

Aus dem Institut für Tierschutz, Tierverhalten und Versuchstierkunde
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera,
als Refinement an der Nacktmaus**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kerstin Fiebig
Tierärztin aus Dingolshausen

Berlin 2021
Journal-Nr.: 4266

Aus dem Institut für Tierschutz, Tierverhalten und Versuchstierkunde
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera, als Refinement an der Nacktmaus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kerstin Fiebig
Tierärztin
aus Dingolshausen

Berlin 2021

Journal-Nr.: 4266

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Christa Thöne-Reineke
Zweiter Gutachter: PD Dr. Roswitha Merle
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Marcus Fulde

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

mice, laboratory animals, animal welfare, body temperature, thermal infrared imagery,
diagnostic techniques

Tag der Promotion: 07.05.2021

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-113-1

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2021

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Ein besonderer Dank an meinen Lebensgefährten, der mir neuen Lebensmut in den tiefsten Stunden gab. Kein Geschenk ist kostbarer als Vertrauen.

Dank der Wurzel, die ich neu Familie nennen kann, egal wo und wie der Wind mich hertrug.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Statistische Grafiken	V
Tabellenverzeichnis.....	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
1. Einleitung.....	1
2. Literatur	3
2.1. Physiologie der Maus.....	3
2.1.1. Energiehaushalt der Maus.....	3
2.1.2. Wärmehaushalt der Maus.....	4
2.1.3. Thermoregulation der Maus.....	8
2.2. Temperaturmessverfahren.....	11
2.3. Thermografie.....	13
2.3.1. Anwendung von infraroten Temperaturmessungen und Wärmebildkameras bei der Maus.....	15
2.3.2. Studien mit vergleichenden Temperaturmessverfahren bei der Maus	17
2.4. Wärmebild als Refinement in Tierversuchen	18
2.5. Hypothese zur Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera an der acktmaus...20	
3. Material und Methoden.....	21
3.1. Versuchstierhaltung	21
3.2. Versuchstier: Maus	22
3.2.1. Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Maus.....	23
3.2.2. BALB/cAnN-Foxn1 ^{nu/nu} /Rj Maus.....	24
3.3. Versuchsplanung	24
3.3.1. Thermografie	25
3.3.2. Qualitative thermografische Analyse	26
3.3.3. Quantitative thermografische Analyse	27
3.4. Messmethodenvergleich: 10 adulter männlicher Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Mäuse.....	29
3.4.1. Temperatursensitive Transponder (TR).....	30

3.4.2.	Datenlogger (DL)	31
3.4.3.	Rektalsonde/-thermometer (RT)	31
3.4.4.	Wärmebildkamera FLIR T660.....	31
3.4.5.	Erfassung des Gewichts	32
3.4.6.	Narkose und chirurgischer Eingriff für Implantation	33
3.4.7.	Temperaturmessung.....	34
3.4.8.	Datenzusammenfassung	37
3.4.9.	Statistische Auswertung	38
4.	Ergebnisse	41
4.1.	Qualitative Analyse	41
4.1.1.	Qualitative Analyse der Einzeltiere	41
4.1.2.	Qualitative Analyse der Tiere in einer Gruppe.....	47
4.2.	Quantitative Analyse	50
4.2.1.	Thermografie 4 adulter, weiblicher BALB/cAnN-Foxn1 ^{nu/nu} /Rj Mäuse unterschiedlichen Ernährungszustands.....	50
4.2.2.	Thermografie 50 adulter männlicher Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Mäuse.....	55
4.2.3.	Thermografie 20 adulter männlicher BALB/cAnN-Foxn1 ^{nu/nu} /Rj Mäuse über einen längeren Zeitraum.....	56
4.3.	Methodenvergleich bei 10 adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Mäusen.....	58
5.	Diskussion	69
5.1.	Qualitative Thermogramme	69
5.2.	Quantitative Thermogramme	73
5.3.	Methodenvergleich.....	77
6.	Zusammenfassung.....	89
7.	Summary	93
8.	Literaturverzeichnis	97
	Publikationsverzeichnis	XI
	Danksagung	XII
	Finanzierungsquellen	XIII
	Selbstständigkeitserklärung	XIV

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wärmeaustauschprozesse mit der Umgebung: Zusammenfassende Darstellung der Mechanismen zur Regulierung der Körperkerntemperatur (entworfen von Kerstin Fiebig modifiziert nach Engelhardt et al. (2015)).	8
Abbildung 2: Zusammenhang zwischen biologischen Prozessen in der Maus und ihrer Wärmestrahlung (von Kerstin Fiebig entworfen, nach einer Inspiration von Prof. Dr. S. Krämer).	18
Abbildung 3: Digitalbild eines Rj:NMRI- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> Mäusebocks des Messmethodenvergleichs mit s.c. Transponder (Foto von Kerstin Fiebig).	23
Abbildung 4: Versuchsplan zur Etablierung der Wärmebildkamera an der Nacktmaus (Entwurf von Kerstin Fiebig).	24
Abbildung 5: Zeitstrahl der Messfrequenz von 20 adulten männlichen BALB/cAnN- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> /Rj Mäusen über vier Wochen (entworfen von Kerstin Fiebig).	29
Abbildung 6: Zeitstrahl des Messmethodenvergleichs von 10 adulten männlichen Rj:NMRI- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> Mäusen (entworfen von Kerstin Fiebig).	30
Abbildung 7: Digitalbild der i.p. Implantation des Datenloggers DST Nano – T (Starr Oddi) in eine Rj:NMRI- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> Maus (Foto von Kerstin Fiebig).	36
Abbildung 8: Digitalbild des temperatursensitiven Transponders: IPTT-100, Bio Medic Data System (Foto von Kerstin Fiebig).	36
Abbildung 9: Digitalbild eines Rj:NMRI- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> Mäusebocks beim Scan der s.c. temperatursensitiven Transponder (Bio Medic Data System) (Foto von Kerstin Fiebig).	36
Abbildung 10: Digitalbild der Wärmebildkamera FLIR T660 (Foto von Kerstin Fiebig).	36
Abbildung 11: Versuchsaufbau des Messmethodenvergleichs (Tierwaage, Transponderscan Station, Wärmebildkamera) (Foto von Kerstin Fiebig).	36
Abbildung 12: Digitale Aufnahme und Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98; Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 24,0 °C – 38,0 °C) eines adulten Rj:NMRI- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> Mäusebocks (Bilder von Kerstin Fiebig).	42
Abbildung 13: Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98) einer adulten weiblichen Rj:NMRI- <i>Foxn1^{nu/nu}</i> Maus mit fester Temperaturskala (22,0 °C - 37,7 °C) in den verschiedenen	

Farbpaletten: Grau (A), feinkontrast Regenbogen (B), medizinisch PAL (C), grün Pal (D), Lava (E), Eisen (F), Arktis (G) (Bilder von Kerstin Fiebig)	44
Abbildung 14: Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen) einer adulten weiblichen Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Maus in unterschiedlichen Einstellungen der Farbskala durch Änderung von Spanne und Bereich der Temperatur.....	45
Abbildung 15: Thermogramm (WBK FLIR E40, E 0,98) einer adulten weiblichen Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Maus in der Farbpalette: Medizinisch Pal; mit einer Temperaturspanne von $\Delta 18,4$ °C im Bereich von 22,6 °C bis 41,0 °C (Bild von Kerstin Fiebig)	45
Abbildung 16: Digitalaufnahme und Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) eines adulten Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Mausbocks im IVC mit Nistmaterial (Bilder von Kerstin Fiebig)	47
Abbildung 17: Digitalaufnahmen und korrespondierende Thermogramme (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen, Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) einer Gruppe von 9 adulten weiblichen Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Mäusen in einer frisch eingestreuten IVC-Käfigschale (Bilder von Kerstin Fiebig).....	49
Abbildung 18: Digitalaufnahme und Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) einer Käfiggruppe von 4 adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1 ^{nu/nu} /Rj Mäusen unterschiedlichen Ernährungszustands von blau (26,0 °C) nach weiß (38,0 °C) dargestellt (gelb Maus # 1) (Bilder von Kerstin Fiebig)	51
Abbildung 19: Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) der einzelnen adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1 ^{nu/nu} /Rj Mäuse # 1 (KGW 16,5 g, irT _{max} bei gelb-orange 34,1 °C) und	51
Abbildung 20: Maus # 3 (KGW 22,8 g, irT _{max} bei rot-weiß 38,9 °C) (Bilder von Kerstin Fiebig).....	51

Statistische Grafiken

Figure 1: Boxplot der irT_{max} der Einzeltiermessungen (je $n = 10$) von adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen # 1 - 4 mit unterschiedlichem Ernährungszustand, # 1 (16,5 g KGW), # 2 (24,8 g KGW), # 3 (22,8 g KGW); # 4 (20,2 g KGW) im Vergleich..... 52

Figure 2: Die maximale infrarote Temperatur irT_{max} der 10 Einzeltiermessungen ($n = 4 \times 10$) von den adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen # 1 (16,5 g KGW), # 2 (24,8 g KGW), # 3 (22,8 g KGW); # 4 (20,2 g KGW) mit unterschiedlichem Ernährungszustand im Vergleich. 52

Figure 3: Die irT -Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 1 mit geringerem KGW (16,5 g). Max. $irT1$ (rot): Temperaturmaximum des Körpers; Durchschnitt $irT1$ (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers irT . Min. $irT1$ (blau): Temperaturminimum des Körpers von Maus # 1. 53

Figure 4: Die irT -Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 2 mit physiologischem KGW (24,8 g). Max. $irT2$ (rot): Temperaturmaximum; Durchschnitt $irT2$ (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers; Min. $irT2$ (blau): Temperaturminimum von Maus # 2. 53

Figure 5: Die irT -Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 3 mit physiologischem KGW (22,8 g); Max. $irT3$ (rot): Temperaturmaximum; Durchschnitt $irT3$ (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers; Min. $irT3$ (blau): Temperaturminimum von Maus # 3. 54

Figure 6: Die irT -Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 4 mit physiologischem KGW (20,2 g). Max. $irT4$ (rot): Temperaturmaximum des Körpers; Durchschnitt $irT4$ (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers; Min. $irT4$ (blau): Temperaturminimum von Maus # 4..... 54

Figure 7: Gegenüberstellung der absoluten Maximalwerte der irT (irT_{max}) (rot; $n = 498$) und der MW aller irT_{max} (blau; $n = 498$) von 10 einzelnen Thermogrammen der 50 (# 1 - 50) adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse. 55

Figure 8: Boxplot der irT_{max} -Werte ($n = 498$) der 10 einzelnen Messungen von 50 (# 1 - 50) adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen. 13 Ausreißer (°) und 5 Extremwerte (*). ... 56

Figure 9: Boxplot der maximalen irT-Werte (N = 158) der 10 Einzeltiermessungen von 20 adulten männlichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen über einen Zeitraum von 4 Wochen. 2 Ausreißerwerte (°).57

Figure 10: Boxplot der Temperaturdaten des Messmethodenvergleichs von 10 männlichen Rj:NMRI - Foxn1^{nu/nu} Mäusen. Rote Markierung irT (n = 430), blaue Markierung scT (n = 430), grüne Markierung rT (n = 369), violette Markierung ipT (n = 430). Die rosa Linie des Referenzbereichs: 34,2 °C - 40,2 °C (dorsale irT_{REF} (Funda et al. 1998): 37,2 °C ±3 °C) nach Literaturangaben für Nacktmäuse.64

Figure 11: Bland - Altman - Datenpunkte der rT und irT des Messmethodenvergleichs (n = 369). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden.....65

Figure 12: Bland - Altman - Datenpunkte der scT und irT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden.....65

Figure 13: Bland - Altman - Datenpunkte der ipT und irT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden.....66

Figure 14: Bland - Altman - Datenpunkte der irT und rT des Messmethodenvergleichs (n = 369). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden. Die Linie (mean; mean +/- 1,96 SD).66

Figure 15: Bland - Altman Datenpunkte der irT und scT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden. Die Linie (mean; mean +/- 1,96 SD).67

Figure 16: Bland - Altman Datenpunkte der irT und ipT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden. Die Linie (mean; mean +/- 1,96 SD).67

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die deskriptiven Daten von irT_{\max} von 20 adulten männlichen BALB/cAnN-Foxn1 ^{nu/nu} /Rj Mäusen.	57
Tabelle 2: Die deskriptive Statistik des Messmethodenvergleich zeigt die Prüfung auf Normalverteilung der gemessenen Temperaturwerte per Wärmebildkamera, Transponder, Datenlogger und Rektalsonde je Rj:NMRI-Foxn1 ^{nu/nu} Maus (n = 10). Eine Zusammenfassung der Prüfung und der Einzelfälle je Maus zeigt die KGW, irT , rT , scT und ipT . Die Daten sind als Mittelwerte $MW \pm SD$ (Fehlerbalken) aufgezeigt.	61
Tabelle 3: Schätzung der festen Effekte mit KGW und irT als zufällige Effekte und rT als abhängige Variable	62
Tabelle 4: Schätzung des Kovarianzparameters mit Maus und rT als abhängige Variable ...	62
Tabelle 5: Schätzung der festen Effekte mit KGW und irT als zufällige Effekte und scT als abhängige Variable	62
Tabelle 6: Schätzung des Kovarianzparameters mit Maus und scT als abhängige Variable.	62
Tabelle 7: Schätzung der festen Effekte mit KGW und irT als zufällige Effekte und ipT als abhängige Variable	63
Tabelle 8: Schätzung des Kovarianzparameters mit Maus und ipT als abhängige Variable .	63

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
#	Nummer
µm	Mikrometer
3R	Replace, Reduce, Refine
BAT	braunes Fettgewebe (<i>Brown Adipose Tissue</i>)
bT	Body Temperatur
BW	Body weight
C	Wärmedurchgangszahl (<i>Conductance</i>)
CCC	Übereinstimmungskoeffizient
d	Tag
DL	Datenlogger
E	Emissionsfaktor
et al.	et alii, und andere
EU	Europäische Union
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Associations
FLIR	Forward Looking Infrared
FOV	Field of View
g	Gramm
h	Stunde
Hz	Hertz
i.p.	Intraperitoneal
ID	Identifikation
ipT	intraperitoneal gemessene Temperatur des Datenloggers
IR	Infrarot
irT	infrarot gemessene Temperatur
IRV	Infrarot erstelltes radiometrisches Video
IVC	Individuell Ventilated Cage
K	Kelvin
Kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht in Gramm
Min	Minute
mK	Millikelvin

mrاد	Millirad
MW	Mittelwert
NMRI	Naval Medical Research Institute
Nu	Nude = Nackt (ohne Fell/ fellos)
RFID	Radiofrequenz-Identifikation
rT	Rektal gemessene Temperatur der Rektalsonde
s.c.	subkutan
scT	Subkutan gemessene Temperatur des Transponders
SD	Standard deviation: Standardabweichung
Sec	Sekunde
SPF	Specific pathogen frei
TR	Transponder
Ucp1	Entkopplerprotein 1 (<i>Uncoupling Protein 1</i>)
USA	<i>United States of America</i>
WBK	Wärmebildkamera (Infrarotkamera)

1. Einleitung

In tierexperimentellen Studien steht neben dem Erkenntnisgewinn der tierschutzgerechte Umgang an oberster Stelle. Es ist erklärtes Ziel, die Belastung der zu Versuchszwecken gehaltenen Tiere soweit wie möglich zu reduzieren. Diesem Gedanken liegt das 3R-Konzept (Replacement, Reduction, Refinement) zugrunde, welches Russel und Burch bereits im Jahr 1959 entwickelt und in ihrem Buch „The Principles of Humane Experimental Technique“ anschaulich beschrieben haben. Im Sinne des Refinement sollen die Haltungsbedingungen und alle Abläufe während des Versuchs verfeinert und verbessert werden, sodass die Belastung der Tiere so gering wie möglich ist und Schmerzen, Leiden oder Schäden abgewendet werden.

Standardisierte Haltungsbedingungen und Beurteilungskriterien helfen, Tierwohlaspekte möglichst objektiv zu bewerten. Im Sinne der „Guten wissenschaftlichen Praxis“ ist es Ziel der Wissenschaft, aussagekräftige und reproduzierbare Daten hervorzubringen. Eine Inaugenscheinnahme als visuelle Beurteilung der Gesundheit des Versuchstieres ist lediglich subjektiv. Valide, objektive Kriterien führen dagegen zu einheitlichen Beurteilungen der Tiergesundheit und des Tierwohls.

Die Körpertemperatur ist ein wichtiger Parameter zur Beurteilung des Allgemeinzustands von Versuchstieren. Die bisher etablierten Methoden zur Körpertemperaturerfassung, wie z. B. die rektale Messung oder die Implantation eines Sensors, sind für die Maus mehr oder weniger invasiv und stellen damit einen zusätzlichen Belastungsfaktor dar. Das Handling und die Fixation zur Temperaturmessung verursachen nicht nur beim zu messenden Tier erheblichen Stress, sondern auch bei der gesamten Gruppe. Dieser Stress verursacht eine Erhöhung der Körpertemperatur und führt zu falschen Werten. Aus diesem Grund wäre eine belastungsärmere Methode zur Erhebung der Körpertemperatur wertvoll. Die Infrarotthermografie bietet die Möglichkeit einer kontaktfreien und somit belastungsarmen Körpertemperaturerfassung. Jeder Körper mit einer Temperatur über dem absoluten Nullpunkt sendet Energie als Infrarotstrahlung, eine sog. Wärmestrahlung, aus. Die gemessene, abgestrahlte thermische Energie, wird in elektrische Signale umgewandelt, die als Temperaturdaten in Bildern visualisiert werden. Wärmestrahlung spiegelt über die Menge der abgegebenen Temperatur indirekt die Energiebilanz und damit die metabolische Situation der Tiere wider. Diese Technik findet in der Human- und Veterinärmedizin als Temperaturmessverfahren, zum Gesundheitsmonitoring oder als klinisch-diagnostische Überwachungsmethode bereits breite Anwendung.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Messmethode der Infrarotthermografie an der Nacktmaus evaluiert. Es wurde überprüft, ob die Thermografie reproduzierbare Temperaturen liefert und im Vergleich zu etablierten Messmethoden bestehen kann. Vor diesem Hintergrund wurde die Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera (WBK) mit standardmäßig angewendeten Temperaturmessverfahren verglichen. Zudem wurde geprüft, ob mithilfe der Thermografie klinisch auffällige Mäuse stressarm und nicht-invasiv detektiert werden können. Dazu war eine systematische und detaillierte Prüfung möglicher Limitationen notwendig. Ein weiterführendes Ziel dieser Arbeit war es, die Möglichkeiten der Anwendung einer Wärmebildkamera als Refinement im Rahmen der Belastungseinschätzung der Versuchstierspezies Maus zu prüfen.

