

Wat is de beste sentinelmuis of -rat?

R. Boot

VOORHEEN AFD. PROEFDIERMICROBIOLOGIE, LABORATORIUM VOOR
INFECTIEZIEKTENDIAGNOSTIEK EN SCREENING
ron.boot@rivm.nl

Met opmerkelijke regelmaat wordt de vraag opgeworpen welke stam men het beste kan kiezen als sentinel (verklikkerdier) bij muis en rat. Een sentinel dient om ongewenste virussen, bacteriën of parasieten te detecteren bij dieren die niet zelf kunnen worden onderzocht. Het ongewenste micro-organisme moet daartoe eerst worden overgebracht op de sentinel. Dat wordt meestal geprobeerd via aerosolen en het overbrenging van vuile bedding, maar dat lijkt niet altijd effectief (1). In ieder geval is het minder zeker dan door gezamenlijke huisvesting van broedier en sentinel waarbij direct contact bestaat. Bij de sentinel wordt gezocht naar eventuele ziekteverschijnselen en pathologische afwijkingen, naar microorganismen (direct onderzoek) of naar specifieke antistoffen (indirect onderzoek: serologie).

Welke stam(men) van muis en rat zijn als sentinel het beste?

Dit wordt in de eerste plaats bepaald door een genetisch bepaalde gevoeligheid voor infectie en/of het vermogen om specifieke antistoffen te vormen.

Voor veel virale, bacteriële en parasitaire infecties zijn verschillen gevonden in de gevoeligheid voor het ontwikkelen van klinische verschijnselen en (histo) pathologische afwijkingen tussen inteeltstammen van muis en rat (2). Ook in het boek Proefdierpathogene micro-organismen staan voorbeelden van infecties waarvoor zulke verschillen in gevoeligheid bekend zijn (3). Er kunnen ook verschillen zijn in de mate waarin micro-organismen kunnen worden gevonden via kweek of PCR. Tenslotte kunnen verschillen bestaan in het percentage dieren waarbij antistoffen aantoonbaar zijn (seroprevalentie).

De meeste informatie komt uit experimenten waarbij grote aantallen micro-organismen per injectie aan dieren werden toegediend. Op deze manier wordt de eerste verdedigingslinie van het dier, die bestaat uit de intacte huid en slijmvliezen, gepasseerd. Het zelfde gebeurt bij immunisaties waarop inteeltstammen in verschillende mate kunnen reageren, of anders reageren dan na natuurlijke infectie. Zo vormen muizen en ratten (maar niet cavia's) na immunisatie met *Haemophilus* H21-antigeen antistoffen tegen *Corynebacterium kutscheri*, maar na natuurlijke infectie met *Haemophilus* wordt geen enkele diersoort *C. kutscheri* seropositief.

Het is dus maar de vraag hoe relevant waarnemingen uit experimentele infecties en immunisaties zijn voor de monitoring via sentinels want bij natuurlijke infecties is een parenterale infectieroute niet aan de orde.

Natuurlijke infecties bij proefdieren zijn heel vaak latent, m.a.w. er zijn geen klinische verschijnselen en ook (histo) pathologische veranderingen zijn geen regel. Klinische beoordeling en pathologisch onderzoek zijn in wezen te ongevoelig als monitoringmethode. Dat neemt niet weg dat in geval van symptomen en sterfte pathologisch onderzoek altijd wel zinvol is.

Gevoeliger is onderzoek op aanwezigheid van micro-organismen middels bijvoorbeeld serologie.

Voor beide diersoorten is literatuur verzameld over mogelijke stamverschillen in gevoeligheid voor en serologische respons op natuurlijke infecties, en over experimenteel onderzoek met orale of respiratoire toediening die in zekere mate model kan staan voor wat bij natuurlijke infectie gebeurt.

BIJ TOEPASSING VAN KWEEK / PCR OF PATHOLOGISCH ONDERZOEK zijn bij beide diersoorten wel verschillen gevonden in detectie bij verschillende stammen. Er is duidelijk meer informatie voor de muis (Fig. 1) dan voor de rat (Fig. 2). De verschillen tussen de stammen zijn met een kleurcodering aangegeven. In groen de stammen waarbij (relatief) veel dieren via kweek of PCR positief werden gevonden, of lesies vertoonden bij (histo) pathologisch onderzoek. Deze stammen lijken daarmee bruikbaar als sentinel. In rood de stammen die niet geschikt lijken omdat het agens, c.q. de infectie slechts bij weinig dieren kon worden gevonden.

