

Scanbur Airshower – Allergen Control

When Validation matters...

The Airshower protects staff from exposure to allergens

“...The real efficiency of the Airshower is 99.8% at the shoulder and 91.9% at the thigh...”

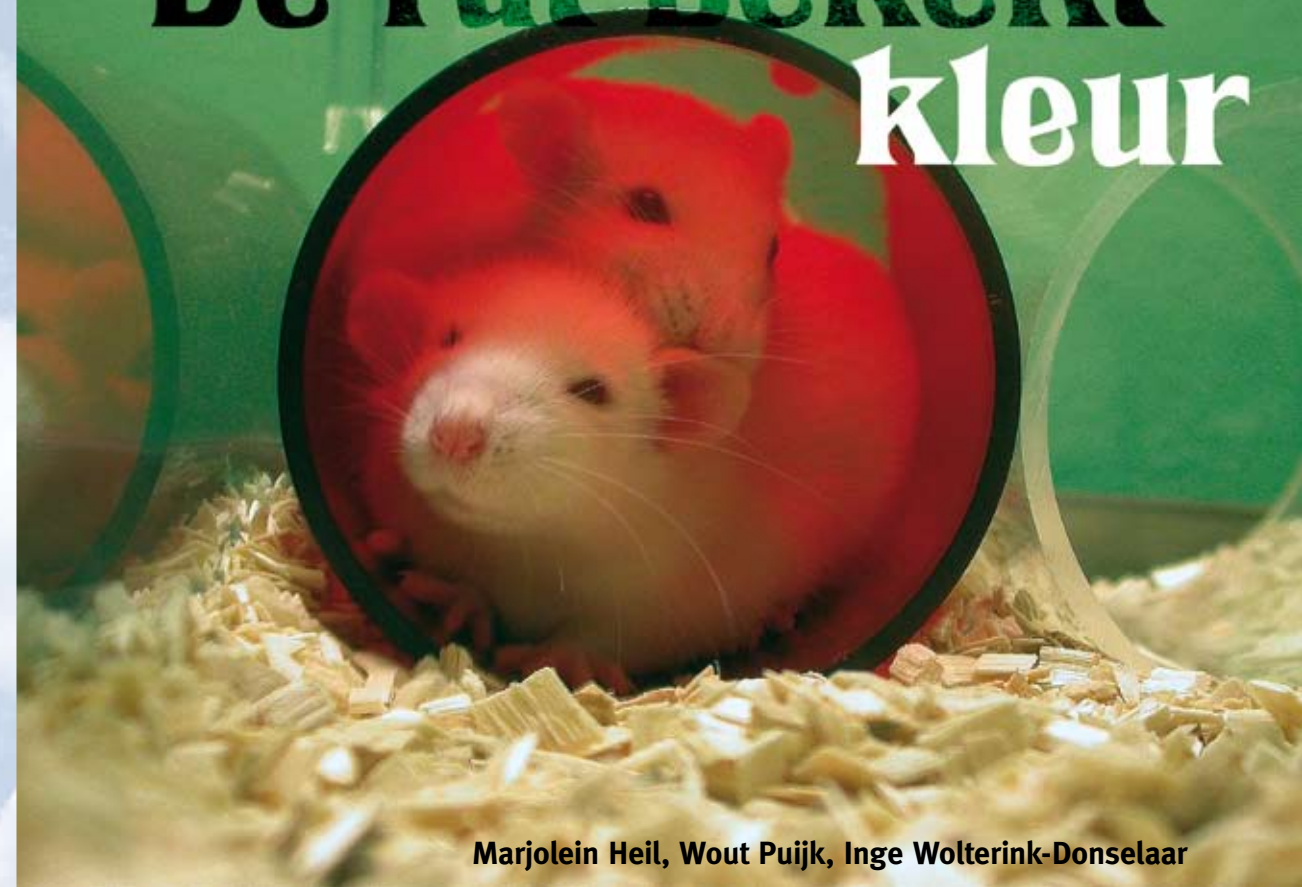
Source: Thomas C. Krohn et al. 2005, poster at 35th ScandLAS Symposium, Uppsala, Sweden.



SCANBUR A/S
Denmark
Tel. +45 56 86 56 00
info-dk@scanbur.eu

For more information please visit our website www.scanbur.eu

De rat hekent kleur



Marjolein Heil, Wout Puijk, Inge Wolterink-Donselaar

De ratten geven de voorkeur aan de rode buis en liggen er graag samen in.

