

Fachinformation

Aus dem Ausschuss für Hygiene

Einfluss von Infektionserregern auf die Ergebnisse von Tierversuchen

Stand August 2019

Autoren: GV-SOLAS Working Group on Hygiene

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	3
Bedeutung von Infektionserregern.....	3
Ziel der Erregermonographien.....	4
Literatur	6
Haftungsausschluss	9

Einleitung

Es ist unbestritten, dass sich Infektionserreger bei Versuchstieren nicht nur auf die Gesundheit von Tieren (und Menschen) auswirken, sondern auch die Ergebnisse von Tierexperimenten massiv beeinflussen können. Einer mikrobiologischen Standardisierung von Versuchstieren kommt daher erhebliche Bedeutung zu (Nicklas 1999).

Es ist schon seit langer Zeit bekannt, dass Mikroorganismen vielfältige Einflüsse auf ihren Wirt ausüben können (Bleich und Hansen 2012). Schon früh wurden solche Einflüsse beispielsweise auf die Entwicklung und das Wachstum von Tumoren beobachtet. So konnte gezeigt werden, dass keimfreie Mäuse nach Behandlung mit chemischen Karzinogenen weniger Tumore (Lunge, Leber, Mamma, Uterus, Ovar) entwickeln als konventionell gehaltene Mäuse (Burstein et al. 1970, Roe und Grant 1970, Schreiber et al. 1972). Die Bedeutung von Mikroorganismen als Einflussgrößen für Experimente wurde schon vor mehr als 50 Jahren in Übersichtsarbeiten beschrieben (van der Waaij und van Bekkum 1967, Hanna et al. 1973, Baker et al. 1979, Baker 1998, Baker 2003). Bereits 1971 wurde ein Symposium zu dieser Problematik abgehalten (Pakes und Benirschke 1971) und damals bekannte Einflüsse ausgewählter Erreger anschließend publiziert.

Bedeutung von Infektionserregern

Erreger können sich auf vielfältige Weise auf Tierpopulationen auswirken. Einige Mikroorganismen besitzen pathogene Eigenschaften und können klinische Symptome mit unterschiedlicher Morbidität und Mortalität hervorrufen. Die meisten Erreger verursachen allerdings, zumindest bei endemischem Verlauf, keine oder sehr mild verlaufende klinische Erkrankungen. Teilweise kommt es zu Ausfällen infolge von Todesfällen oder Krankheit. In vielen Fällen wird das Auftreten von Symptomen gefördert durch Belastungen oder Stress, die durch das Experiment verursacht werden. Häufig sind bestimmte Stämme einer Tierart anfälliger. Bei anderen Stämmen verläuft dieselbe Infektion milder, mit anderen Symptomen oder gar ohne klinische Anzeichen einer Infektion. Besonders bei immundefizienten Tieren sind stärkere Auswirkungen zu erwarten. Oft kommt es ohne akute Anzeichen einer Infektion nur zu einer reduzierten Lebenserwartung einzelner Individuen oder ganzer Populationen. Andere Erreger verursachen Infektionen, die völlig symptomlos verlaufen, und selbst bei experimenteller Infektion nicht zu klinischen Erkrankungen führen.

Unabhängig von ihren pathogenen Eigenschaften können sich viele Erreger jedoch auf die Physiologie der Tiere und damit auf die Ergebnisse von Tierversuchen auswirken. Daneben können Infektionen, auch wenn sie asymptomatisch verlaufen, die interindividuelle Variabilität erhöhen. Dadurch werden erhöhte Tierzahlen zur Durchführung aussagekräftiger Experimente notwendig. Direkte Auswirkungen von Erregern auf Versuchsergebnisse können zu Fehlinterpretationen von Ergebnissen führen und somit dafür verantwortlich sein, dass Experimente nicht reproduzierbar sind.

Die Verwendung von Tieren, die frei von unerwünschten Mikroorganismen sind, ist eine wichtige Voraussetzung für die Durchführung von aussagekräftigen und reproduzierbaren Experimenten mit einem Minimum an Tieren und stellt somit einen wesentlichen Beitrag zum Tierschutz dar.