2. Literatur

2.1. Physiologie der Maus

2.1.1. Energiehaushalt der Maus

Der Energieumsatz eines mehrzelligen Organismus korreliert mit dessen Zellmasse, da jede lebende Zelle zur Aufrechterhaltung ihrer Funktionen permanent chemische Energie umsetzt (Engelhardt et al. 2015). Eine Maßangabe des Energieverbrauchs ist der Grundumsatz eines Organismus, welcher unter Standardbedingungen bei metabolisch indifferenter Umgebungstemperatur, im postresorptiven Zustand und bei körperlicher Ruhe gemessen wird (Engelhardt et al. 2015). Die Messung des Grundumsatzes bei Indifferenztemperatur („Wohlfühltemperatur“ bzw. thermoneutrale Zone) ist eine Voraussetzung, da Extreme in der Umgebungstemperatur den Energieumsatz erhöhen (Gordon et al. 2014). Die Thermoneutrale Zone wird neben der Umgebungstemperatur insbesondere durch die Luftfeuchte und die Luftgeschwindigkeit beeinflusst. Die drei Parameter werden als thermohygrischer Komplex zusammengefasst. Der Gesamtwärmeinhalt der Luft wird als Enthalpie bezeichnet, welche die sensible (fühlbare) und die latente (durch Verdunstung abgegebene, nicht fühlbare) Wärme umfasst.

Kleine Tiere haben eine hohe relative energetische Umsatzrate, die sich nicht, wie früher angenommen wurde, allein durch die Körperoberfläche ergibt. Der Grundumsatz ist in erster Linie vom Verhältnis der Körperoberfläche zur Körpermasse abhängig (Engelhardt et al. 2015). Kleiber ermittelte eine proportionale Beziehung zwischen Grundumsatz und Körpermasse, wobei die „metabolische Körpergröße“ durch den Masseexponent nahe um 0,75 beschrieben wird (Engelhardt et al. 2015). Demnach haben Nagetiere mit ihrer geringen Körpermasse eine relativ große Körperoberfläche und einen verhältnismäßig großen Energieumsatz (Schmidt-Nielsen 1984). Die große Umsatzrate kleiner Tiere resultiert auch aus der Tatsache, dass der relative Anteil der stoffwechselintensiven inneren Organe mit ca. 12% der gesamten Masse des Körpers größer ist, als der von den stoffwechselarmen Stützorganen mit ca. 5% (Engelhardt et al. 2015). Die im Körperkern liegenden stoffwechselaktiven Organe haben einen hohen Energieumsatz und dadurch eine hohe Wärmeproduktion. Im Ruhezustand produzieren Leber, Niere und Herz den größten Anteil der inneren Wärme (Eichna et al. 1951). Ob die Energieaufnahme dem Energiebedarf entspricht, kann grob anhand des Körpergewichts kontrolliert werden. Verschiebungen im Energiehaushalt beeinflussen das Körpergewicht und die Körperzusammensetzung (Willershäuser 2013). Die Kontrolle des Körpergewichtes ist ein gängiger Beurteilungsparameter in der Versuchstierhaltung (Jennings

et al. 2010), wobei adulte Mäuse ein durchschnittliches Körpergewicht von 20 g bis 40 g erreichen. Eine Wiederholung der Gewichtsmessung verrät, ob ein Nager sein Körpergewicht aufrechterhalten kann, nicht aber mit welchem metabolischen Aufwand dies einhergeht. Die Beurteilung des Energiehaushaltes ermöglicht den Vergleich auf intra- und interspezifischer Ebene (Engelhardt et al. 2015). Ein Maß für den Energiestoffwechsel des Tieres ist die abgegebene Wärmemenge, denn ca. zwei Drittel der im Zellstoffwechsel gewonnenen Energie werden zur Wärmeproduktion verwendet (Engelhardt et al. 2015; Loeffler und Gäbel 2015). Die Körpertemperatur ist ein Resultat der Abwärme von Stoffwechselprozessen und ein Parameter, der den Energiehaushalt stark beeinflusst (Willershäuser 2013). Die erbrachte Leistung zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur (bei einer Raumtemperatur von 18 °C bis 22 °C) macht bei der Labormaus rund 30% der täglichen Energieausgaben aus (Cannon und Nedergaard 2011). Willershäuser beschreibt in seiner Arbeit „Metabolische Phänotypisierung von Mausmutantenlinien mit einer Störung in der Körpertemperatur- und Gewichtsregulation“ den Beitrag der Thermogenese an der Energiehomöostase und arbeitete heraus, inwieweit andere Komponenten kompensiert werden können (Willershäuser 2013). Willershäuser (2013) etablierte die Messung des Energieumsatzes mittels indirekter Kalorimetrie und analysierte grundlegende Zusammenhänge zwischen Körpergewicht, Körpertemperatur und Energieumsatz (Willershäuser 2013). Verschiebungen des Verhältnisses der Energie führen zu metabolischen Erkrankungen wie Adipositas, Diabetes oder dem metabolischen Syndrom (Willershäuser 2013). Die Untersuchungen des murinen Energiehaushaltes zeigen den zeitlichen Zusammenhang von Gewichtszunahme und einer später auftretenden Absenkung der Körpertemperatur (Willershäuser 2013). Durch ein verändertes Temperaturabstrahlungsverhalten werden auch Änderungen im Energiehaushalt, wie energetische Defizite oder Überschüsse, angezeigt. Die Verbindung zwischen Energieumsatz und Körpertemperatur (Willershäuser 2013) zeigt sich bei Kleinsäugetern während des Torpor, bei dem auf die Absenkung des Energieumsatzes eine Absenkung der Körpertemperatur folgt (Hitrec et al. 2019). Solche Energiesparstrategien sind nicht nur von Tieren die Winterschlaf halten bekannt, sondern auch für Mäuse beschrieben (Wang und Wolowyk 1988; Oelkrug et al. 2011; Solymár et al. 2015; Hitrec et al. 2019). Die Absenkung der Körpertemperatur um ~1 °C kann zu einer Energieeinsparung von rund 2 kJ d⁻¹ führen (Willershäuser 2013).

2.1.2. Wärmehaushalt der Maus

Homoiotherme Lebewesen regulieren die Körperkerntemperatur mit tageszeitlichen Schwankungen auf einen konstanten Sollwert (Klir et al. 1990; Harshaw und Alberts 2012). Der Temperaturrhythmus ist bei Mäusen an die Wachphase gebunden und verschiebt sich durch körperliche Aktivität und äußere Einflüsse, wie Futteraufnahme, Umgebungstemperatur oder

Lichtregime (Hannibal et al. 2011;Lo Martire et al. 2012;Wither et al. 2012;Yoon et al. 2012;Paul et al. 2015). Jacoby legt eine physiologische Körpertemperatur der Maus von 37,0 °C bis 37,2 °C fest (Jacoby et al. 2002).

Der Bereich der Indifferenztemperatur („Wohlfühltemperatur“ bzw. thermoneutrale Zone) verändert sich während der Phase des Wachstums. Dies geschieht zum einen durch die Entwicklung der thermoregulatorischen Fähigkeit des Organismus und zum anderen durch die Veränderung des Verhältnisses von Körpervolumen zu Körperoberfläche. Eine konstante Körperkerntemperatur kann nur aufrechterhalten werden, wenn eine ausgeglichene Wärmebilanz eingestellt wird. Dazu besteht der thermale Regelkreislauf aus verschiedenen „Stellgliedern“, welche kurzfristige oder langfristige Auswirkungen auf die Temperatur haben. Zur Vermeidung einer Entgleisung der Temperatur muss die entstehende Körperwärme regulativ nach außen abgegeben oder die Abgabe verhindert werden. Die Mechanismen für die Unabhängigkeit der Körpertemperatur von der Außentemperatur erfordern einen energetischen Mehraufwand. Der Übergang der Wärmeenergie von einem Körper auf die den Körper umgebenden Medien erfolgt über die Prozesse der **Konduktion, Konvektion, Evaporation und Radiation**.

Konduktion (Leitung) bezeichnet den Wärmeaustausch über Bewegung benachbarter Moleküle. Dabei geben zwei Körper unterschiedlicher Temperatur, die in direktem Kontakt stehen, solange Energie in Form von Wärme ab, bis ein vollständiger Temperatúrausgleich stattgefunden hat (sog. Wärmediffusion). Die Gewebe des Körpers sind gute Isolatoren, daher wird der innere Wärmeübergang durch Konduktion nur in geringem Maße genutzt. Das weiße Fettgewebe ist ein wichtiger Isolator, da weißes Fettgewebe Wärme ein Drittel langsamer ableitet als andere Gewebetypen. Die Isolierkraft ist dabei von der Größe der Fettschicht abhängig. Verhaltensänderungen dienen einer Veränderung des konduktiven Wärmetransportes. Da die Luftschicht direkt über der wärmeren Hautoberfläche zunächst durch Konduktion erwärmt wird und diese Luft dann durch die Erwärmung aufsteigt, wird die Wärmeenergie vom Körper entfernt. Dieser teils konvektive Wärmetransport kann bei Luftzirkulation erheblich verstärkt werden.

Als **Konvektion** (Übertragung) wird der Prozess bezeichnet, mit dem Wärme durch den Transport von Molekülen, wie z. B. Luft, weggetragen wird. Eine Schicht Fell vermindert daher sowohl die konduktive Erwärmung der Luftschicht als auch den konvektiven Wärmetransport und minimiert den Wärmeverlust. Über sympathische Nerven wird die Stellung der Fellhaare durch glatte Muskelbündel variiert und damit die Größe des isolierenden Luftpolsters reguliert, wodurch die Dichte des Fells die Wärmeabgabe reguliert (Stephan und Redecker 1970;Minakami et al. 1986).

Es gibt adaptive Langzeitveränderungen, welche direkt den thermalen Austausch an der Körperoberfläche beeinflussen. Beispielsweise sind die hormonell kontrollierten Variationen der Felldichte und -farbe oder die Stärke der Unterhautfettschichten, sowie die Ausbildung zusätzlicher Hautfalten, langfristig thermoregulatorisch effektiv (Gaskill et al. 2009; Gaskill et al. 2012). Haarlose Tiere können die thermoregulatorischen Mechanismen des Fells nicht nutzen, daher variiert die subkutane Temperatur (Meyer et al. 2017) bzw. die dorsale Hauttemperatur von Nacktmäusen mit $37,2\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ (Funda et al. 1998).

Der konvektive Wärmetransport hängt außerdem von der Wärmeleitfähigkeit des transportierenden Mediums ab. Die konvektive Wärmeabgabe von Wasser ist aufgrund seiner höheren Leitfähigkeit etwa 20-mal größer als die von Luft. Eine nasse Körperoberfläche kühlt schneller ab bzw. hat höhere Wärmeverluste.

Den Hauptanteil der physiologischen Regelung des sensiblen Wärmeverlustes übernimmt die kutane Vasodilatation. Insbesondere Körperteile, wie der Schwanz einer Maus, dienen durch Vasodilatation als Wärmeaustauscher mit der Umgebung (Meyer et al. 2017). In einer subneutralen kalten Umgebung weisen die Hautoberflächen der Schwänze von Mäusen daher eine konstante maximale Vasokonstriktion auf (Eichna et al. 1951; Hershey et al. 2014). In einer supraneutralen heißen Umgebung weisen die Schwänze eine konstante maximale Vasodilatation auf (Meyer et al. 2017). In einer thermoneutralen Umgebung verändern die Hautoberflächen der Schwänze ständig den vasomotorischen Tonus zwischen einer leichten Vasokonstriktion und einer milden Vasodilatation (Almeida et al. 2012). Der konvektive Wärmetransport zur Körperperipherie und zurück erfolgt durch Nutzung des Gegenstromprinzips des Blutes (Stephan und Redecker 1970). Zur Steuerung der Wärmeabgabe wird die Durchblutung insbesondere der Akren, des Kopfes und der Extremitäten über noradrenerge sympathische Nerven variiert. Das venöse Blut kann auf verschiedenen Wegen zurück ins Körperinnere transportiert werden. Dies geschieht zum einen über die an der Oberfläche liegenden Hautvenen und zum anderen über die tiefer neben den Arterien liegenden Venen. Über spezielle arteriovenöse Anastomosen fließt zur Energieersparnis bei kalten Umgebungstemperaturen weniger Blut durch die oberflächlichen Gefäße. Das meiste Blut fließt dann durch die tiefen Venen und nimmt dabei Wärme von den Arterien auf, so dass das Blut vorgewärmt ins Körperinnere gelangt. So wird weniger Energie aufgewendet, um das Blut auf die Kerntemperatur zu erwärmen. Gleichzeitig kann das arterielle Blut infolge des Temperaturgefälles abgekühlt werden und Blut erreicht die Peripherie schon mit kleiner Temperaturdifferenz zum Außentemperaturniveau. In warmer Umgebung oder bei Energieüberschuss nimmt das Blut den Weg über die oberflächlichen Hautvenen und gibt zusätzliche Wärme ab, um eine Übertemperatur zu verhindern.

Die Wärmeabgabe über **Evaporation** (Verdunstung) ist ein weiterer Wärmeaustauschprozess. Evaporation ermöglicht die Abgabe von Wärme einerseits über die Haut durch Schweiß oder durch passive Verdunstung von Wasser (Stephan und Redecker 1970), andererseits durch die Abgabe von Wasserdampf mit der Atmung. Die Wärmeabgabe über die Verdunstung des Atmungstrakts erfolgt nicht nur durch die Zunahme der Atemfrequenz (Stephan und Redecker 1970), sondern auch in der physiologischen Ruheatmung. Dabei müssen ca. 15 % des Energiegrundumsatzes für die Konditionierung des Atemgases aufgewendet werden. So geht insbesondere über die hohe Atemfrequenz, die bei der Maus bei 70 bis 220 Atemzügen pro Minute liegt (Ewringmann und Glöckner 2007) (Meredith und Johnson-Delaney 2010), erwärmte Ausatemluft und das darin enthaltene Wasser samt Wärme verloren. Adaptive Mechanismen verstärken die Kapazität für eine autonome Kontrolle der Verdunstung von Wärme (Stephan und Redecker 1970). Über cholinerge sympathische Nerven wird dabei die Schweißsekretion in den Schlauchdrüsen reguliert. Zudem fördert das mit dem Schweiß ausgeschiedene Gewebshormon Bradykinin zzgl. die Vasodilatation.

Als **Radiation** (Strahlung) wird der Prozess bezeichnet, bei dem die Oberfläche eines Körpers Wärme in Form von elektromagnetischen Wellen emittiert. Das Ausmaß dieser Emission hängt dabei von der Temperatur und der Oberfläche des Körpers ab. In der **thermoneutralen Zone** und bei Ruhe werden etwa zwei Drittel der im Körperinneren produzierten Wärme über diese Wärmestrahlung abgegeben. Wärmeverluste über Radiation sind bei niedrigen Temperaturen für den Körper nicht regulierbare Energieverluste.

Konvektion, Konduktion und Radiation hängen von der Temperaturdifferenz zwischen der Oberfläche des Objekts und der das Objekt umgebenden Materie ab. Stellt der Körper eine Erhöhung der Temperatur fest, werden zunächst der innere Wärmetransport und die Wärmeabgabe über Konvektion, Konduktion und Radiation erhöht, indem die Durchblutung von Haut und Atmungstrakt gesteigert wird. Aus dem Wärmeaustauschprinzip geht deutlich hervor, dass die Hauttemperatur im Dienste der Aufrechterhaltung der Kerntemperatur steht, d. h. bei kalter Umgebung wird durch ein Absenken der Schalentemperatur die Wärmeabgabe gesenkt (Warn et al. 2003; Nemzek et al. 2004; Newsom et al. 2004). Durch Konvektion und Wärmestrahlung bedingte Wärmeverluste über die Haut bleiben relativ linear, wenn die Umgebungstemperatur nicht stark schwankt (Sessler 2008; Cannon und Nedergaard 2011).

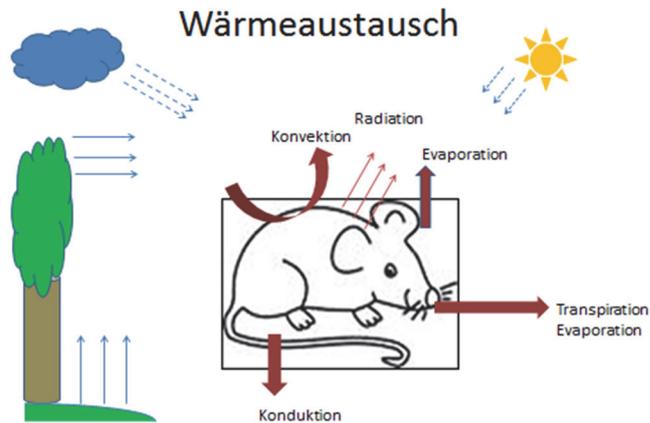


Abbildung 1: Wärmeaustauschprozesse mit der Umgebung: Zusammenfassende Darstellung der Mechanismen zur Regulierung der Körperkerntemperatur (entworfen von Kerstin Fiebig modifiziert nach Engelhardt et al. (2015)).

2.1.3. Thermoregulation der Maus

Die Kerntemperatur wird durch ein intrinsisches System sehr genau reguliert. Der thermale Input der verschiedenen Gewebe des Körpers wird an unterschiedlichen Stellen innerhalb der Neuroaxis gesammelt. Der dominante Kontrollpunkt der Körpertemperatur bei Säugern ist der Hypothalamus, wobei die autonome Kontrolle im vorderen Hypothalamus und die Kontrolle des Verhaltens im hinteren Hypothalamus erfolgt (Sessler 2008). Die Körpertemperatur wird durch eine Kombination aus neuronalen und hormonellen Prozessen geregelt, welche den Temperaturwechsel wahrnehmen, die entsprechenden Signale an die Organe weitergeben und Stoffwechselprozesse in Muskulatur, Fettgewebe und Leber auslösen.

Bei wachen (nicht narkotisierten) Tieren ist die primäre autonome Antwort auf Kälte eine reflektorische arteriovenöse Shunt-Vasokonstriktion und Kältezittern (Sessler 2008; Cannon und Nedergaard 2011). Der Schwellenwert für Kältezittern liegt z.T. 1 °C unter dem für die Vasokonstriktion und ist somit die letzte Maßnahme des Körpers zum Erhalt der Wärme (Wang et al. 2006). Die Wärmeproduktion erfolgt mittels feinsten unwillkürlicher Muskelaktivität durch somatomotorische Nerven (sog. zentrale Zitterbahnen). Die energetische Ausbeute von Kältezittern ist bei schlecht isolierten Körpern gering (Pflumm und Pflumm-Eisbrenner 1989). Es geht viel Wärme verloren, da die Muskulatur stärker durchblutet werden muss, bis die Muskeln warm geworden sind und die Kerntemperatur steigt.