Rudolf Magnus Instituut voor Neurowetenschappen, Divisie Hersenen, Afdeling Farmacologie, umc-Utrecht
Correspondentieadres: i.g.wolterink-donselaar@umcutrecht.nl

Samenvatting

Als kooiverrijking voor ratten wordt vaak het espenhouten blokje gebruikt. Echter, de blokjes zijn weinig hygiënisch, kunnen schade veroorzaken aan de schoonmaakapparatuur van de kooien en moeten regelmatig worden vernieuwd. Als aanvulling of alternatief kunnen kunststof buizen als kooiverrijking worden gebruikt.

In deze studie is de mogelijke voorkeur van ratten voor rode, amberkleurige of kleurloze buizen onderzocht. Alle buizen zijn doorzichtig, wat de dierverzorgers in staat stelt de ratten te controleren. Ratten bleken een sterke voorkeur voor de rode buis te hebben. Een waarschijnlijke verklaring hiervoor ligt in de gevoeligheid van het rattenoog voor kleur, waardoor de rat de rode buis als donker ervaart. Op basis van de voorkeur van de rat is het aan te bevelen om, indien buizen als kooiverrijking gebruikt worden, te kiezen voor een rode buis.

Inleiding

De Nederlandse Regeling huisvesting en verzorging van proefdieren (1) stelt eisen aan de huisvesting van proefdieren en schrijft kooiverrijking voor. Bij het Rudolf Magnus Instituut voor Neurowetenschappen, UMC Utrecht, afdeling Farmacologie is een dierenafdeling met ratten en muizen. De muizen krijgen als kooiverrijking een tissue, de ratten krijgen een blokje van espenhout met de afmeting van 10 x 4 x 4 cm (l x b x h). Aan houtblokjes zit een aantal nadelen. Ze zijn niet goed schoon te maken en de blokjes kunnen achterblijven in de kooi waardoor er beschadigingen zouden kunnen optreden aan het geautomatiseerde beddingafvoersysteem. De houtblokjes moeten ook telkens worden vernieuwd.

Vanwege deze bezwaren onderzochten we of een gekleurde her te gebruiken kunststof buis een meer geschikte vorm van kooiverrijking zou kunnen zijn dan een houtblokje. Als kooiverrijking zijn er rode, amberkleurige (geeloranje) en kleurloze (als vensterglas) buizen op de markt. Een stukje pvc-regenpijp zou ook kunnen worden gebruikt.

De vraagstelling is nu: aan welke kleur buis geeft de rat de voorkeur als het om kooiverrijking gaat? Hierbij moeten we ons eerst afvragen of ratten eigenlijk wel kleuren kunnen zien. Het netvlies (retina) van de mens bevat twee typen lichtgevoelige cellen: kegeltjes en staafjes. Kleuren onderscheiden is mogelijk dankzij drie typen kegeltjes met verschillende fotonpigmenten. Staafjes zijn erg lichtgevoelig en kunnen voornamelijk kortere golflengten (<380 nm ofwel het uv-gebied) waarnemen, maar geen kleuren (ofwel licht met hogere golflengten).

Lange tijd is gedacht dat het netvlies van ratten (en de meeste andere zoogdieren behalve de aap en de mens) geen kegeltjes bevatten, waardoor ratten geen kleuren zouden kunnen zien (2, 3). Echter, onderzoek heeft uitgewezen dat ongeveer 1% van de lichtgevoelige cellen in het netvlies van de rat uit kegeltjes bestaat (4).

Ratten hebben dus voornamelijk staafjes. De staafjes zorgen er voor dat de rat in het schemerlicht en in de nacht goed kan zien. De staafjes zijn vooral gevoelig voor blauwgroen licht, matig gevoelig voor amber licht en vrijwel ongevoelig voor rood licht. De rat kan dus bij rood licht met zijn staafjes vrijwel niets zien.