Bij de muis kan geen stam worden aangewezen als 'beste sentinel' voor alle micro-organismen. Het gaat hier overigens in alle gevallen om immuuncompetente dieren. Immundeficiënte dieren bieden als sentinel voor bacteriële en parasitaire infecties geen voordeel, omdat ze niet gevoeliger zijn voor natuurlijke infectie dan immuuncompetente dieren. Voor virale infecties ligt dat mogelijk anders.

Figuur 1 (boven).

Verschillen in detectie na 'natuurlijke' infectie met enkele virussen en bacteriën bij inbred en outbred muizen.

Figuur 2 (onder).

Verschillen in detectie na 'natuurlijke' infectie met enkele virussen en bacteriën bij inbred en outbred ratten.

micro-organisme	route
<i>C. kutscheri</i>	oraal
<i>C. kutscheri</i>	nat. inf
<i>Ectromeliavirus</i>	nat. inf
<i>H. billis</i>	oraal
<i>H. billis</i>	nat. inf
MHV	oraal
MHV-JHM	oraal
MPV-1	gastraal
MVM-i	oraal/nat. inf
<i>P. pneumotropica</i>	nat. inf
<i>P. pneumotropica</i>	nat. inf
<i>S. agalactiae</i>	nat. inf
<i>S. moniliformis</i>	oraal
<i>Salm. oranienburg</i>	nat. inf

<i>C. kutscheri</i>	oraal
<i>C. kutscheri</i>	nat. inf
CAR bacillus	tracheaal
<i>M. pulmonis</i>	nasaal/tracheaal
MHV	nasaal
MPV-1	gastraal
MPV-1	nat. inf
MVM-i	oraal/nat. inf
Norovirus S7	nat. inf
<i>S. moniliformis</i>	oraal

micro-organisme	route
<i>C. kutscheri</i>	nat. inf
<i>C. piliforme</i>	nat. inf
<i>M. pulmonis</i>	nasaal
Theilovirus	oraal
<i>C. kutscheri</i>	nat. inf
<i>Haemophilis</i>	nat. inf
<i>M. pulmonis</i>	nasaal
<i>S. moniliformis</i>	nat. inf
SDAV	nat. inf
Theilovirus	oraal
Theilovirus	nat. inf

testtype	A	AKR	BALB/c	C57BL/6	C3H	CBA	DBA/2	DBA/1	dd-Y	FVB	ICR	ICGN	NIH	NMRI	SJL	referentie
kweek	■		■	■	■	■	■		■		■	■				4
kweek																5
pathologie	■	■	■	■				■								6
PCR				■	■											7
PCR				■		■	■									8
pathologie															■	9
pathologie																10
PCR				■	■			■								11
PCR			■	■	■					■		■				12
kweek				■				■								13
kweek				■											■	14
kweek				■	■			■								15
pathologie			■	■	■			■								16
path./kweek			■					■								17
agglutinatie	■		■	■	■	■			■		■					4
agglutinatie								■				■				5
ELISA			■	■												18
ELISA			■	■	■											19, 20
CF	■		■	■	■			■								21
ELISA/IFA/HAI			■	■	■			■			■					11
ELISA			■	■	■	■	■			■			■		■	22
ELISA			■	■	■					■						12
ELISA/IFA			■	■	■			■			■					23
IFA			■	■	■			■			■					16

testtype	BD IX	BN	BUF	CD	F344	LE	LEW	PVG	RP	SD	SHR	WAG	Wistar	WKY	referentie
kweek		■			■					■			■		24
pathologie		■				■	■	■			■			■	25
kweek					■		■								26
PCR				■						■					27
agglutinatie		■			■					■			■		24
ELISA		■	■						■			■			28
ELISA					■		■								26, 29
ELISA	■	■			■		■				■			■	30
CF										■	■				31
ELISA				■						■					27
ELISA	■	■			■		■							■	27

■ hoog
■ intermediair
■ laag

OOK BIJ TOEPASSING VAN SEROLOGIE zijn bij beide diersoorten verschillen gevonden tussen inteeltstammen. Ook hier is duidelijk meer informatie voor de muis (Fig. 1) dan voor de rat (Fig. 2). In groen de stammen die bruikbaar lijken omdat ze (relatief) goed seroconverteren. In rood de stammen die dat niet doen. Ook nu kan bij de muis geen stam worden aangewezen als beste sentinel voor alle micro-organismen.

Naast de inteeltstammen werden in enkele studies ook outbred dieren gebruikt zoals CD- en SD-ratten.