Eine besondere Art der Wärmeproduktion ist die zitterfreie Thermogenese, welche nicht im Zusammenhang mit der Muskelaktivität steht (Sessler 2008). Die Aktivierung dient bei Mäusen primär dem Schutz vor Auskühlung (Talan et al. 1996; Paris et al. 2005; Cannon und Nedergaard 2011). Die Heizleistung der zitterfreien Thermogenese kann bis zu 300 W/kg

betragen (Cannon und Nedergaard 2004) und eine dreifache Steigerung der metabolischen Wärmeproduktion bewirken (Sessler 2008). Diese Form der Wärmeproduktion findet vor allem in spezialisierten braunen Fettzellen (BAT) statt und wird über das sympathische Nervensystem und die Schilddrüsenhormone reguliert (Foster und Frydman 1978; Foster und Frydman 1979; Cannon und Nedergaard 2004).

Das BAT ist in der Lage durch die enzymatische Wirkung des spezifischen Entkopplerprotein 1 (Uncoupling-Protein 1 oder UCP₁) die chemische Thermogenese in den Mitochondrien zu vermitteln. UCP₁ entkoppelt den durch die Atmungskette aufgebauten Protonengradienten, indem es die innere Mitochondrienmembran für die Protonen durchlässig macht (Nedergaard et al. 2001; Cannon und Nedergaard 2004). Die Energiegewinnung durch den Abbau von Fett in den Mitochondrien ist entkoppelt und die im Protonengradienten enthaltene chemische Energie der Substrate wird vollständig als Wärme freigesetzt, ohne die Entstehung chemischer Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) (Nicholls und Locke 1984; Klinker und Silbernagl 2003).

Infolge einer chronischen adrenergen Stimulation des BAT in kühler Umgebung kommt es zu einer erhöhten Transkription des spezifischen UCP₁, einer vermehrten Bildung von Mitochondrien, einer Hyperplasie des BAT und zu einer Transformation/ Rekrutierung brauner Fettzellen aus weißem Fettgewebe (Enzi et al. 1986; Cinti 2002). Da auch in Mitochondrien aus der Skelettmuskulatur Proteine nachgewiesen wurden, die dem UCP₁ ähneln, muss angenommen werden, dass die mitochondriale Thermogenese nicht ausschließlich auf das BAT beschränkt ist (Löffler 2013). Ansätze zur diätinduzierten Thermogenese (Rothwell und Stock 1979) deuten auf protektive Funktionen von BAT bei Übergewicht, Insulinresistenz und kardiovaskulären Erkrankungen hin. Diese werden in der Forschung allerdings kontrovers diskutiert (Kozak et al. 2010).

Unter Narkose ist adaptives Verhalten zur Reaktion auf Kälte behindert (Sessler 2008). Neben den beschriebenen thermoregulatorischen Mechanismen finden bei wachen Tieren Verhaltensmaßnahmen zur energetisch optimierten Thermoregulation statt (Almeida et al. 2012), da diese weit mehr zur Erhaltung der Kerntemperatur beitragen, als die autonome Regulation (Ishii et al. 1996; Hilsberg 2001). Eine anfängliche Ruhelosigkeit zur zusätzlichen Erhöhung des Zellstoffwechsels und Generierung von zusätzlicher Muskel-Arbeitswärme geht aus Gründen der energetischen Erschöpfung bei Unterkühlung in Lethargie über und kann letztendlich zu komatösen Zuständen führen, welche in einer erhöhten Mortalitätsrate enden (Rudaya et al. 2005; Wanner et al. 2013).

Eine Art des sozialen Verhaltens ist der Nestbau, welcher linienspezifisch variiert. Die Gestaltung eines Unterschlupfes schafft die Voraussetzung für eine optimale

Thermoregulation und kommt besonders in der Aufzucht zum Tragen (Harshaw und Alberts 2012; Speakman und Keijer 2012). Nestbau sorgt bei Vorhandensein des notwendigen Nistmaterials für eine konstante Nesttemperatur, das Mikroklima. Bei der Gefahr einer Hypothermie kommt es zum Aufsuchen wärmerer Bereiche und durch soziale Interaktionen in der Gruppe können Wärmeverluste minimiert werden (Gordon 2004; David et al. 2013a; Harshaw et al. 2014). Das Zusammenrücken der Tiere reduziert die Wärmeabgabe und fördert die Wärmeleitung in der Gruppe (Pflumm und Pflumm-Eisbrenner 1989). Andere Verhaltensmuster die ebenso zur Thermoregulation beitragen, sind die Ausrichtung der eigenen Körperstellung zu Wärmequellen, das Drehen aus der Windrichtung oder das Zusammenrollen (Flexion der Extremitäten) zur Verkleinerung der Körperoberfläche (Yamakage und Namiki 2004).

Nagetiere bevorzugen den Aufenthalt in der thermoneutralen Zone nicht ausschließlich in ihren inaktiven Perioden (Gordon 1990; Leon 2005; Gordon 2012). Die Haltungstemperaturen für Mäuse sind von vielen Einflussfaktoren abhängig (Gaskill et al. 2009). Die ETS-Leitlinien aus dem Jahr 2007 empfehlen für Mäuse eine Umgebungstemperatur zwischen 20 °C und 24 °C (Gordon 2004). Ferner liegt eine häufig beschriebene Umgebungstemperatur zwischen 24 °C und 25 °C (Quesenberry et al. 2004). Empfehlungen des U.S. Council für Temperaturen in der Mäusehaltung liegen bei 20 °C bis 26 °C (National Research Council 2011). Diese Umgebungstemperatur befindet sich unter der „kritischen Temperatur“ der Maus mit 30 °C (Gaskill et al. 2009; Gordon 2012). Die Autoren nehmen an, dass Mäuse unter „Kältestress“ leiden, wenn die Haltungstemperatur unterhalb der kritischen Temperatur liegt (David et al. 2013a). Mäuse zeigen Veränderungen in der Körpertemperatur und im Stoffwechsel, wenn sich die Umgebungstemperatur um 2 °C bis 3 °C verändert (Carter et al. 2011; David et al. 2013a). Speakman et al. (2012) schlagen vor, Mäuse in einer Temperatur unter der thermoneutralen Zone unterzubringen (Speakman und Keijer 2012). Zur Untersuchung thermogener Reaktionen ist eine Kontrolle der Umgebungstemperatur unerlässlich, da nur so ein größerer Bedarf an adaptiver Thermogenese zur Aufrechterhaltung der Euthermie nachweisbar ist. Vasomotorische Untersuchungen von Mäusen zeigen, dass eine gestörte Vasokonstriktion der Schwanzarterien zu erhöhtem Wärmeverlust in kalter Umgebung führt und die Entstehung einer Hypothermie trotz erhöhter BAT-Aktivität und erhöhtem Energieaufwand fördert. Dies zeigt, dass Hypermetabolismus nicht unbedingt mit einer hohen Körpertemperatur verbunden sein muss (Meyer et al. 2017). Aus der Arbeit von Willershäuser (2013) kann geschlossen werden, dass der Einfluss der Körpertemperatur auf die Energieausgaben unter konstanten Standardhaltungsbedingungen gering ist (Willershäuser 2013).

2.2. Temperaturmessverfahren

Die Entwicklung des Thermometers wurde seit 1612 von verschiedenen Wissenschaftlern vorangetrieben und das gewonnene Wissen auch medizinisch eingesetzt (Ring und Ammer 2012). 1654 wurde das erste Thermometer hergestellt, das die Ausdehnung von Alkohol ausnutzte. Zuvor wurde die Wärmeausdehnung der Luft, d. h. das Prinzip eines Barometers genutzt. Anders Celsius legte 1742 seine Skala (°C) anhand des Schmelz- und Siedepunkts des Wassers fest, die seither in medizinischen Anwendungen für die Messung der Körpertemperatur etabliert ist (Wartzek et al. 2011). Erste Fieberkurven legten den Grundstein für die Temperaturmessung in der klinischen Untersuchung (Taylor et al. 2014). Temperatur ist seither ein wichtiger klinischer Parameter, der auch in der Wissenschaft, insbesondere bei kleinen Labornagern wie Mäusen, genutzt wird (Clement et al. 1989; Kort et al. 1998; Warn et al. 2003; Bast et al. 2004; Song et al. 2007; Williamson et al. 2007; Molins et al. 2012; Adamson et al. 2013; Caro et al. 2013; Cates et al. 2014; Arata et al. 2016; Zhang et al. 2016a).

Zur Kontrolle im perioperativen Monitoring wird die rektale Temperatur (rT) verwendet, da diese mit der Kerntemperatur des Körpers korreliert (Kort et al. 1998; Sessler 2008; Caro et al. 2013; Cates et al. 2014). Auch bei Versuchsnagern findet die rektale Messung Anwendung (Soothill et al. 1992; Stephens Devalle 2005; Bae et al. 2007). Die rT von Mäusen liegt nach Suckow et al. (2001) im Bereich zwischen 36,5 °C und 38,0 °C (Suckow et al. 2001) und nach Ewringmann (2008) zwischen 38,0 °C und 39,5 °C (Ewringmann und Glöckner 2007). Cruz et al. (1998) ermitteln eine rT für männliche Mäuse von 36,6 °C +/- 0,2 °C und für weibliche Mäuse von 36,3 °C +/- 0,2 °C (Cruz et al. 1998). Die rT Messung ist zum Screening größerer Temperaturschwankungen besser geeignet, als zur Untersuchung von geringen Körpertemperaturveränderungen (Meyer et al. 2017). Insbesondere bei der Diagnostik außerhalb des physiologischen Bereichs der Körpertemperatur, z. B. während eines Torpor und Hypothermie, erweisen sich rT Messungen als nützlich (Haemmerle et al. 2006; Wacker et al. 2012). Aus diesem Grund stellt die rT besonders in Krankheitsmodellen einen häufig eingesetzten Untersuchungsparameter dar (Soothill et al. 1992; Newsom et al. 2004; Ohashi et al. 2013; Cates et al. 2014). Telemetrische Systeme aus Radiotransmittern (Ruf und Heldmaier 1987; Vlach et al. 2000; Leon et al. 2004; Williamson et al. 2007) oder Datenloggern (DL) (Arata et al. 2016; Zhang et al. 2016a), oder temperatursensible Systeme aus implantierten Transpondern (TR) (Kort et al. 1998; Vlach et al. 2000; Warn et al. 2003; Trammell und Toth 2011; Molins et al. 2012; Caro et al. 2013; Hankenson et al. 2013) und externen Antennen sind vorteilhaft und mittlerweile in der Versuchstierkunde weit verbreitet. Die Nutzung implantierter Sensortechnik ermöglicht eine periodische und kontinuierliche Messung (Meyer et al. 2017). Einige Autoren beschreiben eine gute Korrelation zwischen der Oberflächentemperatur und der Rektaltemperatur bei Mäusen (Newsom et al. 2004). Der hohe Translationswert der

kontinuierlichen Temperaturerfassung im Vergleich zur Einzelmessung zeigt sich bei defizienten Mäusen, bei denen die Störungen des täglichen thermalen Rhythmus eine Funktionsstörung des vegetativen Nervensystems und die kardinalen Phänotypen des klinischen Rett-Syndroms widerspiegeln (Wither et al. 2012). Neben den Temperaturdaten (Meyer et al. 2017) erfassen Sensor-Modelle auch die motorischen Aktivitäten von freibeweglichen, bewussten Tieren (Vlach et al. 2000). Die Einzeltiererkennung (Santoso et al. 2006; Hessel et al. 2008) mittels Radiofrequenz-Identifikation (RFID) erlaubt darüber hinaus eine Gruppenhaltung und die berührungslose Thermometrie im sozialen Kontext (Meyer et al. 2017). Besonders kleine Transponder bieten sich als fortgeschrittene Version von Tieridentifikationssensoren zur Messung subkutaner Temperaturen an (Hartinger et al. 2003). Transponder können auch in der Nähe des interskapulären BAT Depots implantiert werden (Bal et al. 2012; Gerhart-Hines et al. 2013; Lateef et al. 2014). Studien bei Ratten benutzen die Implantationstechnik in Langzeitexperimenten (Romanovsky et al. 1997) zur permanenten Bewertung der Temperaturänderung von BAT als thermogene Aktivität (Su et al. 2016; Zhang et al. 2016b). Solchen Anwendungen treten mehrere Wissenschaftler, angesichts der Größenverhältnisse von Transponder zu Tier, skeptisch gegenüber (Leon et al. 2004; Meyer et al. 2017).

Sensoren werden aber auch in die Peritonealhöhle implantiert, weil die ipT ein gültiges Maß für die innere (Kern-) Körpertemperatur ist (Klaus et al. 1998; Johnston et al. 2007; Arata et al. 2016; Meyer et al. 2017). Cesarovic et al. (2010) veröffentlichten murine telemetrische Temperaturwerte zwischen 36 °C und 37 °C (Cesarovic et al. 2010). In metabolischen Studien brachte die kontinuierliche Überwachung weitere Erkenntnisse zirkadianer Temperaturmuster, erst beim Hamster (Ruf und Heldmaier 1987) und später bei der Maus (Garami et al. 2011; Gerhart-Hines et al. 2013). Cinelli et al. (2007) legten tageszeitabhängige Grundwerte von 35 °C bis 37 °C (zwischen 14.00 und 15.00 Uhr) und 35 °C bis 36 °C (zwischen 15.00 und 21.00 Uhr) bei Mäusen fest, welche den telemetrisch gemessenen Basiswerten von Kort et al. (1998) mit 36,7 °C +/- 0,19 °C ähneln (Kort et al. 1998; Cinelli et al. 2007). Mittels Thermometrie können die ultradian-episodische Phase der Ruhe (Blessing und Ootsuka 2016; Miyata et al. 2016) sowie die genotyp- und geschlechtsspezifische Heterothermie (Wither et al. 2012) und die hyper- oder hypothermischen Reaktionen auf pharmakologische Behandlungen (Rudaya et al. 2005; Garami et al. 2011; Meyer et al. 2015) charakterisiert werden. In experimentellen Studien kommt die Technik auch in pathologischen Hyperthermie-Modellen (Rudaya et al. 2005), thermoregulatorischen Infektionsmodellen (Wanner et al. 2012) und für die Erstellung von Mustern in Torpor-Situationen (Oelkrug et al. 2011; Wacker et al. 2012; Solymár et al. 2015) zur Anwendung.

2.3. Thermografie

Die Thermografie beruht auf der Tatsache, dass jeder Körper mit einer Temperatur über dem absoluten Nullpunkt von $T > 0 \text{ K}$ [-273 °C] eine Eigenstrahlung aussendet (Fouad und Richter 2008). Ursächlich für dieses Phänomen ist die in jedem Körper vorhandene innere mechanische Molekülbewegung. Die Intensität der Molekülbewegung hängt von der Temperatur des Körpers ab. Da zusammen mit der Molekülbewegung auch Ladungsbewegungen auftreten, sendet der Körper Energie in Form von elektromagnetischer Strahlung (Wärmestrahlung) aus (Fouad und Richter 2008). Dem Prinzip des Energieerhaltungssatzes geht Energie nicht verloren, sondern wird umgewandelt (Planck 1887). Die elektromagnetische Strahlung breitet sich wellenförmig mit Lichtgeschwindigkeit aus und gehorcht den optischen Gesetzen (Fouad und Richter 2008; Soldan 2014). Das von Gustav Robert Kirchhoff formulierte und nach ihm benannte Strahlungsgesetz legte den Grundstein für ein auf Wärmestrahlung basierendes Thermometer. Demnach ist die Ausstrahlung eines Objekts von dessen Materialzusammensetzung und Oberflächenbeschaffenheit sowie der Wellenlänge, dem Betrachtungswinkel und der Betrachtungsrichtung (Winkel zur Flächennormalen; Abstrahlwinkel) abhängig (Soldan 2014).

Der Aufbau einer Wärmebildkamera (WBK) entspricht der einer elektronischen Kamera für sichtbares Licht. Die einzelne Detektorzelle (Pixel) besteht aber aus einer strahlungsempfindlichen Scheibe, aus stark temperaturabhängigem Material. Die WBK absorbiert (die von einem Objekt abgegebene) einfallende elektromagnetische Strahlung (Soldan 2014) welche zu einer Temperaturerhöhung der Scheibe und zur Änderung des elektrischen Widerstandes führt. Der gemessene Spannungsabfall ist daher als Messsignal proportional zur Strahlungsintensität zu detektieren (Schuster und Kolobrodov 2004; Fouad und Richter 2008; Zimmermann und Zimmermann 2012; Soldan 2014). Detektoren ungekühlter Mikrobolometerkameras arbeiten in sog. atmosphärischen Fenstern in langwelligen infraroten Durchlassbereichen des elektromagnetischen Spektrums von $7 \text{ }\mu\text{m}$ bis $13 \text{ }\mu\text{m}$ bei Umgebungstemperatur, ohne Kühlvorrichtung und Anlaufzeit (nach DIN 54190-3) (Fouad und Richter 2008; Soldan 2014). Die Anzahl der Detektoren entscheidet über die Wertigkeit der WBK (Nguyen et al. 2010). Einige Autoren verwenden WBK mit einer geringeren Anzahl an Pixeln an Mäusen (David et al. 2013b; Mufford et al. 2016; Gachkar et al. 2017). Andere Autoren gehen davon aus, dass die Auflösung der WBK eine Mindestanzahl von 640×480 Pixeln zur Messung valider Temperaturen bei der Maus nicht unterschreiten sollte (Klir et al. 1990; Song et al. 2007; Hankenson et al. 2013; Crane et al. 2014; Carstens et al. 2016). Für detaillierte und genaue Messaufnahmen darf der Messfleck maximal die Größe des zu messenden Details haben. Um eine korrekte Messung zu gewährleisten, sollte der Messfleck mindestens so gewählt sein, dass dieser höchstens ein Drittel der Größe der kleinsten zu messenden Struktur

beträgt (Wartzek et al. 2011; Soldan 2014). Dadurch wird das Messobjekt auf drei Pixeln abgebildet und wird auf mindestens einer Detektorzelle vollständig gemessen, wodurch einzelne fehlerhafte Detektorzellen weniger Einfluss auf das Messergebnis haben (Fouad und Richter 2008). Weshalb die thermografisch bestimmte Hauttemperatur eher unterschätzt wird (Fouad und Richter 2008). Fehlerhafte Detektorpixel kommen auch bei sehr guter Fertigung der WBK vor (Soldan 2014). Die defekten Detektorpixel zeigen entweder einen fehlerhaften Wert oder den Messwert des Bereichsanfangs oder -endes an. Auf der Detektormatrix kann es bis zu 1 % Funktionsstörungen der einzelnen Detektorzellen kommen. Um keine weißen Messflecke im Thermogramm zu erhalten, werden Werte fehlerhafter Detektorzellen durch einen Rechenalgorithmus eingefügt, indem die bei der Herstellerkalibrierung identifizierten Pixel den Mittelwert der benachbarten Pixel darstellen (Soldan 2014). Um optimale Messergebnisse zu erzielen, sollte eine WBK eine Genauigkeit von $\pm 2\%$ erreichen oder noch übertreffen.