Bovengenoemd onderzoek heeft aangetoond dat ratten, naast de staafjes, twee typen kegeltjes hebben, één type dat gevoelig is voor ultraviolet licht (de hoogste gevoeligheid

Tabel 1. Overzicht van de proefopzet voor het bepalen van de voorkeur van de kleur en plaats van de buizen.

test 1a volgorde 1	max. 60 lux in dierkamer	normaal dag/nachtritme	amber 26 lux	kleurloos 37 lux	rood 23 lux
test 1b volgorde 2	max. 60 lux in dierkamer	normaal dag/nachtritme	rood 23 lux	kleurloos 37 lux	amber 26 lux
test 2a volgorde 1	max. 60 lux in dierkamer	omgekeerd dag/nachtritme	amber 26 lux	kleurloos 37 lux	rood 23 lux
test 2b volgorde 2	max. 60 lux in dierkamer	omgekeerd dag/nachtritme	rood 23 lux	kleurloos 37 lux	amber 26 lux

bij 359 nanometer = nm) en een tweede type dat gevoelig is voor licht in het middensegment van het zichtbare kleurenspectrum (de hoogste gevoeligheid bij 510 nm ofwel blauwgroen licht). De 'ultraviolette' kegeltjes zijn ongevoelig voor amber licht (570-600 nm) en rood licht (630-750 nm). De 'blauwgroene' kegeltjes hebben een matige gevoeligheid voor amber licht en een lage gevoeligheid voor rood licht (4).

Uit het bovenstaande kunnen we concluderen dat ratten met behulp van staafjes en kegeltjes licht kunnen waarnemen. Echter, ze zullen amber licht slechts matig kunnen waarnemen en rood licht vrijwel als donker ervaren (Tabel 2).

In dit artikel beschrijven we het onderzoek naar de voorkeur van de rat voor kooiverrijking met een kleurloze (als vensterglas), amberkleurige en rode buis. Alle drie de buizen waren rond en doorzichtig. De kleurloze buis zal al het tl-licht (wit licht, dat is samengesteld uit alle kleuren van violet tot en met rood) doorlaten. De amberkleurige buis laat alleen oranjegeel licht door en de rode buis alleen rood licht. Om de vraag te beantwoorden welke buis bij de rat de voorkeur zou hebben, hebben we overwogen om ook een ondoorzichtige grijze pvc-buis (regenpijp) aan te bieden. We hebben echter niet voor deze optie gekozen omdat de diervverzorgers dan de ratten moeilijk kunnen controleren.

Materiaal en methode

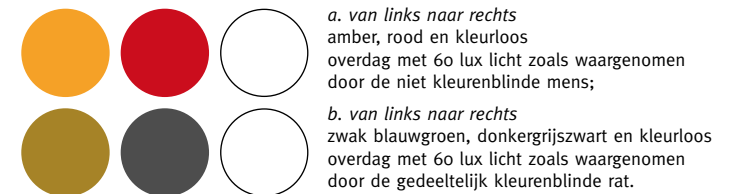
Dieren en materialen

We hebben twee groepen van acht mannelijke surplusratten (CrI:WU) gebruikt (Charles River) met een gemiddeld gewicht van 149 g bij de aanvang van het experiment. De ratten werden per twee gehuisvest in een macrolon type IV kooi met een bodemoppervlakte van 1610 cm² en een rooster type -116 (Tecniplast). De bodem was voorzien van een laagje espenbedding (BMI).

Voor de kooiverrijking hebben we ronde buizen gebruikt in drie verschillende kleuren: R = rood, A = amber en K = kleurloos. De buizen (of zogenaamde 'tunnels', Tecnilab) hebben een lengte van 15,3 cm en een diameter van 7,5 cm. Bij normaal tl-licht (60 lux) is de lichtintensiteit in de buizen R, A en K respectievelijk 23, 26 en 37 lux (Luxmeter Color master 3 F; Gossen). Echter, er dient wel rekening gehouden te worden met het feit dat luxmeters altijd afgestemd zijn op de gevoeligheid van het menselijk oog. De waarneming van de lichtintensiteit door de rat zal dus kunnen afwijken van de gemeten waarden.

De buizen zijn gemaakt van doorzichtig kunststof (polycarbonaat). Hierbij moeten we opmerken dat de rat de kleur van de buizen anders zal waarnemen dan de mens (Afb. 1). Gemakshalve geven we steeds de kleur van de buizen aan zoals wij die waarnemen.