Es ist einsichtig, dass experimentelle Daten, die an klinisch kranken Tieren gewonnen wurden, nur mit größter Vorsicht verwertet werden dürfen. Aber gerade Erreger, die klinisch unauffällige

Infektionen verursachen, können sich fatal auswirken, weil sie häufig unerkannt bleiben und somit verfälschte Versuchsergebnisse erzeugen, die publiziert werden.

Das Fehlen klinischer Symptome ist diagnostisch völlig wertlos. Das Freisein von unerwünschten Mikroorganismen und damit die Eignung für spezifische Experimente kann nur durch umfassende mikrobiologische Untersuchungen vor und während des Experiments gewährleistet werden. Die Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen müssen deshalb bei der Interpretation eines Experiments sowohl vom Experimentator als auch dem Leser einer Publikation zusammen mit den Versuchsdaten berücksichtigt werden. Es sollte daher selbstverständlich sein, dass die Ergebnisse mikrobiologischer Qualitätskontrollen bei Versuchstieren in einer wissenschaftlichen Publikation enthalten sind (Ellery 1985, Kilkenny et al. 2010). Empfehlungen zur Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen bei Versuchstieren wurden wiederholt publiziert (Lussier 1991, National Research Council 1991, Kunstyr 1992, Kraft et al. 1994, Nicklas 1996, Rehbinder et al. 1996, Rehbinder et al. 1998, Nicklas et al. 2002, Lipman und Homberger 2003, Mähler et al. 2014, Fahey und Olekszak 2015).

Viele Erreger wirken sich nicht nur auf Tiere und die mit ihnen durchgeführten Tierversuche aus. Von einer Vielzahl von Mikroorganismen ist bekannt, dass sie auch Experimente an isolierten Zellen oder Organen beeinflussen und sogar in Zellen, Tumoren oder anderen biologischen Materialien für unbestimmte Zeit persistieren können. Mikroorganismen von Versuchstieren können sich somit auch auf Experimente auswirken, die unter in vitro-Bedingungen durchgeführt werden. Daneben finden sich Infektionserreger als Kontaminanten von biologischen Materialien, die von Tieren stammen oder in Tieren passagiert wurden (Tumoren, Seren, Zellen, Viren, Parasiten), und über biologische Materialien in Versuchstierhaltungen eingeschleppt werden (Collins und Parker 1972, Nicklas et al. 1993). Sie können massiv Einfluss auf Experimente nehmen, die mit solchen Materialien durchgeführt werden.

Leider werden solche Auswirkungen von Erregern auf Experimente in der Mehrzahl aller Fälle als Artefakte verworfen und nur in Ausnahmefällen publiziert. Informationen über die Beeinflussung von Experimenten durch Infektionserreger finden sich in der Literatur deshalb nur vereinzelt. Mit dieser Zusammenstellung soll versucht werden, einen Überblick über publizierte Einflüsse einzelner Mikroorganismen auf Tiere sowie Auswirkungen auf Experimente zu geben.

Das Problem der Beeinflussung von Tierversuchen durch Infektionserreger war Mitte der 80iger Jahre Gegenstand mehrerer Kongresse. Das verfügbare Wissen zu dieser Thematik wurde wiederholt in Proceedings publiziert (Melby und Balk 1983, Bhatt et al. 1986, Hamm 1986). Auch danach wurde die Problematik wiederholt in Übersichtsartikeln zusammengefasst (Kraft 1985, Lussier 1988, National Research Council 1991, Hansen 1994, Mossmann et al. 1998, Baker 1998, Baker 2003).