Zur Darstellung der Thermogramme werden die Messsignale der Temperaturdaten entsprechenden Grautönen zugewiesen. Da es für den menschlichen Betrachter nicht möglich ist, derart feine Graustufungen zu unterscheiden, ist eine Falschfarben-Darstellung der Aufnahmen üblich. Die spezifische Ausstrahlung setzt sich aus einem emittierten, reflektierten und transmittierten Anteil zusammen (Soldan 2014). Da im infraroten Spektrum fast alle Objekte nicht transparent sind und bei geringen Messdistanzen mit üblicher Luftfeuchte keine erheblichen Transmissionsverluste durch die Atmosphäre auftreten, entfällt der transmittierte Strahlungsanteil, sprich der Transmissionsfaktor liegt bei null (Fouad und Richter 2008). Das Kirchhoff'sche Strahlungsgesetz besagt, dass im thermischen Gleichgewicht der Absorptionsfaktor eines Objekts dessen Emissionsfaktor entspricht, wobei die absolute Größe des Absorptions- bzw. Emissionsgrades vom vorliegenden Wellenbereich abhängig ist (Fouad und Richter 2008). Der Emissionsgrad beschreibt dabei den Anteil der Strahlung, der von einem realen Objekt im Verhältnis zum idealisierten Strahler emittiert wird (Soldan 2014). Nichtmetallische, nicht blanke Stoffe, weisen in dem für die Thermografie wichtigen Wellenbereich, der langwelligen Wärmestrahlung, einen sehr hohen und nahezu konstanten Emissionsgrad auf (Fouad und Richter 2008). Die materialabhängigen Emissionsgrade werden in Tabellen in Abhängigkeit von Temperatur und Wellenlängenbereich aufgeführt (Wolfe und Zissis 1989) oder können experimentell bestimmt werden (Gerß 2014). Der beschriebene Emissionsgrad der menschlichen Haut liegt zwischen 0,97 und 0,98 (Wolfe und Zissis 1989; Ring 2006; Villasenor-Mora et al. 2009). In murinen Studien nutzt man einen Emissionsgrad von 0,95 (Vogel et al. 2016) oder 0,98 (David et al. 2013a; Crane et al. 2014). In den langen Wellenlängenbereichen unterscheiden sich helle und dunkle Nichtmetalle bezüglich ihres Emissionsverhaltens kaum (Fouad und Richter 2008). Bei langwelliger

Wärmestrahlung ist die Oberflächenfarbe für die Absorption bzw. Emission unbedeutend. Thermogramme können daher mit einem für das gesamte Thermogramm gültigen Emissionsgrad aufgenommen werden (Fouad und Richter 2008).

2.3.1. Anwendung von infraroten Temperaturmessungen und Wärmebildkameras bei der Maus

Funda et al. (1998) publizierten die, mittels WBK ermittelten, dorsalen Temperaturwerte bei Nacktmäusen, um die Unterschiede in der Thermoregulation bei Kältestress mit immunkompetenten Mäusen zu erläutern (Funda et al. 1998). Thermografische Untersuchungen eignen sich zur Darstellung des Einflusses von Nestmaterial auf die murine Körpertemperatur (Gaskill et al. 2013). Thermografie findet Anwendung zur Aufdeckung von defekter Thermoregulation durch wechselnde Umgebungstemperaturen im Mausmodell (Hodges et al. 2008). Mufford et al. (2016) zeigten, dass diese WBK Technik, insbesondere in Verhaltensstudien zum thermalen Stress bei Mäusen, dienlich ist (Mufford et al. 2016). David et al. (2013) untersuchten mittels WBK den Kältestress bei Nacktmäusen in einem IVC-Haltungssystem (David et al. 2013b). Gachkar et al. (2017) dokumentierten mittels WBK die induzierte Vasodilatation der Schwanzgefäße bei Hormonuntersuchungen von Mäusen (Gachkar et al. 2017). David et al. (2013) untersuchten unter Verwendung dieser nicht invasiven Bildgebungsmethode die metabolische Herausforderung für nackte und befellte Labormäuse bei chronischem Kältestress (David et al. 2013a). Kasza et al. (2019) stellten unter Verwendung einer WBK die evaporative Kühlung als Energieprozess im murinen Hautmodell verschiedener Stämme dar (Kasza et al. 2019).

Mittels WBK Technik wurde die Kältereaktion bei neugeborenen Mäusen untersucht (Bollen et al. 2009). Harshaw et al. (2012; 2014) untersuchten individuelles und gruppenassoziiertes thermoregulatorisches Verhalten, sowie geschlechtsspezifische Unterschiede bei Mäusejungen unter Nutzung einer WBK (Harshaw und Alberts 2012; Harshaw et al. 2014). Thermogramme genetisch veränderter Mäuse ermöglichen die Darstellung des Zusammenhangs zwischen Energiehomeostase und Adipogenese (Lee et al. 2010). Thermogramme werden häufig für die qualitative Darstellung der Wärmeproduktion der zitterfreien Thermogenese des BAT verwendet. Carter et al. (2011) zeigten den Nutzen der WBK-Technik für BAT-Untersuchungen bei der kältestressassoziierten Hitzeproduktion im Nacktmausmodell (Carter et al. 2011). WBK wurde zur Darstellung der beeinflussbaren Hitzeproduktion von BAT und des reduzierten Übergewichts im diätassoziierten Mausmodell verwendet (Sugimoto et al. 2014). Crane et al. (2014 & 2015) standardisierten die WBK-Technik für thermogenetische In-vivo-Studien von murinem BAT und publizierten die weitere Anwendung (Crane et al. 2014; Crane et al. 2015). Thermogramme dienen der metabolischen Untersuchung des Vermögens von regulärer Thermogenese des BAT bei genetisch

veränderten Mäusen im Kältestress (Liu et al. 2016). Einen pharmakologischen und genetischen Einfluss von p53 in BAT, das die Regulation von Thermogenese und Körpergewicht bei Mäusen zeigt, stellten Al-Massadi et al. (2016) mittels Thermografie dar (Al-Massadi et al. 2016). Die funktionelle Rolle von p62 auf den Energiehaushalt zeigten Lee et al. (2010) mit Hilfe der Thermografie (Lee et al. 2010). WBK werden zur Untersuchung von thermoeffektiven Dysbalancen mit Hyperkinesen bei Knockout-Mäusen mit thermoregulatorischen Phänotypen in Temperaturwechselstudien verwendet (Garami et al. 2011). Meyer et al. (2017) zeigen die Anwendungsmöglichkeiten der Thermografie zur metabolischen Phänotypisierung durch Bewertung der BAT-Thermogenese bei Labormäusen (Meyer et al. 2017).

Die Technologie der Thermografie kommt bei Mäusen häufig zur Anwendung, um Wärmeverluste darzustellen. Wang et al. (2006) untersuchten mittels WBK den Beitrag der Vasokonstriktion zur Unterdrückung des Wärmeverlustes und der homöothermischen Regulation bei Knockout-Mäusen mit UCP1-Mangel (Wang et al. 2006). Den Vorgang der murinen Kälteadaptation stellten Hofmann et al. (2007) in einer thermografischen Studie dar (Hofmann et al. 2007). Die Thermoregulation durch den Schwanz der Mäuse und eine Hitzeproduktion des BAT, zeigen sich in den Thermogrammen von Warner et al. (Warner et al. 2013).

Die Nutzung mittels Infrarot-Thermometer gemessener Temperaturen wird von Adamson et al. (2013) empfohlen, da die infrarot gemessene Temperatur (irT) in murinen Krankheitsmodellen mit der Chance zu überleben korreliert und invasive Methoden ablösen könnte (Adamson et al. 2013). Infrarote Temperaturen im murinen Infektionsmodell sind geeignet, um Krankheitsverläufe zu monitoren, da Temperaturen den Gesundheitsstatus akkurat widerspiegeln (Bast et al. 2004). In murinem Infektionsmodellen kommen WBK zur frühen Erkennung von Todesanzeichen zum Einsatz (Warn et al. 2003). Die Nutzung von irT zeigt in Infektionsversuchen, dass humane Abbruchkriterien durch einen Gewichtsverlust und eine sinkende Körpertemperatur optimiert werden können (Hankenson et al. 2013). Höfig et al. (2015;2016) nutzen die Wärmebildtechnologie zur Untersuchung der Thermoregulation und deren kardiovaskulären Konsequenzen bei Mäuseböcken in Einzelhaltung (Hoefig et al. 2015;Hoefig et al. 2016).

Die Vorteile der berührungsfreien Infrarotmessung zur Bestimmung der Körpertemperatur durch thermografische Nahaufnahmen der Augenoberfläche, publizierten Vogel et al. (2016) (Vogel et al. 2016). In dieser Arbeitsgruppe entstand auch die Dissertation von Gmoser (2018) zur Erfassung der Körpertemperatur mittels WBK an der Augenoberfläche im Myokardinfarkt-Modell bei Mäusen (Gmoser). Die hormonelle Regulation der Temperatur kann mittels WBK

in einer kardiovaskulären Studie gezeigt werden (Mittag et al. 2012). Song et al. (2007) verfolgten mit thermografischen Beobachtungen des Wachstums von Tumoren einen interessanten Anwendungsansatz bei Nacktmäusen (Song et al. 2007). Tepper et al. (2013) nutzten die WBK-Technik zur Bestimmung von Tumorgroße und Tumortemperatur im Mausmodell (Tepper et al. 2013). Die nichtinvasive Messung von Tumoren beschrieben auch Case et al. (2015) (Case et al. 2015). Insbesondere die Softwareanalyse von Thermogrammen stellt die Anwender jedoch noch immer vor Herausforderungen, die einen routinemäßigen Einsatz dieser nicht invasiven Methode in der Forschung verzögert (Franco et al. 2019).

Die Thermografie eignet sich besonders, um das Wohlergehen von Nagern zu untersuchen und Tierschutzaspekte zu betrachten (Pereira et al. 2018).

2.3.2. Studien mit vergleichenden Temperaturmessverfahren bei der Maus

Es gibt verschiedene Temperaturmessmethoden, die in unterschiedlichen Studien an Versuchstieren genutzt werden. Saegusa et al. (2003) stellten die irT im Vergleich zur rT als Körpertemperatur gegenüber (Saegusa und Tabata 2003). Garami et al. (2011) stellten unterschiedliche Temperaturmessverfahren unter wechselnden Temperaturbedingungen bei Knockout-Mäusen gegenüber und arbeiteten thermoregulatorische Effekte mittels WBK heraus (Garami et al. 2011). Wang et al. (2006) thermografierten Knockout Mäuse zur Darstellung von vasokonstriktorisches Wärmeverlusten und verglichen die Daten mit den rektal gemessenen Temperaturen (Wang et al. 2006). Warn et al. (2003) stellten die Thermografie einem implantierten Transpondersystem gegenüber und zeigten eine Möglichkeit auf, Abbruchtemperaturen im murinen Infektionsmodell als Refinementstrategie zu nutzen (Warn et al. 2003). Mei et al. (2018) hatten implantierte Temperaturtransponder der nichtinvasiven infraroten Temperaturmessung im akuten murinen Krankheitsmodell gegenübergestellt (Mei et al. 2018). Vlach et al. (2000) evaluierten unterschiedliche Telemetrie Systeme zur Messung von Körpertemperatur, um Mortalität im murinen Infektionsmodell vorherzusagen (Vlach et al. 2000).

In einer vergleichenden Infektionsstudie stellten Hankenson et al. (2013) Temperaturmessungen mittels TR und Infrarotthermometer gegenüber, um die Abbruchkriterien durch reduziertes KGW und sinkende Körpertemperatur zu verbessern. Die Autoren konnten den Zusammenhang zwischen der Reduktion von KGW und Absenkung der Körpertemperatur zur Endpunktbestimmung im Infektionsmodell der Maus herausarbeiten (Hankenson et al. 2013).

Es überrascht, dass bislang so wenige Vergleiche zwischen der nichtinvasiven Wärmebildtechnik und gebräuchlichen invasiven Temperaturmessmethoden publiziert sind.

Ein Vergleich von Messverfahren zur Bestimmung der oberflächlichen Temperatur und konventionellen Temperaturmessungen bei der Maus stammt von Newsom et al. (2004) (Newsom et al. 2004). Es fehlt jedoch nach wie vor eine konsequente Prüfung der Messgenauigkeit dieser Routinemethoden zur Temperaturmessung bei Nacktmäusen.

2.4. Wärmebild als Refinement in Tierversuchen

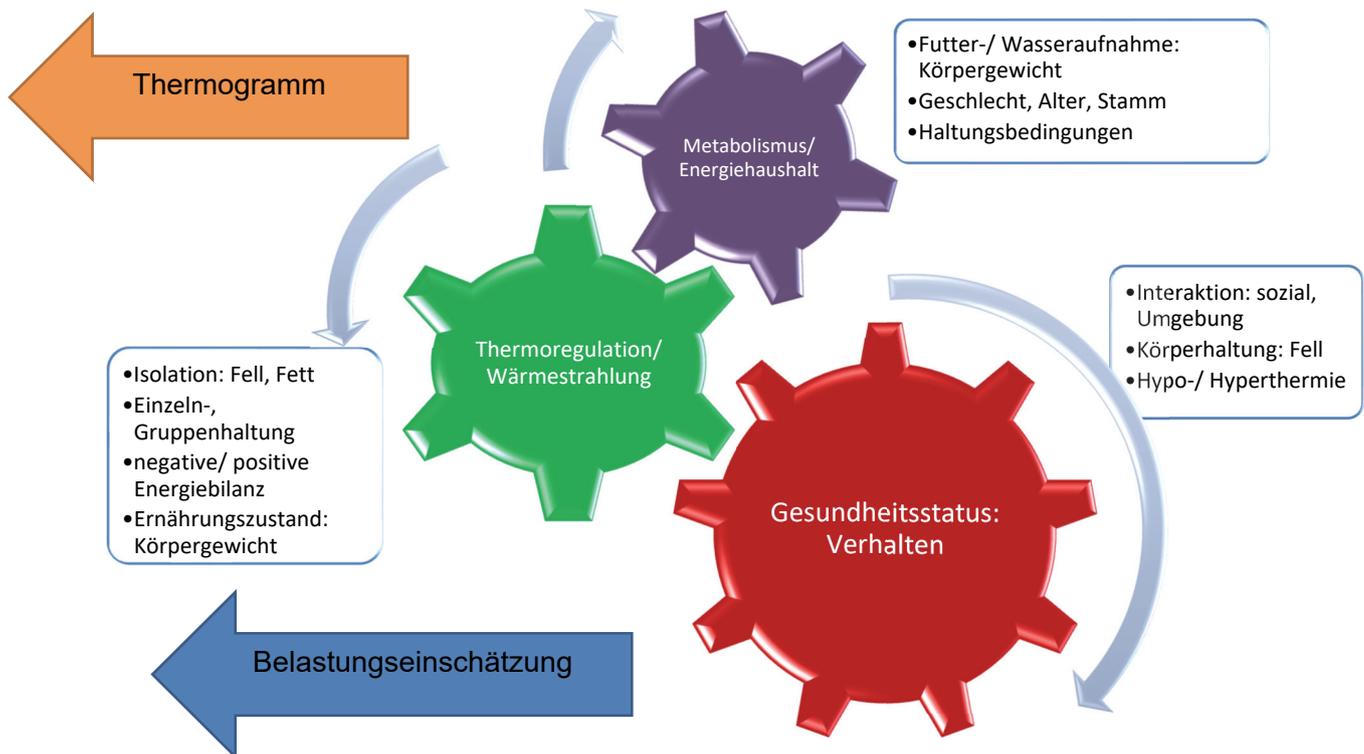


Abbildung 2: Zusammenhang zwischen biologischen Prozessen in der Maus und ihrer Wärmestrahlung (von Kerstin Fiebig entworfen, nach einer Inspiration von Prof. Dr. S. Krämer).

Die Messung der Körpertemperatur stellt einen wichtigen Aspekt für die Anwendung der 3R dar. Temperatur ist ein verlässlicher klinischer Parameter, mit dem das Wohlergehen von Tieren, sowohl in der tiermedizinischen Praxis als auch in wissenschaftlichen Fragestellungen, beurteilt werden kann (Shelton et al. 2006; Jennings et al. 2010). Besonders wichtig wird dieser Parameter bei Arbeiten mit kleineren Versuchsnagern (Stephens Devalle 2005; Chen und White 2006), wie Ratten und Mäuse (Clement et al. 1989; Kort et al. 1998; Warn et al. 2003; Bast et al. 2004; Song et al. 2007; Williamson et al. 2007; Molins et al. 2012; Adamson et al. 2013; Caro et al. 2013; Cates et al. 2014; Arata et al. 2016; Zhang et al. 2016a).

Viele Faktoren beeinflussen die Körpertemperatur, die Verteilung der Temperatur wechselt innerhalb der verschiedenen Körperregionen (Klir et al. 1990; Newsom et al. 2004; Vianna und Carrive 2005; Gmoser 2018). Zudem wird die Temperatur von der Genetik der Tiere (Funda et al. 1998), dem Alter (Gordon et al. 1998), den tageszeitlichen Schwankungen (Ruf und

Heldmaier 1987;Leon et al. 2004;Williamson et al. 2007) und dem Haltungssystem beeinflusst (Funda et al. 1998;Gordon et al. 1998;Leon et al. 2004;David et al. 2013a;Gaskill et al. 2013). Zusätzlich hat frequentes Handling der Tiere einen Einfluss auf die experimentell ermittelte Temperatur (Vlach et al. 2000;Vianna und Carrive 2005;Brunell 2012;Cates et al. 2014).

In tierexperimentellen Studien kann die Körpertemperatur, als Parameter für ein Abbruchkriterium, definiert werden (Vlach et al. 2000;Warn et al. 2003;Trammell und Toth 2011;Adamson et al. 2013;Hankenson et al. 2013;Cates et al. 2014). Körpertemperaturmessungen können hilfreich sein um die Überlebenschancen von Tieren im Experiment zu kalkulieren (Adamson et al. 2013). Vor diesem Hintergrund ist eine tiefe Körpertemperatur mit einer geringeren Überlebenschance assoziiert (Vlach et al. 2000;Bast et al. 2004;Adamson et al. 2013;Cates et al. 2014), eine Erkenntnis, die in Kombination mit anderen Krankheitsanzeichen genutzt werden kann (Bast et al. 2004;Cates et al. 2014), um Tiere frühzeitig aus dem Versuch bzw. der Studie zu nehmen und um unnötiges Leid zu vermeiden (Kort et al. 1998;Vlach et al. 2000;Warn et al. 2003;Bast et al. 2004;Williamson et al. 2007;Trammell und Toth 2011;Cates et al. 2014) und ohne Daten zu verlieren (Adamson et al. 2013).