Bij onderzoek met MPV-1 (voorheen MOPV) gaven alle muizenstammen wel een serologische respons maar de mate waarin was afhankelijk van de toegediende virusdosis, de leeftijd bij inoculatie, en de keuze van het antigeen en het testtype (11). Ook bij MVM-1-infecties wordt de antistofrespons door de infectieuze dosis bepaald (12). De waarnemingen die gedaan zijn bij infecties door een bepaald micro-organisme kunnen enigszins variëren tussen de studies.

De meeste microorganismen worden vermeld in de FELASA aanbevelingen voor de monitoring van SPF-dierkolonies. Voor Theilovirus (27) en Murine Norovirus (23) geldt dit niet. Voor verschillende micro-organismen uit de FELASA aanbevelingen is niets bekend over genetisch bepaalde verschillen in gevoeligheid, zelfs niet na experimentele infectie. Dat geldt bijvoorbeeld voor Adenovirussen, Encephalitozoon cuniculi, PVM, Reo-3-virus, EDIM-virus.

Als de gevoeligheid voor natuurlijke infectie c.q. de antistofrespons genetisch is bepaald, de genen die een rol spelen onbekend zijn en waarschijnlijk verschillen per micro-organisme (2), wordt het lastig kiezen. Het ligt dan in de rede sentinels te gebruiken waarbij zo veel mogelijke genetische diversiteit aanwezig is. Dat betekent een keus voor (immuuncompetente) outbred dieren en niet voor een inteeltstam. Overigens kan de mate van inteelt bij random bred dieren aanzienlijk zijn en kunnen ook bij outbred ratten flinke verschillen bestaan in de gevoeligheid voor en hun respons op infectie. De vaak als sentinel gebruikte SD-ratten en CD-ratten hebben een gemeenschappelijke herkomst maar bleken duidelijk te verschillen in gevoeligheid voor en respons op Theilovirus-infectie (27). Inteeltstammen lijken wel bruikbaar als men alleen wil monitoren op een bepaalde infectie en bekend is dat een bepaalde stam het beste antistoffen tegen het micro-organisme maakt (Fig. 3, 4). Zo iets is denkbaar bij de beoordeling van de effectiviteit van maatregelen van bestrijding en (opnieuw) wering, na een infectie-uitbraak.

De methode van onderzoek kan mede bepalend zijn voor de keus van een stam. Zo kan *C. kutscheri* gemakkelijk worden gekweekt uit het cecum en dus waarschijnlijk ook wel via PCR worden gevonden in de feces bij rattenstammen die serologisch tot de low-responders moeten worden gerekend (24).