Ziel der Erregermonographien

In Versuchstierhaltungen taucht beim Nachweis eines Erregers häufig die Frage auf, ob bzw. inwieweit sich dieser Erreger auf Experimente auswirken kann. Experimentatoren und Versuchstierkundler müssen in solchen Fällen die Bedeutung einer Infektion auf Experimente abschätzen können. Die vorliegende Zusammenstellung soll dabei behilflich sein, indem sie kurz und übersichtlich für die wichtigeren und häufiger zu erwartenden Keime publizierte

Auswirkungen zusammenstellt und die jeweiligen Literaturzitate auflistet. Aber auch andere Fragen, die im Zusammenhang mit Infektionen in Versuchstierpopulationen auftauchen, sollen hier beantwortet werden (z. B. Zoonoserisiko, Wirtsspezifität).

Schließlich soll mit dieser Zusammenstellung auch Leitern von Versuchstierhaltungen eine Argumentationshilfe zur Hand gegeben werden, um besser und gezielt auf die Verwendung mikrobiologisch standardisierter Tiere und damit die Durchführung von aussagekräftigeren Experimenten hinzuwirken.

Die Mehrzahl der heute verwendeten Versuchstiere sind Ratten und Mäuse. Gleichzeitig liegen auch für Nagerkeime die meisten publizierten Erkenntnisse vor. Diese Zusammenstellung konzentriert sich deshalb auf Mikroorganismen, die bei Nagern vorkommen, obwohl auch bei anderen Tierarten der Trend zu mikrobiologisch standardisierten Tieren geht (Rehbinder et al. 1998, Rehbinder et al. 2000, Collymore et al. 2016).

Literatur

- Baker DG. 1998. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin Microbiol Rev* 11(2):231-266.
- Baker DG. 2003. Natural pathogens of laboratory animals: Their effects on research. Washington, DC: ASM Press.
- Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH. 1979. Housing to control research variables. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH (eds) *The laboratory rat. Vol. 1 Biology and diseases*. New York: Academic Press, pp. 167-192.
- Bhatt PN, Jacoby RO, Morse HC, New A. 1986. Viral and mycoplasmal infections of laboratory rodents: Effects on biomedical research. New York: Academic Press.
- Bleich A, Hansen AK. 2012. Time to include the gut microbiota in the hygienic standardisation of laboratory rodents. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 35(2):81-92.
<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.12.006>.
- Burstein NA, McIntire KR and Allison AC. Pulmonary tumors in germfree mice: induction with urethan. *J Natl Cancer Inst* 1970; 44(1):211-214.
- Collins MJ Jr, Parker JC. 1972. Murine virus contaminants of leukemia viruses and transplantable tumors. *J Natl Cancer Inst* 49(4):1139-1143.
- Collymore C, Crim MJ, Lieggi C. 2016. Recommendations for health monitoring and reporting for zebrafish research facilities. *Zebrafish* 13 Suppl 1:S138-148.
<https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1210>.
- Ellery AW. 1985. Guidelines for specification of animals and husbandry methods when reporting the results of animal experiments. Working Committee for the Biological Characterization of Laboratory Animals/GV-SOLAS. *Lab Anim* 19(2):106-108.
- Fahey JR, Olekszak H. 2015. An overview of typical infections of research mice: Health monitoring and prevention of infection. *Curr Protoc Mouse Biol*; 5(3):235-245.
<https://doi.org/10.1002/9780470942390.mo150023>.
- Hamm TE. 1986. Complications of viral and mycoplasmal infections in rodents to toxicology research and testing. Washington, DC: Hemisphere Publ Co.
- Hanna MG Jr, Nettesheim P, Richter CB, Tennant RW. The variable influence of host microflora and intercurrent infections on immunological competence and carcinogenesis. *Isr J Med Sci* 1973; 9(3):229-238.
- Hansen AK. Health status and the effects of microbial organisms on animal experiments. In: Svendsen P and Hau J (eds.) *Handbook of laboratory animal science. Vol. 1*. Boca Raton: CRC Press Inc. 1994, pp.125-153.
- Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill I, Emerson M, Altman DG. 2010. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*; 8(6):e1000412.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>.
- Kraft V. 1985. Virusinfektionen bei kleinen Versuchstieren. Einflüsse auf die biomedizinische Forschung. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*; 92:484-489.
- Kraft V, Deeny AA, Blanchet HM, Boot R. 1994. Recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guineapig and rabbit breeding colonies: Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health accepted by the FELASA Board of Management November 1992. *Lab Anim* 28(1):1-12.