Die Grundgedanken der „Guten wissenschaftlichen Praxis“ (Forschungsgemeinschaft 2012) legten schon Russel und Burch in Ihrer Arbeit „Principles of Humane Experimental Technique“ von 1959 dar (Russell und Burch 1959). Die Grundsätze dieses 3R-Prinzips, welches für Replacement (Vermeidung im Sinne von Ersatz), Reduction (Verringerung der Anzahl von Tieren) und Refinement (Verfeinerung und Verbesserung) steht, wurden durch die europäische Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere und der daraus resultierenden Novellierung des deutschen Tierschutzgesetzes (Deutschland 2013) in der nationalen Gesetzgebung verankert. Im Sinne des Refinement sollen die Haltungsbedingungen verbessert und alle Abläufe während des Versuchs so verfeinert werden, dass daraus ein maximales Maß an positiven Zuständen (Wohlbefinden) und ein minimales Maß an negativen Erfahrungen (Belastung) für die verwendeten Tiere resultiert (Flecknell 2002;Buchanan-Smith et al. 2005;Tannenbaum und Bennett 2015).

Die Gesundheitskontrolle bzw. die Kontrolle des Wohlbefindens unter Einhaltung des 3R-Prinzips ist heute Routine in der Haltung von Versuchsnagern (Russell und Burch 1959). Das 3R-Prinzip wurde zu einer Standardanforderung für den Schutz der Tiere in der Wissenschaft. Die täglichen Kontrollen in klinischen Studien sind Herausforderungen für die durchführenden Personen, weil jede zusätzliche Belastung durch unnötige Manipulationen des Tieres umgangen werden sollte.

Die Körpertemperatur der Versuchstiere ist ein wichtiger Parameter für Ihr Wohlbefinden (Newsom et al. 2004). Daher ist die Erhaltung des thermischen Gleichgewichts ausschlaggebend für die Labortierhaltung (Rembert et al. 2004). Der Parameter Körpertemperatur kann einerseits als diagnostisches Werkzeug genutzt werden (Toth 2000; Bast et al. 2004; Adamson et al. 2013), andererseits kann der Wert herangezogen werden um Tieren unnötiges Leid zu ersparen (Bast et al. 2004; Ohashi et al. 2013), indem Endpunktkriterien mittels Temperaturwerte bei Versuchstieren verfeinert werden (Wong et al. 1997b; Warn et al. 2003; Nemzek et al. 2004; Trammell und Toth 2011; Adamson et al. 2013; Cates et al. 2014). In diesem Sinne dient die Verwendung von Körpertemperaturdaten in der Versuchstierkunde dem Refinement, als Verfeinerung des Versuchsablaufes, ohne dabei Datenverluste zu riskieren (Adamson et al. 2013). Studienergebnisse mit erhobenen Temperaturdaten sind sicherer zu interpretieren, da die Tiere besser beurteilt werden können und daraufhin die Überlebenswahrscheinlichkeit steigt (Vlach et al. 2000). Die Sterblichkeitsrate hingegen sinkt, da Tiere besser überwacht werden und somit entsteht ein Schutz vor zu hoher Sterblichkeit (Soothill et al. 1992; Wong et al. 1997a; Kort et al. 1998). Die Aussagekraft der Studien steigt durch das Erkennen von pathologischen Körpertemperaturen wie Hypothermie (Ohashi et al. 2013) und Belastungen im Krankheitsmodell (Bast et al. 2004), da das Wechselspiel zwischen Wärmeverlust und Wärmeproduktion angegangen werden kann (Abreu-Vieira et al. 2015; Kaiyala et al. 2015). Die Thermografie ist im Vergleich zu anderen Temperaturmessmethoden im Vorteil, da Ihre berührungslose infrarote Messtechnik die Voraussetzung dafür schafft, Belastungen frühzeitig zu erkennen und das Leid der Tiere zu verringern bzw. zu beenden (Loughmiller et al. 2001; Saegusa und Tabata 2003; Warn et al. 2003; Bast et al. 2004; Chen und White 2006; Brunell 2012; Adamson et al. 2013).

2.5. Hypothese zur Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera an der Nacktmaus

Ziel dieser Arbeit war es, die nichtinvasive und berührungslose Wärmebildmethode an der Nacktmaus zu etablieren. Dafür war es notwendig, die folgenden Hypothesen zu überprüfen.

1. Die qualitative Thermografie ist geeignet, die von Nacktmäusen abgestrahlte thermische Energie (Wärmestrahlung) darzustellen und durch Visualisierung physiologische Zustände zu detektieren.
2. Die quantitative Thermografie stellt eine praktische Anwendung dar, um berührungslos und nichtinvasiv die Temperaturen von Nacktmäusen im physiologischen Bereich reproduzierbar zu messen.
3. Die Thermografie ist im Vergleich mit bereits etablierten Temperaturmessverfahren, bei gleicher Messgenauigkeit nicht invasiv bei Nacktmäusen.

3. Material und Methoden

Die Zielspezies dieser Arbeit ist die Maus (*Mus Musculus*). Nacktmäusen soll die berührungsfreie Thermografie, als Verbesserung der Temperaturmessmethode, hauptsächlich zugutekommen. Im Rahmen dieser Studie war die Nutzung von Mäusen zur Messung der oberflächlichen Hauttemperatur nicht zu umgehen. Zur Reduktion der Tierzahlen wurden alle Mäuse begleitend zu anderen Versuchsvorhaben gemessen. 10 Mäuse waren zusätzlich zur Durchführung des Messmethodenvergleichs notwendig. Der Messmethodenvergleich war in einem Tierversuchsvorhaben (Nr. G277/15) durch die zuständige Genehmigungsbehörde (LaGeSo in Berlin) gestattet.

3.1. Versuchstierhaltung

Die Haltung und Durchführung erfolgte gemäß den Anforderungen, die im Anhang III der Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere definiert sind. Die Durchführung erfolgte unter Einhaltung des „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“(National.Research.Council 2011). Die Versuche wurden im Einklang mit dem deutschen Tierschutzgesetz, der Tierschutz-Versuchstier-Verordnung und der allgemein anerkannten Richtlinie der EU 2010/63 zum Umgang mit Versuchstieren durchgeführt. Dies schloss auch die Anforderungen an die Beleuchtung, Belüftung, Haltungstemperatur sowie Käfiggröße und Besatzdichte ein. Die Tiere wurden in eigens für tierexperimentelles Arbeiten zugelassenen Räumen untergebracht. Die Tierhaltungsräume konnten nur zutrittsbeschränkt durch befugtes Personal über eine Personalschleuse mit Bekleidungswechsel in Form von Overalls, Mundschutz (Masken), Haarnetzen, Laborschuh und Handschuhen betreten werden.

Nach Ihrer Ankunft wurden die Tiere in vorbereitete Käfige mit Enrichment (Nistmaterial und Unterschlupf) in Gruppenhaltung gesetzt und erhielten eine 5- bis 7-tägige Adaptationszeit. Erst nach dieser Adaptationszeit wurden Thermogramme der Tiere neben den üblichen Abläufen angefertigt. Die Tiere wurden für die thermografischen Messungen keiner zusätzlichen Manipulation oder Belastung ausgesetzt. Die infraroten Messungen erfolgten zu geplanten Maßnahmen der primären Versuchsvorhaben, zu Zeitpunkten an denen die Tiere in saubere Käfige umgesetzt, gewogen, zootecnischen Eingriffen zur Markierung unterzogen oder behandelt wurden.

Die Mäuse waren unter entsprechenden tiergerechten Bedingungen, die sich nach der wissenschaftlichen Fragestellung der primären Versuchsvorhaben richteten, untergebracht.

Die verschiedenen Mäuselinien wurden in Barriere Tierhaltungsbereichen, je nach Hygienestatus und Geschlecht, in Gruppen untergebracht. Etwaige Besonderheiten der Haltung in der Versuchsdurchführung werden in den entsprechenden Kapiteln dieser Arbeit explizit erörtert.

Die Versuchsmäuse befanden sich in einer Barrierehaltung mit 12-stündigem Hell-Dunkel-Lichtregime von 6:00 Uhr bis 18:00 Uhr inklusive 30 Minuten Dämmerungsphase und einer minimalen Luftwechselrate von 10 Wechseln pro Stunde. Die Räume hatten eine Raumtemperatur von $23\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ und eine relative Raumluftfeuchte von $50\% \pm 4\%$. Die Versuchsmäuse wurden je nach Linie einzeln oder in Gruppen in offenen (konventionellen) oder geschlossenen Käfigsystemen der Firma Tecniplast (Tecniplast, Buguggiate/ Varese, Italien) untergebracht. Das Verbrauchsmaterial wie Käfige, Einstreu und Anreicherungsmaterial (Häuser, Nistmaterial, Nagehölzer) wurde mittels Sterilisation über einen Durchreichautoklaven in die hygienische Einheit verbracht. Die Tiere erhielten autoklaviertes, nichtangesäuertes Berliner-Trinkwasser ad libitum. Als Futter wurde gammabestrahlt pelletiertes Nacktmausfutter der Firma Ssniff (ssniff NM, #V-1244-703, Ssniff, Soest, Germany) ad libitum zur Verfügung gestellt. Die Tiere wurden auf autoklavierter Pappelholz-Einstreu (Poplar- PAB 6, AsBe-wood GmbH, Buxtehude, Germany) gehalten. Den Tieren standen zusätzlich als Käfigausstattung Nagehölzer (*populus tremula* graving sticks size s, NGS E-021, ABEDD, Vienna, Austria) und Hanf-Nistmaterial (H3279-10 eco-hemps Charge-No. 9355428, Ssniff, Soest, Germany) sowie als Unterschlupf ein roter Maustunnel oder ein Iglu (Plexx, Elst, the Netherlands) zur Verfügung. Es wurden Tiere mit SPF Hygienestatus verwendet, die bei Anlieferung ein entsprechendes Gesundheitszeugnis gemäß FELASA Empfehlungen besaßen. Die Käfige wurden je nach Verschmutzungsgrad 1- bis 2- mal pro Woche gewechselt. Die Wasserflaschen wurden wöchentlich erneuert, die Käfiggestelle einmal im Monat. Die Räume wurden täglich besenrein gesäubert und bei Bedarf, mindestens jedoch einmal wöchentlich, nass gereinigt. Eine Bodendesinfektion mit 2 %igem Lysoformin erfolgte einmal pro Woche. In der Barriere wurde ein gesondertes Hygienemonitoring im Sinne eines Sentinel-Programms durchgeführt. Die einzelnen Versuche erstreckten sich über einen Zeitraum von nicht mehr als 4 Wochen.

3.2. Versuchstier: Maus

Die Hausmaus gehört innerhalb der Ordnung der Nagetiere (Rodentia) zur Familie der Mäuseartigen (Muridae) und zur Gattung der echten Mäuse (*Mus*) (Ewringmann und Glöckner 2007). Mäuse sind noch immer die meisteingesetzte Spezies in der Forschung (Arras et al. 2007; Schuler et al. 2009). Aufgrund der vollständig funktionsfähigen Thermoregulation adulter Mäuse ist bei ausgewachsenen Tieren eine stabile Körpertemperatur zu erwarten. Die

Thermogramme wurden bei klinisch unauffälligen Tieren oder bei Tieren mit bekanntem Gesundheitsstatus durchgeführt. Mäuse, die keinen physiologischen Gesundheitsstatus aufwiesen, wurden als solche gekennzeichnet, sie sind in dieser Arbeit jedoch Einzelfälle. Die Mäuse erfüllten unter Berücksichtigung der spezifischen Tierversuchsanwendung (Linie, Alter und Geschlecht) die Erwartungen für eine Temperaturwertbestimmung.

Die Nude-Mutation ist eine rezessive autosomale Mutation des Gens *Foxn1* (Forkhead box N1), die eine Aplasie des Thymus hervorruft und sich durch die Abwesenheit der T-Lymphozyten darstellt. Der genetische Defekt ist für eine mangelnde Keratinisierung der Haarfollikel und der Epidermis verantwortlich. Dieser Mangel drückt sich in vorübergehenden Vellushaaren aus, die nach dem Verschwinden eine fast komplette Abwesenheit von Fell hinterlassen. Die *Foxn1^{nu/nu}* Mäuselinien sind in der onkologischen Forschung weitverbreitet. Es besteht daher ein großer Bedarf, die Beurteilungsmöglichkeiten zum Tierwohl, in diesen Studien zu verbessern. Für eine Standardisierung in der Temperaturmessung mittels Thermografie ist die nackte Haut der Nacktmaus geeigneter, als die von felltragenden Tieren, da das Fell eine höhere Unsicherheit im optischen Messsystem verursachen kann. Mäuse ohne Fell haben körperlich weniger thermale Isolierung, dadurch wirken sich schon kleinere Veränderungen auf die Thermoregulation aus, die sich in den Messdaten der Thermografie widerspiegeln können.

3.2.1. Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Maus



Abbildung 3: Digitalbild eines Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäusebocks des Messmethodenvergleichs mit s.c. Transponder (Foto von Kerstin Fiebig).

Zum Messmethodenvergleich wurden adulte männliche, Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäuse (Janvier Labs) genutzt. Die immundefiziente nackte Maus gehört zu einem Auszuchtstamm. Diese Albino-Maus mit zugehörigem Genotyp *Tyrc/Tyrc* kommt ursprünglich aus CSAL (Orleans, France) 1979. Die hier verwendete Zuchtlinie ist schnellwachsend und hat gute Aufzuchtzahlen. Durch ihr sehr ruhiges Gemüt eignet sie sich besonders für eine Etablierung

der Methode. Zum Messmethodenvergleich wurden zur Standardisierung ehemalige männliche Zuchttiere verwendet, um Gender-Faktoren zu minimieren und einen thermischen Einfluss durch den Sexualzyklus zu umgehen. Die Mäuse sind großrahmig genug, um DL und TR gleichzeitig zu tragen, ohne die Relation von Implantieren Messsystemen und Größe der Tierkörper über zu strapazieren. Die Gefahr, die Tiere über das unerlässliche Maß hinaus zu belasten, wurde damit verhindert.

3.2.2. BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus

Die erste nackte Maus erschien 1962 in einem Auszucht-Albino-Mausbestand im Ruchill Hospital, Glasgow. Diese Mutation wurde durch Rückkreuzung auf den stabilisierten genetischen Hintergrund der Inzucht-BALB/cAnN-Maus übertragen. Der genetische Hintergrund wurde 1923 von MacDowell aus einem Bestand an Albino-Mäusen ausgewählt, die 1913 von Bagg etabliert wurden. Der kongene Inzucht-Mäusestamm BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj (Janvier Labs) ist eine albino Maus, die durch Rückkreuzung den entsprechenden Genotyp A/A, Tyrc/Tyrc, Tyrp1b/Tyrp1b – MHC bzw. Haplotype H2d hat. Diese von Dr. GRIST identifizierte Mutation ist autosomal-rezessiv und tritt im Foxn1-Gen (Forkhead Box N1) (Chromosom 11) auf. Es verursacht eine Thymusaplasie, die zu einer Immunschwäche führt. Dieser Stamm kann während der Handhabung aggressiv sein.

3.3. Versuchsplanung

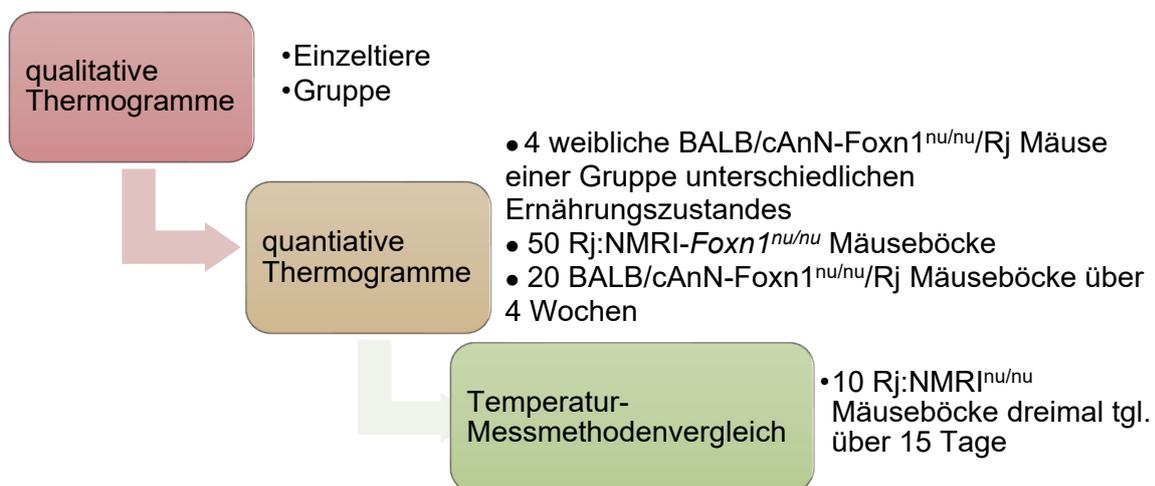


Abbildung 4: Versuchsplan zur Etablierung der Wärmebildkamera an der Nacktmaus (Entwurf von Kerstin Fiebig).

Die Arbeit befasst sich mit der Anwendung der Thermografie an der Nacktmaus. Die Messmethode musste auf das Messobjekt „Maus“ übertragen werden. Für die methodische Umsetzung der Arbeit hieß dies, die verschiedenen Einflussfaktoren auf die Thermoregulation zu beachten. Zu Beginn der Arbeit wurden einige hundert Thermogramme an verschiedenen Mäusen in unterschiedlichen Haltungssituationen angefertigt. Diese Thermogramme wurden

qualitativ, d. h. als relative Temperatur (sog. „buntes Bild“), ausgewertet und auf Limitationen und Fehlerquellen untersucht. Vorangegangene Kenntnisse anderer Autoren zur Temperaturverteilung am Tierkörper wurden mit unterschiedlichen Analyseverfahren bearbeitet. Zur Prüfung der Effektivität der Thermografie als Zusatz zur Inaugenscheinnahme wurden Vergleichsmessungen von Mäusen mit unterschiedlichen Ernährungszuständen durchgeführt. Die Etablierung der WBK- Messmethode bedingte die Anfertigung quantitativer Thermogramme, d. h. Analysen von absoluten Temperaturdaten. Daher folgten Serienmessungen von adulten Nacktmäusen zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Messdaten. Der Vergleich verschiedener Temperaturmessverfahren diente der Etablierung der WBK an Nacktmäusen.