Afbeelding 1. Overzicht van de buiskleuren:

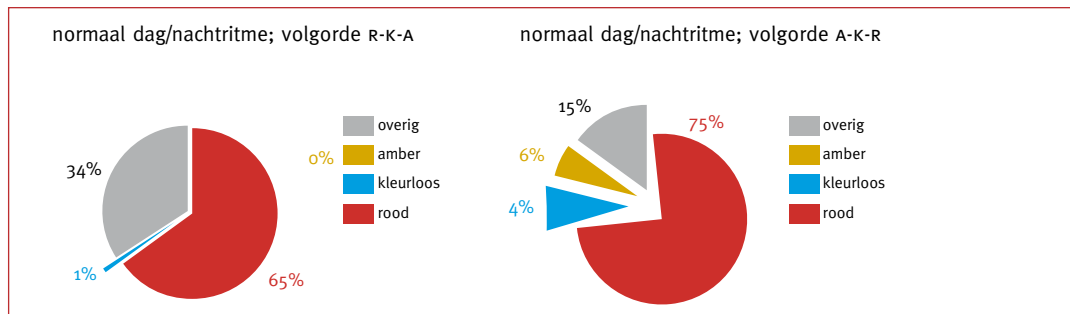


Tabel 2. Overzicht van de kleuren en de bijbehorende golflengten.

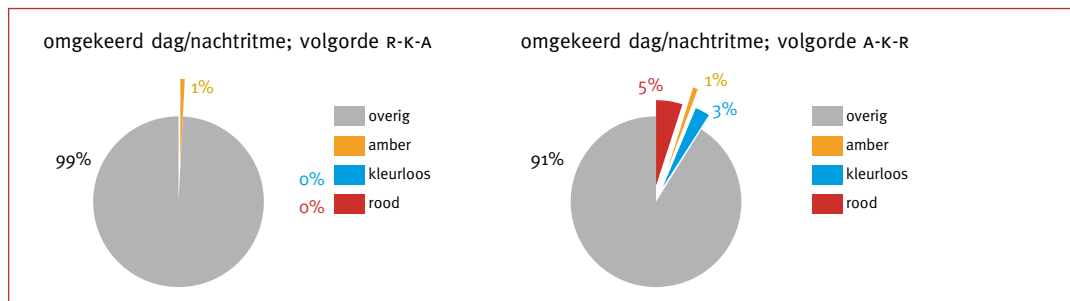
kleur	golflengte
ultraviolet	< 380 nm
violet	380-420 nm
blauwviolet	420-450 nm
blauw	450-480 nm
blauwgroen	480-510 nm
groen	510-550 nm
geelgroen	550-570 nm
geel	570-590 nm
oranje	590-600 nm
oranjerood	600-630 nm
rood	630-750 nm

Methoden

In elke kooi werden twee ratten gehuisvest met elk drie buizen die in de linkerhoek achter in de bak werden gelegd. Deze werden vastgeplakt met tape zodat de buizen op de goede plek zouden blijven liggen. We hebben het onderzoek over vier testen verdeeld met acht ratten per test waarbij het dag/nachtritme en de buizenvolgorde werd gevarieerd. Twee testen werden onder een normaal dag/nachtritme (07.00 uur licht aan-19.00 uur licht uit) uitgevoerd, waarbij de dieren zich overdag in de rustfase bevonden en twee testen waarbij het dag/nachtritme werd omgekeerd (07.00 uur licht uit-19.00 uur licht aan), om tijdens kantooruren onder rood licht de voorkeur van de dieren voor de buizen tijdens hun actieve fase te kunnen scoren. Voorts werd beredeneerd, dat wanneer de dieren een voorkeur voor een bepaalde kleur buis zouden hebben, dat ook het geval zou moeten zijn wanneer de buizen van plaats verwisseld zouden zijn. De drinkfles zou ook bepalend kunnen zijn voor de voorkeur van de kleurkeuze wanneer de buis onder de fles zou liggen. Ook de voerruif mocht niet bepalend zijn voor de kleurkeuze. Om die reden werden per lichtregime twee testen uitgevoerd met verschillende volgorde van de buizen. Per test werd vijf keer per dag gedurende twee dagen gekeken of de ratten, verdeeld over vier kooien, in een van de buizen lagen. Aldus werden per test in totaal 80 (vijf keer per dag x acht ratten x twee dagen) waarnemingen verricht. In de laatste twee testen werden andere ratten (9 t/m 16) gebruikt omdat de ratten van de eerste groep (1 t/m 8) te groot en te zwaar waren geworden. De ratten pasten niet meer samen in de buis wat ze eerder wel vaak deden.



