athymic nude mice. *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.* 43: 9-13.
28. Perdue KA, Copeland MK, Karjala Z, Cheng LI, Ward JM, Elkins WR (2008). Suboptimal ability of dirty-bedding sentinels to detect *Spiroplasma muris* in a colony of mice with genetic manipulations of the adaptive immune system. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 47: 10-17.

Autoren: Felix R. Homberger, Yale University; Werner Nicklas, DKFZ Heidelberg
Überarbeitet von Bettina Kränzlin, Universität Heidelberg

3/12/09