3.3.1. Thermografie

Die oberflächliche Körpertemperatur der Mäuse wurde in einer Käfigschale beim Wiegen oder im IVC (Heimkäfig) ohne Käfiggitter gemessen. Der Käfig wurde dazu möglichst erschütterungsfrei unter Einhaltung der Hygienemaßnahmen in eine Sterilwerkbank gestellt. Bei Messungen im Heimkäfig wurden das Maushaus, sowie das Nistmaterial aus dem IVC entnommen, um freie Sicht auf das Messobjekt, die Maus, zu haben. Oder die Maus wurde mittels tierschonender Cup-Methode (Hurst und West 2010) aus ihrem Heimkäfig in eine Waageschale gesetzt, um das Gewicht zu ermitteln, währenddessen das Thermogramm mit der WBK erstellt wurde. Dazu wurde die WBK FLIR E 40 per Hand aus einer Entfernung von ca. 0,5 m in einem unbestimmten Winkel auf die im Käfig befindliche Maus gerichtet und manuell fokussiert. Es wurde eine Emissionsgrad-Einstellung von 0,98 verwendet. Die Tiere wurden während der gesamten Messung nicht berührt.

Das Modell E40 der Firma FLIR ist eine flexible und mobile WBK mit einer thermalen Auflösung von 160×120 Pixeln (19200 Gesamtpixel) und einem Abstand zwischen den Detektorzellen von $17 \mu\text{m}$. Der Detektor besteht aus einem ungekühlten Mikrobolometer, in Form eines Focal-Plane-Array, das im Spektralbereich von $7,5 \mu\text{m}$ bis $13 \mu\text{m}$ misst. Die WBK hat eine thermale Empfindlichkeit von $< 70 \text{ mK}$ bei $+30 \text{ }^\circ\text{C}$. Der horizontale Betrachtungswinkel des Infrarotobjektivs, also das Sichtfeld, liegt bei $25^\circ \times 19^\circ$ mit einem minimalen Fokusabstand von $0,40 \text{ m}$ zum Messobjekt. Die WBK FLIR E40 kann bei einem vom Hersteller angegebenen minimalen Abstand von 40 cm verwendet werden. Bei diesem minimalen Abstand zwischen Maus und WBK ergibt sich eine gesamte Messfläche von $18 \text{ cm} \times 13 \text{ cm}$. In dieser Messfläche kann technisch der kleinste Messfleck von $3,2 \text{ mm}^2$ erfasst werden. Bei einer Brennweite von 18 mm ergibt sich für das Modell E40 eine geometrische Auflösung bzw. ein momentaner Sehwinkel von $2,72 \text{ mrad}$. Die WBK FLIR E40 ist zur Einzelaufnahme, nicht aber zur radiometrischen Videoaufnahme, befähigt. Die Thermogramme werden manuell fokussiert.

Die WBK FLIR E40 hat eine maximale Aufnahmefrequenzleistung von 9 Hz. Das entspricht maximal 540 Thermogrammen je Minute, ohne neue manuelle Fokussierung. Mit neuer manueller Fokussierung ist die maximale Anzahl an Thermogrammen je Minute geringer. Die Thermogramme werden auf einem integrierten 3,5-Zoll-LCD-Touchscreen-Display mit 320 × 240 Pixeln dargestellt. Die WBK FLIR E40 misst Objekte im Temperaturbereich von –20 °C bis +120 °C mit einer Genauigkeit von ± 2 °C oder ± 2 % im messkalibrierten Bereich (bei Umgebungstemperaturen von 10 °C bis 35 °C und im vorgegebenen Mess-Temperaturbereich). Die WBK FLIR E40 hat inkl. Batterie ein Gesamtgewicht von 0,869 kg. Die Thermogramme und Digitalbilder wurden, automatisch fortlaufend nummeriert, auf einer 2 GB-SD-Karte gespeichert, die in der WBK integriert war. Zur Auswertung wurden die Thermogramme mittels FLIR Tool+ Software bearbeitet und in Microsoft Excel überführt.

3.3.2. Qualitative thermografische Analyse

Zur qualitativen Analyse wurden verschiedene Nacktmäuse systematisch als Einzeltier und/oder Tiere einer Käfiggruppe in den Tierhaltungsräumen mittels FLIR E40 WBK aufgenommen und ausgewertet. Bei der Analyse wurden die verschiedenen zur Verfügung stehenden Einstellungen der Tool+ Analysesoftware (FLIR) geprüft und deren Einfluss auf die Thermogramme und die Auswertung betrachtet.

3.3.2.1. Einzeltiere

Zur Einzeltiermessung wurden die adulten, weiblichen und klinisch gesunden Mäuse mittels Cup-Methode in eine separate Käfigschale gesetzt und wie zuvor beschrieben mit der WBK FLIR E40 thermografisch dargestellt. Die Mäuse des Tierhaltungsraumes waren unmittelbar zuvor keinem Stress, weder durch Umsetzen in saubere Käfige, noch durch Wasserflaschenwechsel oder Reinigung des Raumes, ausgesetzt. Vor und während der Messung war keine weitere Person im Raum. Zur qualitativen Analyse wurde eine zeitgleich erstellte Digitalaufnahme mit dem entsprechenden zugehörigen Thermogramm verglichen. Die verschiedenen Einstellungen der Analysesoftware wurden optimiert. Die Einstellung der Farbpalette des Thermogramms wurde variiert. Eine einheitliche Farbpalette für weitere Thermogramme der Arbeit wurde auf „Hoch-/Feinkontrast Regenbogen“ eingestellt. Die Farbskala und der dazugehörige Temperaturbereich wurden wiederholt geändert. Die Auswirkung der Farbskala wurde eingeschätzt, und für weitere Thermogramme wurde die Farbskala auf einen unteren Wert von 26,00 °C und einen oberen Wert von 38,00 °C (12,00 °C Temperaturspanne) definiert. Die Einflussfaktoren von Einstreu, Käfiganreicherungsmaterial, wie dem Unterschlupf und einige Limitationen bei der Erstellung von Thermogrammen wurden dokumentiert. Die Thermogramme der Einzeltiere wurden qualitativ untersucht. Ohne Fixation konnten die Tiere die Messebene verlassen, wenn sie sich

auf die Hinterbeine stellen, um die Grenzen über die Käfigschale hinaus zu erkunden. Tiere, die durch einen Sprung den separaten Käfig komplett verließen, konnten nicht mehr gemessen werden. Diese Tiere liessen ein erhöhtes Stresslevel erwarten. Die Anzahl der Tiere, die aktiv die Messkäfigschale durch einen Sprung verließen, war stammspezifisch unterschiedlich.

3.3.2.2. Gruppen

Die weiblichen adulte Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse (Janvier Labs) der Gruppenaufnahmen wurden 7 Tage vor der Thermografie mittels Textmarker an der Schwanzbasis oder hinteren Körperoberfläche gekennzeichnet. Neben dem Laboranten und der Tierärztin, die Studiendurchführende war, befand sich vor und während der Messung noch ein weiterer Tierarzt im Tierhaltungsraum. Die klinisch unauffälligen Mäuse der 9er- Gruppe wurden unmittelbar nach dem routinemäßigen einzelnen Wiegen gemeinsam in einem sauberen Käfig, wie zuvor beschrieben, thermografiert. Bei der qualitativen Analyse wurden die aus der Literatur beschriebenen methodischen Limitationen überprüft und einzelne Tiere mit ihrer Käfiggruppe vergleichend beschrieben.

3.3.3. Quantitative thermografische Analyse

Zur Prüfung, ob die Thermografie geeignet ist, die von Nackmäusen abgestrahlte thermische Energie (Wärmestrahlung) darzustellen und durch Visualisierung physiologische Zustände zu detektieren, wurden Mäuse systematisch in den Tierhaltungsräumen mittels WBK FLIR E40 aufgenommen, um absolute Temperaturwerte quantitativ auswerten zu können.

3.3.3.1. 4 adulte, weibliche BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse unterschiedlichen Ernährungszustands

Von vier adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen wurden 10 Thermogramme sowohl pro Einzeltier (n = 4), als auch von der gesamten Käfiggruppe, wie zuvor beschrieben, angefertigt. Zur quantitativen Analyse der Einzeltieraufnahmen wurde jeweils die Maximaltemperatur eines jeden Thermogramms genutzt und diese Werte miteinander verglichen. Des Weiteren wurde in den Thermogrammen der einzelnen Mäuse ein Messbereich als viereckige Fläche über dem Körper ausgewertet. Die quantitative Analyse erfolgte in Form einer viereckigen Messfläche. Die Analysefläche wurde als Rechteck im Bereich des Nackens und der Messpunkt in dieses Rechteck festgesetzt.

3.3.3.2. 50 adulte männliche Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse

Zur Erstellung von irT-Daten wurden Messungen an 50 klinisch unauffälligen, adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen erstellt. Zur Minimierung von Messvarianzen durch

die Beschaffenheit und Funktion des Fells wurden die Messungen an Nacktmäusen durchgeführt. Bei adulten Tieren ist von einer vollständigen Funktionsfähigkeit der ausgereiften Haut und einer komplett entwickelten Thermoregulation auszugehen. Die Böcke waren einzeln untergebracht, um Hautirritationen durch Bissverletzungen aufgrund von Rangordnungskämpfen zu vermeiden. Zuvor wurden keine anderen Tätigkeiten, die Stress im Tierhaltungsraum hätten verursachen können, durchgeführt (z. B. Umsetzen, Wasserflaschenwechsel oder Raumreinigung). Vor und während der Messung war keine weitere Person im Tierhaltungsraum. An zwei aufeinander folgenden Tagen wurden die insgesamt 50 Mäuseböcke gemessen. Davon wurden am Tag 1 Maus # 1 - 15 vormittags (ca. 8.00 Uhr - 11.00 Uhr) und # 16 - 30 nachmittags (13.00 Uhr - 15.30 Uhr) und die anderen 21 Tiere (# 31 - 50) am Tag 2 von 12.30 Uhr - 16.00 Uhr fortlaufend in numerischer Reihenfolge gemessen. Pro Tier ($n = 50$) wurden 10 einzelne Thermogramme wie beschrieben aufgenommen. Die Messung pro Maus dauerte je nach Aktivität und Fokussierungsgeschwindigkeit mit der WBK FLIR E40 zwischen 3 und 5 Minuten. Von Maus # 6 und # 7 fehlte je ein Thermogramm nach der Übertragung auf den PC, sodass von diesen beiden Tieren 9 Thermogramme zur Analyse genutzt wurden. Zur quantitativen Analyse wurde manuell ein rechteckiger Bereich über die im Thermogramm ersichtliche Maus projiziert. Aus jedem einzelnen Thermogramm wurde die im Rechteck resultierende maximale irT (irT_{max}) und der MW aller irT_{max} zur Beurteilung herangezogen.

3.3.3.3. 20 adulte männliche BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse über 4 Wochen

Die Thermogramme sollten nicht nur einmalig eine Temperatur messen können, sondern auch wiederholbare Ergebnisse über einen längeren Zeitraum bringen können. Dazu wurden 20 adulte männliche BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse über einen Zeitraum von 4 Wochen gemessen. Die Mäuseböcke wurden in Gruppen von je 4 Tieren gehalten. Die IVC's und Wasserflaschen wurden zweimal wöchentlich durch saubere erneuert. Um einmal zusätzliches Handling der Tiere durch das Umsetzen zu vermeiden, wurden die Mäuse direkt nach der Thermografie (dienstags) in saubere IVC umgesetzt.

Nach dem Umsetzen in neue IVC kam es in den Käfiggruppen vermehrt und wiederholt zu Auseinandersetzungen zwischen den Tieren, welche z. T. Bissverletzungen durch Rangordnungskämpfe zur Folge hatten. Die Tiere wurden während der gesamten Zeit zur Stressminimierung ausschließlich von einer Person betreut. Die Messung erfolgte im Tierhaltungsraum, wobei während der Messung keine zweite Person im Tierhaltungsraum anwesend war. Die Tiere wurden eine Woche vor den Messungen an den Messablauf gewöhnt. Während dieser Phase wurden die Mäuse einmal täglich kurz in eine leere Käfigschale separiert und mithilfe von Haferflocken trainiert dort ruhig zu verweilen. Die 5

Käfiggruppen aus je 4 einzelnen Tieren wurden für jede thermografische Messung in randomisierter Reihenfolge ausgewählt. Zur Messung wurde jede Maus mittels Cup-Methode aus dem IVC in eine leere Käfigschale transferiert und während der Körpergewichtsmessung 3 einzelne Thermogramme, wie zuvor beschrieben, erstellt. Die gesamte Dauer für die Messung der 20 Mäuseböcke lag bei 2 bis 2,5 Stunden. Zur Analyse wurde der einzelne maximale irT -Wert der 3 Thermogramme genutzt. Thermogramme von Maus # 19 und # 20 fehlen einmalig nach der Übertragung auf den PC, sodass für Maus # 19 und # 20 einmal keine Daten erhoben wurden.

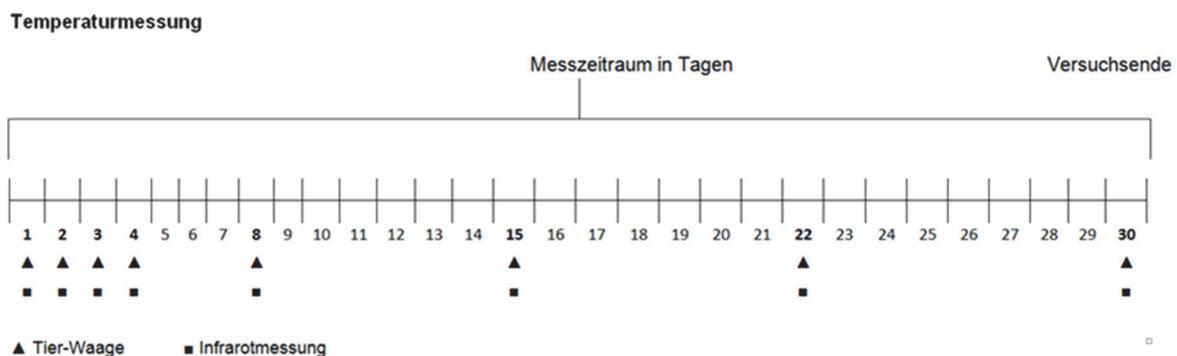


Abbildung 5: Zeitstrahl der Messfrequenz von 20 adulten männlichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen über vier Wochen (entworfen von Kerstin Fiebig).

3.4. Messmethodenvergleich: 10 adulter männlicher Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse

Die Ergebnisse des Methodenvergleichs zur Temperaturmessung wurden teilweise bereits veröffentlicht (Fiebig et al. 2018). Die Thermografie sollte im Vergleich zu etablierten Temperaturmessmethoden evaluiert werden und reproduzierbare Ergebnisse liefern. Die wissenschaftlichen Erkenntnisse zu den Körpertemperaturmessungen können nur am bzw. im lebenden Tier generiert werden. Daher wurde in einem genehmigten Versuchsvorhaben die Temperaturmessung mittels WBK mit 3 standardmäßig angewendeten Temperaturmessverfahren bei 10 adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen verglichen. Ziel ist ein Abgleich der gängigen Methoden untereinander und eine beweisführende Darstellung der Messgenauigkeit der WBK im Vergleich zu den üblichen, invasiveren Messmethoden. Aus den Versuchsergebnissen soll direkt eine nicht invasive, tierschonende Methode zur genaueren Temperaturmessung der Maus etabliert werden. Ziel ist es, eine routinetaugliche, stressfreie Temperaturmessmethode zur besseren Überwachung des

Tierwohls, zu etablieren. Die Messungen zur Methodenetablierung wurden mit adulten männlichen, nackten NMRI Mäusen durchgeführt. Es wurden 10 ausgewachsene (10 Monate alte) Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* ehemalige Zuchtböcke albino-Tyr^c/Tyr^c verwendet. Die adulten Mäuseböcke waren in Einzelhaltung untergebracht, da soziale Interaktionen die Oberflächentemperatur beeinflussen und Zuchtböcke nicht wieder vergesellschaftet werden können. Die Böcke hatten ein Nagerlaufrad mit 12 cm Durchmesser (Heimtier-Land, Nürnberg, Germany) zu ihrer Nutzung.

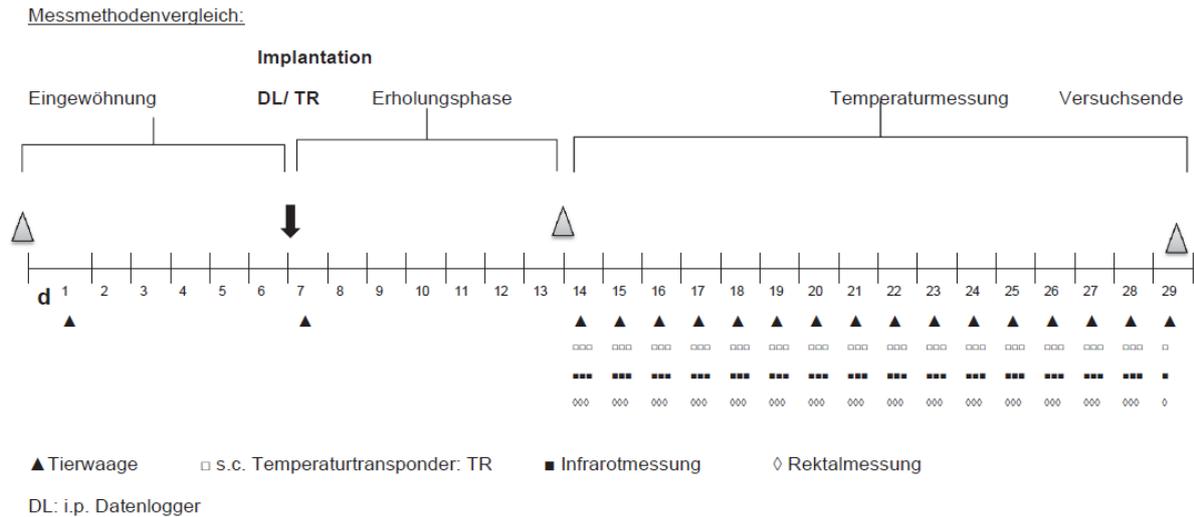


Abbildung 6: Zeitstrahl des Messmethodenvergleichs von 10 adulten männlichen Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäusen (entworfen von Kerstin Fiebig).