Afbeelding 2. Relatieve voorkeur van ratten (1 t/m 8) voor de kleur van de buis onder een normaal dag/nachtritme (07.00 uur licht aan – 19.00 uur licht uit).



Afbeelding 3. Relatieve voorkeur van ratten (9 t/m 16) voor de kleur van de buis onder een omgekeerd dag/nachtritme (07.00 uur licht uit – 19.00 uur licht aan).

Alleen de amber en de rode buis werden van plaats veranderd omdat uit de data van test 1a (Afb. 2) al duidelijk was dat de rode buis en/of de plaats van de rode buis de voorkeur had. Om de afstand tussen de rode en de amberkleurige buis zo groot mogelijk te maken gedurende de metingen bleef de kleurloze buis in het midden liggen. We waren voornamelijk geïnteresseerd in de rode buis en de plaats ervan in de kooi.

Resultaten

Bij een normaal dag/nachtritme (test 1a en 1b), waarbij de ratten onder maximaal 60 lux licht werden gehuisvest, lagen de ratten het liefst in een rode buis (Afb. 2). Ook als de buizen werden verwisseld (van volgorde 1 naar volgorde 2) kozen de meeste ratten de rode kleur.

Bij een omgekeerd dag/nachtritme (test 2a en 2b, test overdag onder rood licht) waren de ratten tijdens de observatieperiode uit hun rustfase en heel actief (Afb. 3). Ze hadden schijnbaar geen interesse in de buizen. Ze bevonden zich de meeste tijd op de buizen en niet erin, ook niet als de buizen verwisseld werden.

Discussie en conclusies

Tijdens de testperiode werd gekeken naar de voorkeur van ratten voor de amberkleurige, de rode of de kleurloze buis en de plaats in de kooi van de verschillende buizen. Bij een normaal dag/nachtritme (07.00 uur licht aan, 19.00 uur licht uit) waarbij de ratten onder maximaal 60 lux licht werden gehuisvest, bleken de ratten een unanieme voorkeur te hebben voor de rode buis, onafhankelijk van de positie in de kooi.

Ratten zijn schemer- en nachtdieren die tijdens hun rustfase van nature het liefst doorbrengen in een donkere ruimte. Het is dus aannemelijk dat ook laboratoriumratten zullen kiezen voor de donkerste ruimte in hun leefomgeving. De gemeten lichtintensiteit in de rode buis is weliswaar iets lager dan die in de amberkleurige buis (respectievelijk 23 en 26 lux), maar deze werd bepaald met een luxmeter die is ingesteld op de gevoeligheid van het menselijk oog. Het is onwaarschijnlijk dat de voorkeur van de rat op basis van dit kleine verschil bepaald werd. Een meer aannemelijke verklaring lijkt te zijn gelegen in de gevoeligheid van het rattenoog voor rood, amber en wit licht. Zoals in de inleiding beschreven, stellen de fotopigmenten in de staafjes en kegeltjes van de rattenretina het dier vrijwel niet in staat om rood licht waar te nemen. De rode buis laat alleen rood licht door, waardoor de omstandigheden daarin door de rat waarschijnlijk als duister worden ervaren ten opzichte van de omgeving. De staafjes en kegeltjes van de rat kunnen amber licht nog wel enigszins waarnemen, zodat het licht in de amber buis door de rat als schemer wordt ervaren. Het witte licht (380-750 nm) in de kleurloze buis kunnen de ratten zeer goed waarnemen, met zowel staafjes als kegeltjes. In de rustfase zal de rat, gezien het natuurlijk gedrag, voor deze kleurloze buis duidelijk geen voorkeur hebben. Het ligt dus voor de hand dat de rat de rode buis als veel donkerder ervaart dan de amberkleurige en de kleurloze buis. Gezien de spectrale gevoeligheid van de fotoreceptoren kan worden geconcludeerd dat niet zozeer de rode kleur van de buis maar de door het dier ervaren lichtomstandigheden de voorkeur van de ratten heeft bepaald. Op basis van deze verklaring valt te verwachten dat ratten, wanneer ze de keuze hebben tussen alleen een kleur-

loze en een amberkleurige buis, ze de voorkeur zullen geven aan de amberkleurige buis. Bij een omgekeerd dag/nachtritme waren de ratten tijdens het scoren niet in hun rust-fase en heel actief. Ze hadden schijnbaar geen interesse in de buizen. Ze bevonden zich bij de meeste waarnemingen op de buizen en niet er in, ook niet als de buizen verwisseld waren. Een verklaring hiervoor is het feit dat ratten onder roodlichtcondities de omgeving als duister ervaren en daarom geen kleuren kunnen onderscheiden. Onder deze omstandigheden valt een voorkeur voor een kleur buis niet te bepalen.