Literatuur

- 1 Boot R. *Overdracht van proefdierpathogene bacteriën en virussen via bedding*. Biotechniek 2000; 39: 188-91
- 2 Kimman TG. *Genetics of Infectious Disease Susceptibility*. Kluwer Academic Publishers, Boston (2001).
- 3 Boot R, Van der Logt JTM. *Proefdierpathogene microorganismen*. RIVM, Bilthoven, 2004
- 4 Amao H, Komukai Y, Sugiyama M et al. *Differences in susceptibility of mice among various strains to oral infection with Corynebacterium kutscheri*. Exp. Anim. 1993; 42: 539-45
- 5 Amao H, Komukai Y, Sugiyama M, et al. *Natural habitats of Corynebacterium kutscheri in subclinically infected ICGN and DBA/2 strains of mice*. Lab. Anim. Sci 1995; 45: 6-10
- 6 Fenner, F. *Poxviruses of laboratory animals*. Lab. Anim. Sci. 1990; 40: 469-80
- 7 Jacobsen K, Mahabir Y, Briemeier M et al. *Monitoring a mouse colony for Helicobacter bilis using a Helicobacter-genus-specific nested PCR*. Lab. Anim. 2005; 39: 400-12
- 8 Fox JG, Yan LL, Dewhirst FE et al. *Helicobacter bilis sp. nov., a novel Helicobacter species isolated from bile, livers and intestines of aged inbred mice*. J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 445-54
- 9 Barthold SW, Smith AL. *Role of host age and genotype in murine enterotropic coronavirus infection*. Pp 371-6 in Coronaviruses (H Laude & JF Vautherot eds.) Plenum Press New York, 1994
- 10 Garlinghouse LE, Smith AL. *Responses of mice susceptible or resistant to lethal infection with mouse hepatitis virus strain JHM, after exposure by a natural route*. Lab. Anim. Sci. 1985; 35: 469-72
- 11 Besselsen DG, Wagner AM, Loganbill JK. *Effect of mouse strain and age on detection of Mouse parvovirus 1 by use of serologic testing and polymerase chain reaction analysis*. Comp. Med. 2000; 50: 498-502
- 12 Janus LM, Mähler M, Köhler et al. *Minute virus of mice: antibody response, viral shedding and persistence of viral DNA in multiple strains of mice*. Comp. Med. 2008; 58: 360-8
- 13 Hoag WG, Wetmore PW, Rogers J et al. *A study of latent Pasteurella pneumotropica infection in a mouse colon*. J Infect. Dis 1962; 111: 135-40
- 14 Rehbindler C, Tschäppät V. *Pasteurella pneumotropica isoliert von der Konjunktivalschleimhaut gesunder Laboratoriumsmäuse*. Z. Versuchstierk. 1974; 16: 359-65
- 15 Geistfield JG, Weisbroth SH, Janssen EA et al. *Epizootic of group B Streptococcus agalactiae serotype V in DBA/2 mice*. Lab. Anim. Sci. 1998; 48: 29-33
- 16 Wullenweber M, Kaspereit-Rittinghausen J, Faroucq M. *Streptobacillus moniliformis epizootic in barrier-maintained C57BL/6J mice and susceptibility to infection of different strains of mice*. Lab. Anim. Sci. 1990; 40: 608-12.
- 17 Lentsch RH, Kirchner BK, Dixon LW, Wagner JE. *A report of an outbreak of Salmonella oranienburg in a hybrid mouse colony*. Vet. Microbiol. 1983; 8: 105-9
- 18 Kendall LV, Riley LK, Hook RR et al. *Antibody and cytokine responses to the cilium-associated respiratory bacillus in BALB/c and C57BL/6 mice*. Infect. Immun. 2000; 68: 4961 - 7
- 19 Lai WC, Linton G, Bennett M et al. *Genetic control of resistance to Mycoplasma pulmonis infection in mice*. Infect. Immun. 1993; 61: 4615-21
- 20 Cartner SC, Simecka JW, Lindsey JR et al. *Chronic respiratory mycoplasmosis in C3H/HeN and C57BL/6N mice: lesion severity and antibody response*. Infect. Immun. 1995; 63: 4138-42
- 21 Nakanaga K, Ishida T, Fujiwara K. *Differences in antibody production against mouse hepatitis virus (MHV) among mouse strains*. Lab. Anim. 1983; 17: 90-4
- 22 Filipovska-Naumovska E, Abyubakar SM, Thompson et al. *Serologic prevalence of MPV-1 in mouse strains in a commercial laboratory mouse colony determined by using VP1 antigen*. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci 2010; 49: 437-42
- 23 Kitagawa Y, Tohya Y, Ike F et al. *Indirect ELISA and indirect immunofluorescence antibody assay for detecting the antibody against Murine Norovirus S7 in mice*. Exp. Anim. 2010; 59: 47-55
- 24 Suzuki E, Michida K, Nakagawa M. *Naturally occurring subclinical Corynebacterium kutscheri infection in laboratory rats: strain and age related antibody response*. Lab. Anim. Sci. 1988; 38: 42-5
- 25 Hansen AK, Svendsen O, Mollegaard-Hansen KE. *Epidemiological studies of Bacillus piliformis infection and Tyzzer's disease in laboratory rats*. Z. Versuchstierk. 1990; 33: 163
- 26 Davis JK, Thorp RB, Maddox PA et al. *Murine respiratory mycoplasmosis in F344 and LEW rats: evolution of lesions and lung lymphoid cell populations*. Infect. Immun. 1982; 36: 720-29
- 27 Drake MT, Riley LK, Livingston RS. *Differential susceptibility of SD and CD rats to a novel rat Theilovirus*. Comp. Med. 2008; 58: 458-64
- 28 Boot R, Van den Berg L, van Lith H et al. *Rat strains differ in antibody response to natural Haemophilus spp infection*. Lab. Anim. 2005; 39: 413-20
- 29 Simecka JW, Davis JK, Cassell GH. *Serum antibody does not account for differences in the severity of chronic respiratory disease caused by Mycoplasma pulmonis in LEW and F344 rats*. Infect. Immun. 1989; 57: 3570-5
- 30 Boot R, Van den Berg L, Van Lith HA. *Rat strains differ in antibody response to Streptobacillus moniliformis infection*. Scand. J. Lab. Anim. Sci. 2010, in druk
- 31 Carthew P, Singer RP. *Diagnosis of sialodacryoadenitis virus infection of rats in a virulent enzootic outbreak*. Lab. Anim. 1981; 15: 339-42