3.4.1. Temperatursensitive Transponder (TR)

Die subkutan implantierten Temperaturtransponder mit Applikator (IPTT-100, Bio Medic Data System, Delaware, USA) wurden nach Herstellerangaben verwendet. Der Transponder (TR) ist 14 mm lang und hat einen Durchmesser von 2,2 mm bei einem Gewicht von 0,12 g. Die standardmäßigen temperatursensitiven TR wurden mit einer Messauflösung von 0,1 °C im Bereich von 32,0 °C bis 42,0 °C und einer Messgenauigkeit von 0,4 °C (bei 35,0° bis 39,0 °C) bzw. 1,0 °C (bei 32,0 °C bis 42,0 °C) vom Hersteller zertifiziert, aber nicht kalibriert, angeliefert. Die Anlieferung erfolgte in einer Verpackung mit 100 Stück. Zum Ablesen der TR-Identifikationsnummer und der subkutanen Temperatur (scT) des jeweiligen TR wurde ein handgehaltener portabler Ablese Scanner (DAS-7007S, Bio Medic Data System, Delaware, USA) genutzt.

3.4.2. Datenlogger (DL)

Es wurde ein temperaturmessender Datenlogger (DL) DST Nano-T (Starr Oddi, Gardabaer, Iceland) zur kontinuierlichen intraperitonealen Messung verwendet. Je ein DL wurde nach Herstelleranleitung i.p. pro Maus implantiert. Der DL hat eine Größe von 17 mm und einen Durchmesser von 6 mm bei einem Gewicht von 1 g. Laut Herstellerangaben hat der DL eine Temperaturlösung von 0,032 °C und eine Temperaturgenauigkeit von 0,2 °C (bei 5 °C bis 45 °C). Zur Programmierung wurde die Mercury Software für DST T Micro Temp Record in Kombination mit der Wizard-Kommunikationsbox DST T, RS232C 9 pin serial (Starr Oddi, Gardabaer, Iceland) im COM 6 genutzt. Alle Uhren (TR, WBK, DL) wurden 10 Tage vor der Implantation für die Messungen synchronisiert. Der Hersteller der DL gibt eine Genauigkeit der Zeit (Abweichung) von 1 Minute je Monat an. Die DL wurden nach Anleitung aus dem Herstellerhandbuch (Mercury Graphic Supporting Software) so programmiert, dass je Minute eine Temperaturmessung erfolgte. Die DL begannen mit der Temperaturlaufzeichnung 6 Tage nach der Implantation. Zusätzlich wurden während der Studiendauer ein nicht implantierter TR und ein nicht implantierter DL in einem tierleeren IVC mit Einstreu untergebracht, um die Messgenauigkeit abzugleichen. Diese Daten wurden mit den Werten des Temperatur-Monitoring der Raumüberwachung verglichen. Die Hersteller der TR und DL geben eine geringere Genauigkeit der Messsysteme im Bereich der Raumtemperaturen an, sodass die Daten in der Analyse nicht berücksichtigt wurden.

3.4.3. Rektalsonde/-thermometer (RT)

Eine Rektalsonde (RT) mit dem digitalen Präzisionsthermometer des Modells 5885 mit PRT (Platinum Resistance Thermometer) und Thermocouple inputs der Firma Tinsley (H. Tinsley & Co Ltd., New Addington, Croydon, England) mit einer Messgenauigkeit von 0,01°C wurde zur rektalen Messung (rT) genutzt. Die Rektalsonde wurde einmalig vor Versuchsbeginn kalibriert. Zudem wurde eine Funktionskontrolle am Tag 8 der Temperaturmessungen und routinemäßig jeden Morgen ein Abgleich mit einer Kalibrierflüssigkeit durchgeführt.

3.4.4. Wärmebildkamera FLIR T660

Die flexible und mobile Wärmebildkamera (Infrarotkamera, WBK) des Modells T660 der Firma FLIR (FLIR Systems, Inc., USA) wurde nach Herstellerangaben eingestellt. Der Detektorabstand, der Focal-Plane-Array beträgt 17 µm und ist ein ungekühltes Mikrobolometerarray, das im Spektral bzw. Wellenlängenbereich von 7,5 µm bis 14 µm misst. Es wurde eine Brennweite von 25 mm genutzt, welche eine geometrische Auflösung bzw. einen momentanen Sehwinkel von 0,68 mrad ergibt. Die WBK FLIR T660 hat eine thermale Empfindlichkeit (rauschäquivalente Temperaturdifferenz) von < 20 mK bei +30 °C und ein Sichtfeld/ Sehwinkel (horizontale Betrachtungswinkel eines Infrarotobjektivs) (FOV) von 25° ×

19° mit einem minimalen Fokusabstand von 0,25 m. Die WBK FLIR T660 mit 640 x 480 Messpunkten kann Strukturen auflösen und Objekte größer/gleich 0,46 mm mit 24° Optik (Normalobjektiv) messen. Bei einem minimalen Abstand von Maus und WBK von 40 cm, hat die WBK eine gesamte Messfläche von 18 cm x 13 cm. In dieser Messfläche wird technisch der kleinste Messfleck mit 0,83 mm² gemessen. Die WBK FLIR T660 misst nach Herstellerangaben im Temperaturbereich für Messobjekte von -40 °C bis +150 °C mit einer Messgenauigkeit von ±1 °C oder ±1 % im messkalibrierten Bereich. Die Handhabung der WBK FLIR T660 wurde vorab getestet, um persönliche Bedienungsfehler ausschließen und standardisiert arbeiten zu können. Die maximale Aufnahmefrequenz der WBK FLIR T660 beträgt 30 Hz, d. h. sie benötigt mindestens eine Messzeit von 30/60 Sekunden pro Thermogramm. Dies entspricht einer maximalen Anzahl von 1800 Thermogrammen je Minute. Die mobile WBK FLIR T660 ist zur Aufnahme von radiometrischen Infrarot-Videos (IRV) im CSQ-Format befähigt, ohne direkt an eine PC-Einheit angeschlossen zu sein. Die Funktion des Autofokus der WBK FLIR T660 ermöglicht eine stufenlose automatisch fokussierte Videoaufnahme. Die Thermogramme werden auf einem integrierten 4,3-Zoll-LCD-Touchscreen-Display mit 800 × 480 Pixeln dargestellt. Die WBK FLIR T660 hat eine wiederaufladbare Lithium-Ionen-Batterie, welche nach Herstellerangaben bei 25 °C und bei üblichem Gebrauch über 2,5 Stunden hält. Die WBK FLIR T660 hat bei einem Gewicht von 1,3 kg eine Größe von 143 × 195 × 95 mm, weshalb sie ausschließlich in Kombination mit einem Stativ und dazugehörigem Bedienjoystick (190X Aluminium 3-Section Tripod mit 496RC2 Ball Head und Additional Adapter für 322RC2, Manfrotto, Italien) verwendet wurde. Zur Sicherung der ID der Maus in den Thermogrammen wurden 1 bis 2 Digitalbilder mittels WBK erstellt, anschließend erfolgte eine Umstellung auf radiometrische Messung. Es wurde ein 10 Sekunden langes IRV aufgezeichnet. Die irT-Daten wurden auf einer 4GB-SD-HC Speicherkarte in automatisch fortlaufender Nummernvergabe in einem radiometrischen CSQ-Format gespeichert. Es wurde kontinuierlich die automatische Bildeinstellung der WBK verwendet, Änderungen der Temperaturskalen oder Farbeinstellungen wurden zur grafischen Darstellung am PC vorgenommen. Die IRV wurden mittels Kamerasoftware FLIR Tools+ in der Version 5.3.15320.1002 (FLIR System, Inc., USA) nach genauen Handbuchangaben auf einen PC übertragen.

3.4.5. Erfassung des Gewichts

Die Tiere wurden während der irT Messungen automatisch gewogen. Die elektronische Präzisionswaage war unter der separierten Käfigschale positioniert. Die Tiergewichte (KGW) wurden durch die MW Bildung aus 5 Werten durch die Waage automatisch erfasst. Die KGW wurden automatisiert direkt per Bluetooth-Technik in eine Microsoft Excel-Tabelle übermittelt und gespeichert. Die Tierwaage wird jährlich von einer externen Firma gewartet und kalibriert.

3.4.6. Narkose und chirurgischer Eingriff für Implantation

Der chirurgische Eingriff wurde in eigens dazu bereitgestellten Räumlichkeiten (operative Raumausstattung, erhöhte Luftwechselrate, erhöhtes Reinigungsintervall) durchgeführt. Alle Eingriffe wurden vor der Durchführung mehrfach in Ausbildungseinheiten unter Anleitung trainiert. Zum Zeitpunkt des Eingriffs wurden alle operativen Techniken sicher beherrscht. Die kleineren Eingriffe der s.c. Implantation der TR wurden von einer Tierärztin durchgeführt. Die größeren Eingriffe der i.p. Implantation der DL, welche als Laparotomie zählt, wurden mit der Assistenz einer erfahrenen Biologielaborantin und einem zweiten Tierarzt durchgeführt. Zur Reduktion der Gefahr einer mikrobiologischen Kontamination wurden aseptische Techniken genutzt. Es wurde ein sauberes steriles Operationsumfeld geschaffen, alle Körperstellen im Bereich des chirurgischen Eingriffs des Tieres wurden desinfiziert, verwendete Instrumente sterilisiert und wenn möglich, wurde steriles Einwegmaterial genutzt.

6 Tage vor Studienbeginn wurden in die Mäuse je ein DL und ein TR mittels einfacher aseptischer chirurgischer Technik implantiert. Dazu wurden die Mäuse zuvor in einer vorgefluteten Inhalationsbox mit 3 % Isofluran (100 % V/V Forene®, AbbVie Deutschland GmbH & Co KG, Ludwigshafen, Germany) und Sauerstoff anästhesiert. Während des Eingriffs wurden die Tiere engmaschig durch ein intraoperatives Monitoring überwacht. Zur Überwachung der Anästhesietiefe wurden die Zwischenzehenreflexe geprüft. Sobald der Lidreflex erloschen war, wurde eine Augensalbe (künstliche Tränen) verabreicht. Die Maus wurde an eine Narkose-Mund-Maske auf dem OP-Platz mit Wärmeplatte (34 °C) unter dem Operationstuch auf dem Rückenliegend positioniert. Die Haut der linken Flankenregion der Maus wurde mit 0,4 ml Isopropyl-Alkohol-Pads (60 mm x 30 mm, Ref. 999979, Paul Hartmann AG, Heideheim, Germany) desinfiziert. Alle Mäuse erhielten 0,4 ml eines nicht-steroidalen Analgetikums, bestehend aus einer Ringer-Laktat-Lösung (SERAG-Wiessner KG, Naila, Germany) mit 0,2 mg Caprofen (Rimadyl®, Pfizer Animal Health SA, Louvain-la-Neuve, Belgien) subkutan ca. 5 Minuten vor dem Hautschnitt injiziert. Zur Desinfektion der abdominalen Schnittstelle wurde Betaisodonalösung mit 50 % 2-Propanol und 1 % Povidon-Jodine (Braunoderm®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany) genutzt. Mit dem Skalpell wurde ein 10 mm langer Hautschnitt abdominal entlang der Linia alba durchgeführt. Die Haut wurde vom Bauchfell (Peritoneum) getrennt und die Bauchhöhle eröffnet. Ein steriler DL wurde mittels steriler Pinzette unfixiert in den Bauchraum gelegt und die Bauchhöhle mit 2 bis 3 Einzelheften absorbierbarem Faden (chirurgisches Nahtmaterial) 70 cm ETHICON vicryl viola Intrecciato mit 4-0 (1.5PH.Eur.) Nadel FS-2S (19 mm 3/8 c) (Johnson+Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Germany) vernäht. Die Haut wurde mit 2 bis 3 Hautklammern geschlossen (AESCULAP, Tuttlingen, Germany) 7,5 mm x 1,75 mm. Die Maus wurde danach vom Mundstück entfernt und auf den Bauch gelegt. Die Region zwischen den Schulterblättern

wurde mit Alkohol-Pads desinfiziert. Der TR wurde mittels zugehörigem Applikator im Bereich des Nackens unter die Haut (s.c.) eingesetzt. Dieser Bereich stellte sich bei vorhergehenden Thermogrammen von Nacktmäusen als das wärmste Hautareal dar und befindet sich nicht im Nahtbereich des implantierten DL. Die Hautöffnung des s.c. TR wurde mit Gewebekleber verschlossen (blue Histoacryl (B. Braun Surgical, Rubin, Spain) produced from enbucrilate). Unmittelbar nach der Implantation wurde erneut die TR-Identifikation und die Funktion der scT-Messung getestet. Eine weitere scT wurde direkt nach der Anästhesie genommen, aber die Ergebnisse nicht genutzt. Die Tiere wurden bis zur motorischen Aktivität weiter auf einer Wärmeplatte bei 34 °C gehalten. Jede Maus wurde in einen sauberen IVC mit trockener autoklavierter Einstreu gesetzt. Das postoperative Monitoring erfolgte 120 Minuten lang in einem ruhigen, abgedunkelten Raum. Die Mäuse wurden täglich zur Kontrolle Ihrer Gesundheit und der abdominalen Wundnaht per Cup-Methode in einen leeren IVC ohne Käfigdeckel separiert. Im Anschluss wurde die scT gemessen, die Maus kurz auf eine freie Tischfläche zur Beurteilung der Heftklammern gesetzt und daraufhin wieder in ihren Heimatkäfig gesetzt. Dieses Training diente dem Refinement, da vorheriger Umgang mit den Tieren (Handling) den Stress für die Tiere mindert und so konstantere Temperaturdaten zu erwarten waren. Nach der Erholungsphase von 6 Tagen wurde mit den Temperaturmessungen für den Methodenvergleich begonnen.

3.4.7. Temperaturmessung

Um die Methodenevaluierung durchzuführen, wurde der Ablauf der Messungen wie folgt strukturiert. Über einen Zeitraum von 14 Tagen wurden dreimal täglich im sechsstündigen Abstand (ca. 7:00Uhr, 13:00 Uhr, 19:00 Uhr) die Temperaturmessungen mittels WBK, TR und RT bei jeder der 10 Mäuse wiederholt. Am 15. Tag wurden die Mäuse einmal am Morgen gemessen. Die Nutzung des TR ermöglicht eine Identifikation der Tiere und erspart andere Identifikationsmaßnahmen. Die Maus wurde mit der Cup-Methode auf der Handfläche aus dem Heimatkäfig genommen, in Reichweite von 2 cm zum Scanner gehalten und die scT des Tieres gemessen. Zeitgleich wurde die TR-Nummer mit zugehöriger scT erfasst. Die Maus wurde in eine separate Messkäfigschale ohne Käfiggitter mit einigen Haferflocken gesetzt. So wurde das KGW der Maus ermittelt. Während dessen wurde ein 10-sekündiges standardisiertes IRV mittels Autofokus erstellt. Dazu wurde die WBK FLIR T660 mindestens 15 Minuten vor der ersten Messung einschaltet, alle Einstellungen überprüft sowie die Hintergrundtemperatur mit der Raumtemperatur abgeglichen. Die WBK FLIR T660 wurde, über der Tierwaage mit der leeren Käfigschale, auf dem Stativ positioniert. Der Versuchsaufbau blieb über die zwei Wochen unverändert. Das Tier wurde im Anschluss aus der Waagschale entnommen und auf die Tischplatte gesetzt, sodass für die Maus keine Möglichkeit bestand, sich am Gitter festzuhalten und durch Muskelaktivität eine

Temperaturerhöhung zu produzieren. Zur rT-Messung musste die Maus fixiert werden. Die Maus wurde mit den Fingern einer Hand an der Hüfte fixiert und die Schwanzwurzel vorsichtig leicht über den Rücken gedrückt. Wenn nicht schon vorheriger Kotabsatz beobachtet wurde, kam es durch diese Positionierung selbstständig zum Kotabsatz oder Kot konnte mit zwei Fingern sanft aus dem Rektum ausdrückt werden. Die RT-Sonde wurde mit flüssigem Paraffinöl benetzt und vorsichtig und langsam 1,0 cm bis 1,5 cm ins Rektum der Maus eingeführt. Nach einer Adaptationszeit von fünf Sekunden wurde die rT gemessen bzw. es wurde gewartet, bis der Wert stabil für 5 Messungen (entspricht 5 Sekunden) nicht ansteigt. Der rT-Wert wurde nach insgesamt ca. 15 Sekunden notiert. Die RT-Sonde wurde langsam und vorsichtig zurückgezogen und die Maus wieder in den Heimatkäfig gesetzt. Die RT Sonde wurde nach jeder Messung mit einem weißen Kosmetiktuch (Firma Kleenex) gesäubert, auf Blutspuren untersucht und mit sterilem Wasser abgewischt. Nach der Messung aller Mäuse wurde die Sonde mit 70 %igem Alkohol gereinigt. Zu Versuchsende, nach zwei Wochen, wurden die Mäuse unter Isofluran-Narkose mittels zervikaler Dislokation getötet, um den DL aus dem Abdomen zu entnehmen und die ipT-Daten retrograd auszulesen. Zudem wurde die Bauchhöhle der Maus begutachtet und Veränderungen dokumentiert.



Abbildung 7: Digitalbild der i.p. Implantation des Datenloggers DST Nano – T (Starr Oddi) in eine Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Maus (Foto von Kerstin Fiebig).

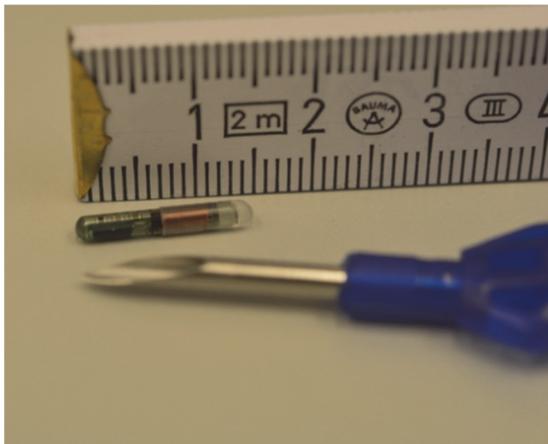


Abbildung 8: Digitalbild des temperatursensitiven Transponders: IPTT-100, Bio Medic Data System (Foto von Kerstin Fiebig).

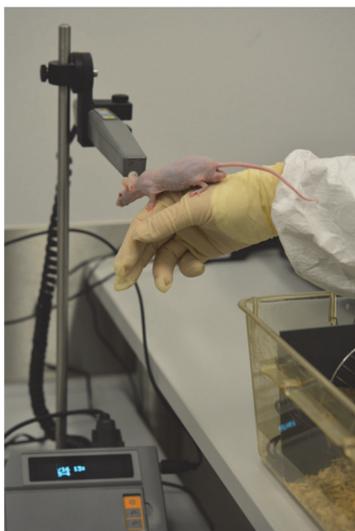


Abbildung 9: Digitalbild eines Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäusebocks beim Scan der s.c. temperatursensitiven Transponder (Bio Medic Data System) (Foto von Kerstin Fiebig).



Abbildung 10: Digitalbild der Wärmebildkamera FLIR T660 (Foto von Kerstin Fiebig).