In het onderzoek waren twee kleine ratten per kooi aanwezig, die frequent tegelijkertijd in één buis bleken te liggen. Twee grote ratten passen niet samen in één buis. Het is daarom de vraag of een buis met een lengte van 15,3 cm en diameter van 7,5 cm wel een goede kooiverrijking is voor grotere ratten. Het feit dat niet aan deze behoefte kan worden voldaan, kan stress tot gevolg hebben. Introductie van dergelijke kooiverrijking bij grote ratten zou dan tot meer, in plaats van minder ongerief kunnen leiden. In dat geval zou een buis met een grotere diameter of twee kleine buizen per kooi als kooiverrijking gebruikt kunnen worden.

Het onderzoek naar het gebruik van buizen als kooiverrijkmateriaal heeft aangetoond dat ratten de voorkeur geven aan een rode buis. De voorkeur voor de rode kleur buis van de door ons geteste albinoratten (CrI:WU) mag niet zo maar geëxtrapoleerd worden naar gepigmenteerde ratten. Het lijkt zinvol om het 'buisenonderzoek' te herhalen met gepigmenteerde ratten om te zien of deze dieren dezelfde voorkeur hebben.

Tegenwoordig zijn ook vierkante rode buizen voor ratten (15,4 x 9 x 9 cm) verkrijgbaar, de zogenaamde 'rodent retreats' (Tecnilab). Het voordeel hiervan zou kunnen zijn dat de dieren er makkelijker op kunnen blijven liggen dan op een ronde buis. Hier hebben wij geen onderzoek naar gedaan. Een ander alternatief voor grotere ratten, die graag tegen elkaar aan willen liggen, zou de achthoekige rode 'hut' (Tecnilab) kunnen zijn. In feite is dit een kooiverrijking voor cavia's (20,5 x 15,7 x 11,5 cm). Het voordeel van deze hut is dat hij een open onderkant heeft waardoor feces en urine direct in de bedding terechtkomen. De hut zou dan relatief minder vaak verschoond hoeven te worden.

Dankwoord

Onze dank gaat uit naar Gijs den Hartog (Tecnilab) voor de snelle levering van de buizen. Jan Brakkee en Ruth Damsteegt voor het kritisch doorlezen van het manuscript en Jan Doorn voor het maken van de foto.

Literatuur

- 1 De Nederlandse Regeling huisvesting en verzorging van proefdieren
http://www.vet.uu.nl/nca_nl/userfiles/other/regeling_huisvesting_en_verzorging_dieren.pdf
- 2 Maclean DG (1962) *Inleiding tot de biologie*. p. 129. (incompleteet)
- 3 Van der Gulden WJL, Kruijt BC, Beynen AC, Brandenburg JT, Janssen GT, Noordergraaf EM (2000) *Proefdierkunde, biotechnisch handboek*: pp. 338 – 339.
- 4 Jacobs GH, Fenwick JA, Williams GA (2001) *Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights*, *The Journal of Experimental Biology* 204: 2439-2446. <http://jeb.biologists.org/cgi/content/full/204/14/2439>

perfect quality in animal nutrition

For over 40 years Hope Farms has been the reliable choice of many laboratories in Europe. From now on the Hope Farms product range is marketed under the new brand name ab diets. The ab diets products range from conventionally clean and sterilizable diets to irradiated diets in small packs for isolators. Fixed formula are produced according to GMP+ and GLP standards with analysis on every batch.

Purified diets are one of our specialties. We develop any diet you need for your scientific research. ab diets is the best choice for small batches of 15 kg and fast delivery.

For more information please call:
+31 (0)348 574766 or e-mail info@abdiets.com

AB DIETS IS DISTRIBUTED BY ARIE BLOK BV
P.O. BOX 30, 3440 AA WOERDEN · THE NETHERLANDS

If reliability is important, there is only one option...

abdiets
animal nutrition