- Kunstyr I. 1992. Diagnostic microbiology for laboratory animals. GV-SOLAS. Vol. 11. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Lipman NS, Homberger FR. 2003. Rodent quality assurance testing: use of sentinel animal systems. *Lab Anim (NY)* 32(5):36-43.
- Lussier G. 1988. Potential detrimental effects of rodent viral infections on long-term experiments. *Vet Res Contrib* 12(2-3):199-217.
- Lussier G. 1991. Detection methods for the identification of rodent viral and mycoplasmal infections. Subcommittee on Rodent Viral and Mycoplasmal Infections of the American Committee on Laboratory Animal Disease (ACLAD). *Lab Anim Sci* 41(3):199-225.
- Mähler Convenor M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, Raspa M. (FELASA working group on revision of guidelines for health monitoring of rodents and rabbits). 2014. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim* 48(3):178-192.
- Melby EC Jr, Balk MW. 1983. The importance of laboratory animal genetics, health, and the environment in biomedical research. Orlando: Academic Press.
- Mossmann H, Nicklas W, Hedrich HJ. 1998. Management of immunocompromised and infected animals. In: Kaufmann SHE (ed). *Methods in Microbiology*. Vol. 25. London: Academic Press, pp.109-186.
- National Research Council. 1991. Committee on Infectious Diseases of Mice and Rats. Infectious diseases of mice and rats. Washington, DC: National Academy Press.
- Nicklas W. 1996. Health monitoring of experimental rodent colonies: an overview. *Scand J Lab Anim Sci* 23:69-75.
- Nicklas W. 1999. Microbiological standardization of laboratory animals. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 112(6-7):201-210.
- Nicklas W, Kraft V, Meyer B. 1993 Contamination of transplantable tumors, cell lines, and monoclonal antibodies with rodent viruses. *Lab Anim Sci* 43(4):296-300.
- Nicklas W, Baneux P, Boot R, Decelle T, Deeny AA, Fumanelli M, Illgen-Wilcke B. (Federation of European Laboratory Animal Science Associations 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(1):20-42.
- Pakes SP, Benirschke K. 1971. Symposium on diseases of laboratory animals complicating biomedical research. *Am J Pathol* 64:624-769.
- Rehbinder C, Baneux P, Forbes D, van Herck H, Nicklas W, Rugaya Z, Winkler G. 1996. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig and rabbit experimental units. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health accepted by the FELASA Board of Management, November 1995. *Lab Anim* 30(3):193-208.
- Rehbinder C, Baneux P, Forbes D, van Herck H, Nicklas W, Rugaya Z, Winkler G. 1998. FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health. *Lab Anim* 32(1):1-17.
- Rehbinder C, Alenius S, Bures J, de las Heras ML, Greko C, Kroon PS, Gutzwiller A. 2000. FELASA recommendations for the health monitoring of experimental units of calves, sheep and goats. Report of the federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health. *Lab Anim* 34(4):329-350.

- Roe FJ, Grant GA. 1970. Inhibition by germ-free status of development of liver and lung tumours in mice exposed neonatally to 7,12-dimethylbenz(a)anthracene: implications in relation to tests for carcinogenicity. *Int J Cancer* 6(1):133-144.
- Schreiber H, Nettesheim P, Lijinsky W, Richter CB, Walburg HE Jr. 1972. Induction of lung cancer in germfree, specific-pathogen-free, and infected rats by N-nitrosoheptamethyleneimine: enhancement by respiratory infection. *J Natl Cancer Inst* 49(4):1107-1114.
- Van der Waaij D, van Bekkum DW. 1967. Resident infection in laboratory animal colonies and their influences on experiments. In: Conalty ML (ed) *Husbandry of Laboratory animals. Proceedings of the 3rd international symposium organized by the International Committee on Laboratory Animals.* London, New York: Academic Press, pp.373-386.

Haftungsausschluss

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