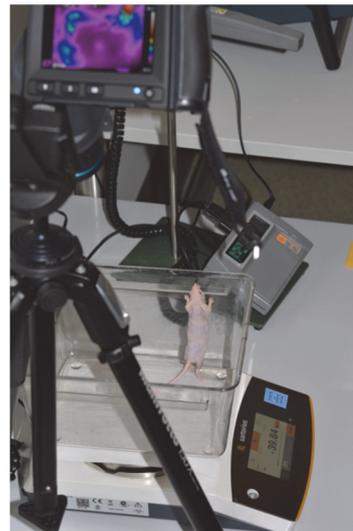


Abbildung 11: Versuchsaufbau des Messmethodenvergleichs (Tierwaage, Transponderscan Station, Wärmebildkamera) (Foto von Kerstin Fiebig).

3.4.8. Datenzusammenfassung

Für die Berechnung der Stichprobengröße wurde für den Messmethodenvergleich der Übereinstimmungskoeffizient CCC verwendet. Berechnet wurde die Anzahl der Proben, die notwendig ist, um zu zeigen, dass CCC 0,3 mit Alpha = 0,05 und Beta = 0,9 ist. Dabei wurde eine Probengröße von mindestens 344 Messungen ermittelt. Um die Gesamtzahl der Tiere zu minimieren, wurden 10 Mäusen die Temperaturmesssysteme (TR, DL) implantiert und diese Tiere wiederholt gemessen, um ausreichende Daten für den Vergleich der Temperaturmethoden zu erzeugen. Da die Mäuse wiederholt gemessen wurden und nur begrenzte Informationen über den erwarteten CCC vorlagen, wurde eine Sicherheitsspanne eingeplant. Um die Dauer der Studie zu begrenzen, wurde beschlossen, die Mäuse drei Mal am Tag zu messen. Dabei wurde bei einer Verlängerung der Versuchszeit, um einige Tage, von einer geringen zusätzlichen Belastung der Tiere ausgegangen, als es bei einer weiteren Implantation neuer Messgeräte in andere Tiere der Fall gewesen wäre. Nimmt man an, dass eines der 10 implantierten Systeme von TR oder DL Funktionsstörungen aufweist und Ausfälle einzelner Messungen der WBK oder rT auftreten, könnten bis zu 10 % der Daten pro System verloren gehen. Unter dieser Annahme wurde die Gesamtzahl der Messungen auf 430 festgelegt, um eine statistische Auswertung trotz Messausfälle sicher zu stellen.

Die Daten der 10 Mäuse wurden zu jedem Zeitpunkt erhoben, die Temperaturmesswerte der drei Methoden (scT, irT und rT) wurden dreimal täglich über 14 Tage und am Tag 15 einmal morgens erfasst und aufgezeichnet. Die Datenerfassung von s.c. TR Temperaturen (n = 430) mit TR-Identifikationsnummer und KGW (n = 430) wurde automatisch durch den Lese-Scan eingefügt und täglich in einer Excel-Tabelle für jeden Tag und für alle 3 Messungen gespeichert. Die rT (n = 369) wurden aufgezeichnet und in einer Excel-Tabelle gespeichert. IRV (n = 430) aus der WBK wurden mit der FLIR Tool+ Software importiert und analysiert. Für jedes einzelne IRV wurde der gesamte Messbereich des Käfigs, also das FOV mit einer Flächenbox markiert. Dabei erfolgte eine IRV-Sichtung, als zusätzliche Qualitätsprüfung, um Fehlerquellen, wie z. B. Unschärfe zu vermeiden. Aus der markierten Messfläche der WBK wurde der maximale irT-Wert, aus dem 10 Sekunden langen IRV ausgegeben. Zur Analyse wurden die maximalen irT-Werte, ca. 300 pro IRV extrahiert und in die Excel-Tabelle übertragen. Der am höchsten gemessene irT_{max} -Wert des gesamten IRV wurde zur statistischen Analyse verwendet, sodass ein irT_{max} -Wert pro thermografische Messung je Maus genommen wurde.

Die DL wurden eine Woche nach der Explantation mit der Interface-Box verbunden, um die ipT mit der Mercury Software zu exportieren und je Maus eine individuelle Excel-Tabelle zu erstellen. Für die statistische Auswertung wurden die einzelnen ipT-Werte (n = 430) zur

synchronen Zeit der anderen Temperaturmessungen (scT, irT, rT) verwendet, obwohl die DL während der gesamten Versuchsperiode in jeder Minute Temperaturmessungen erzeugten. Alle Daten wurden in einer Excel-Tabelle zur Analyse zusammengefügt. Der Datensatz der einzelnen Temperaturmessmethoden (scT, irT, ipT n = 430) war gleich groß. Aufgrund von Funktionskontrollen und aus tierschutzrechtlichen Gründen konnten 62 rT nicht gemessen werden und fehlen demzufolge. Bei den Mäusen wurden, im Gegensatz zu den anderen Methoden 14 % der rT-Messungen, durch Kalibration der Rektalsonde am 8. Tag, und aus Tierschutzgründen, wenn Blutspuren an der Rektalsonde auffindbar waren, ausgelassen.

3.4.9. Statistische Auswertung

Die Ergebnisse wurden mit einem kommerziell erhältlichen Statistik-Programm analysiert (IBM SPSS Statistics, version 24, IBM Corp, Armonk, NY USA). Die Analyse beinhaltete die statistische Beschreibung der stetigen Temperaturdaten und der Körpergewichte, sowie die Prüfung auf Normalverteilung. Dazu wurde für jede Maus und jede Messmethode (WBK, TR, DL, RT) der Kolmogorow-Smirnow-Test durchgeführt und Histogramme, sowie QQ-Plots und Boxplots (Kastengrafik) der wiederholenden Messungen erstellt. Der Boxplot stellt die Verteilung der Werte, bezüglich Maß der Streuung und deren Lagemaße, dar und identifiziert Ausreißer. Dabei wird der Interquartilsabstand, durch die 50 % der Werte mit oberer und unterer Grenze (25 % bis 75 % der Temperaturwerte), sowie der Median in der Box repräsentiert. Die Antennen oder auch Whisker bezeichnen zusätzlich den kleinsten und größten nicht extremen Wert der im 1,5fachen Abstand zwischen den 25 %- und 75 %-Perzentil liegt. Als Ausreißer (°) sind Werte definiert, deren Abstand vom 25 %-Perzentil nach unten bzw. vom 75 %-Perzentil nach oben zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxenhöhe (Abstand zwischen dem 25 %-und dem 75 %-Perzentil) liegt. Der Abstand der extremen Werte (*) von dem 25 %-Perzentil nach unten bzw. vom 75 %-Perzentil nach oben beträgt mehr als das 3-fache der Boxenhöhe. Die Korrelation zwischen den verschiedenen Messmethodenmessungen wurde mittels Pearson's Korrelationskoeffizient und dem Übereinstimmungskoeffizient CCC bestimmt. Zum Messmethodenvergleich der Messergebnisse der WBK mit den RT-, TR- und DL-Daten wurden Bland-Altman-Diagramme genutzt. Diese Sonderform eines Punktdiagramms zeigt die Differenz zwischen den gemessenen Temperaturen der zwei Methoden auf der y-Achse und den Mittelwert über beide Messungen auf der x-Achse. Durch das Abtragen des Mittelwertes und des 95 %-Konfidenzintervall (SD der Differenzen) kann die Varianz der Differenzen in Relation zur mittleren- Temperatur beurteilt werden. Zur Untersuchung, ob die irT als Indikator für die Vorhersage von Temperaturen der anderen Messmethoden dient, wurde eine gemischte Modellanalyse mit der irT und dem KGW als unabhängige feste Faktoren, mit der „Maus“ als Zufallsfaktor und jeweils einer der vergleichenden Messungen (rT, scT, oder ipT) als

abhängiger Faktor durchgeführt. Diese Prüfung erlaubte eine Kontrolle der Einflussnahme des KGW der Tiere, zur Darstellung, um wie viel die Temperatur der abhängigen Messung ansteigt, wenn die irT um 1 °C steigt. Ausgehend von der Betrachtung jeder Maus konnten einige Daten des Messmethodenvergleichs nicht als vollständig unabhängig angesehen werden. Für diese Tatsache wurde die „Maus“ als Zufallsfaktor nachgewiesen und der Einfluss der „Maus“ für das jeweilige Modell kontrolliert. P-Werte unter 0,05 wurden als statistisch signifikant betrachtet.

4. Ergebnisse

4.1. Qualitative Analyse

Die 1. Hypothese lautet, dass die qualitative Thermografie geeignet ist, die von Nacktmäusen abgestrahlte thermische Energie (Wärmestrahlung) zu messen und die physiologischen Zustände zu visualisieren. Thermografie wird bereits bei verschiedenen Fragestellungen an der Maus eingesetzt. Ob die Thermografie geeignet ist, Nacktmäuse zu visualisieren, wurde in dieser Studie anhand von qualitativen Analysen geprüft, da die Nutzung der relativen Temperaturen des Thermogramms geeignet für die Darstellung ist. Diese Hypothese wurde wie folgt bearbeitet.

4.1.1. Qualitative Analyse der Einzeltiere

Anhand der qualitativen Thermogramme einzelner Nacktmäuse sollte die generelle Eignung zur Visualisierung der Wärmestrahlung betrachtet werden. Durch die qualitative thermografische Auswertung erkennt man die grundlegenden Prinzipien der Analyse von Thermogrammen. Die WBK FLIR E40 erstellt zzgl. zum Thermogramm ein digitales Bild des Sichtfelds. Da die digitale Optik neben der Infraroptik platziert ist, kann es aufgrund der geringen Entfernung des Messobjekts zu zwei unterschiedlichen optischen Achsen kommen. Das digitale Bild ist demzufolge nicht deckungsgleich mit dem Thermogramm. Zudem hat die Infraroptik (WBK FLIR E40) im Vergleich zum digitalen Objektiv mehr Pixel, weshalb die digitalen Bilder von niedrigerer Qualität sind. Die Abbildung 12 zeigt ein digitales Bild und das dazugehörige Thermogramm einer nackten NMRI Maus. Das Thermogramm ist in den „Falschfarben“ der Farbpalette „feinkontrast Regenbogen“ erstellt, welche in der Temperaturskala von 24 °C bis 38 °C verläuft. Die unterschiedlichen Temperaturen der Einstreu des Käfigs sind durch die Färbung ersichtlich. Die Wärmeabgabe der Maus an den Untergrund ist als „Wärmeschatten“ zu sehen. Zudem ist eine Reflektion der Wärmestrahlung an der Käfigwand zu erkennen, ein sog. „Wärmespiegel“. Der Schwanz der Nacktmaus lässt sich von der Umgebungstemperatur unterscheiden und ist im Thermogramm durch eine andere Farbe codiert als die Einstreu. Ebenso ist der Körper der Nacktmaus kontrastreich vom Hintergrund abgesetzt. Im oberen Zwischenschulterbereich ist die Nacktmaus heller dargestellt, also von der Temperatur wärmer. Die gesamte rechte Vordergliedmaße ist in Abbildung 12 thermografisch erkennbar und vom Hintergrund abgesetzt. Im Thermogramm sind die Nase und die Ohren der Maus dunkler, d. h. oberflächlich kühler bzw. mit niedrigerer Wärmeabstrahlung als der Körper. Das Auge wird im Thermogramm dagegen sehr hell abgebildet, es strahlt also eine höhere Temperatur bzw. mehr Wärme ab.

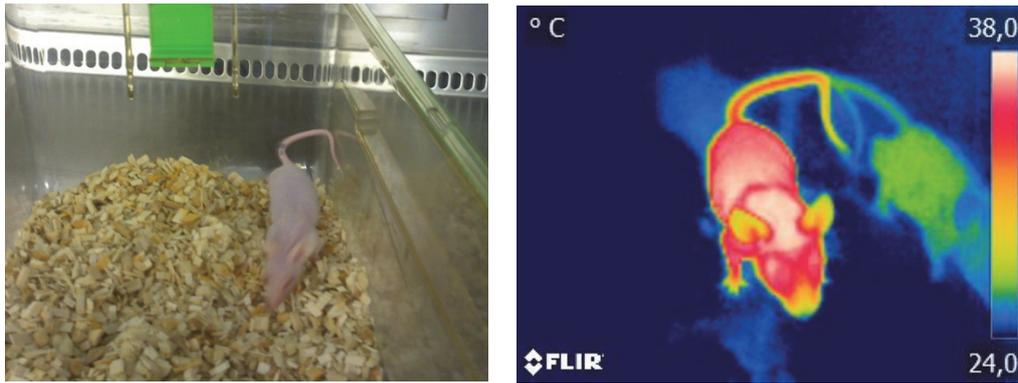


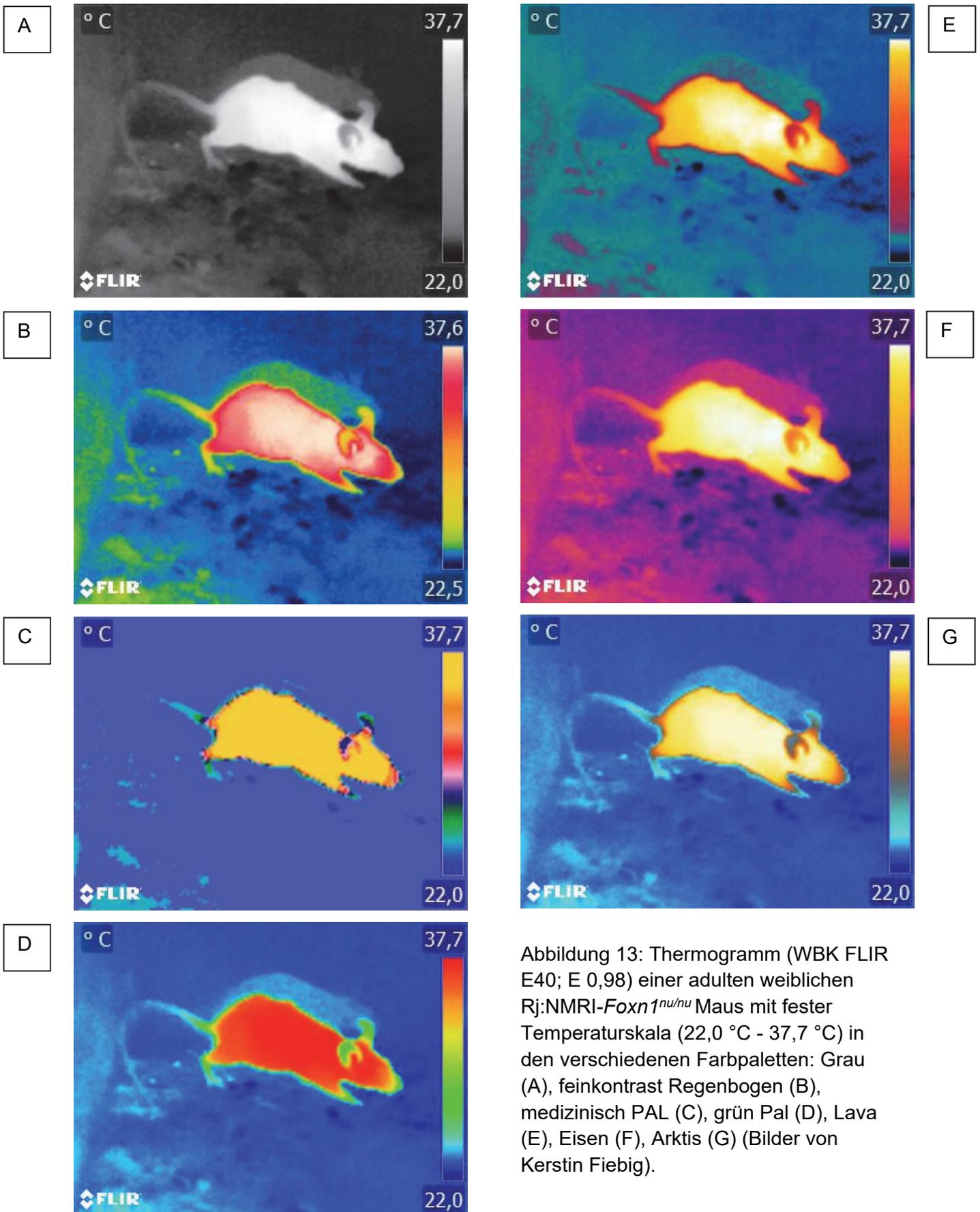
Abbildung 12: Digitale Aufnahme und Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98; Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 24,0 °C – 38,0 °C) eines adulten Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäusebocks (Bilder von Kerstin Fiebig).

Änderungen in den Einstellungen der Analysesoftware (FLIR Tools+) beeinflussen die Auswertbarkeit und Aussagekraft von Thermogrammen. Die unterschiedliche Wirkung der thermografischen Farbpaletten auf den Mensch wurde exemplarisch in einem Thermogramm (WBK FLIR E40) eines adulten Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäusebocks dargestellt. Die Abbildung 13 zeigt 7 verschiedene Farbpaletten eines identischen Thermogramms. In der Farbpalette „Feinkontrast Regenbogen“ wird der obere Temperaturbereich als hellste Farbe in Weiß, die Zwischentemperaturen in Abstufungen von Rot- und Gelbtönen bis zum unteren Temperaturbereich in dunklen Blautönen dargestellt.

In der Darstellung der Farbskalen bei gleichem Temperaturskalenbereich (Abbildung 13) ist der Wärmespiegel an der Käfigwand hinter der Nacktmaus unterschiedlich stark ausgeprägt. Die Einstreu im IVC ist im Kontrast mithilfe der Analyseeinstellungen differenzierter darzustellen. Der Nacktmauskörper ist thermografisch vom Hintergrund abgesetzt, die Temperaturverteilung des Körpers der Maus ist inhomogen. Der Vergleich der Farbpaletten „Grau“ und „Medizinisch PAL“ mit der Farbpalette „Regenbogen“ verdeutlicht die inhomogene thermografische Verteilung an der Körperoberfläche.

Der fest eingestellte Temperaturskalenbereich im Thermogramm ermöglicht es, einzelne Strukturen unterschiedlich deutlich herauszuarbeiten (Abbildung 13), indem unterschiedliche Farbpaletten verschiedene Vorteile bieten. Die Akren, wie die Ohren und Extremitäten, der Nacktmaus sind in Farbe und Kontrast unterschiedlich herausstellbar und ermöglichen den direkten Vergleich der Wirkung von Farbpaletten eines Thermogramms. So ist bspw. die volle Länge des Schwanzes der Nacktmaus in der Farbpalette „Grau“ oder „Regenbogen“ im Thermogramm zu erkennen. In der Farbpalette „medizinisch PAL“ oder auch „Lava“ (Abbildung 13) ist der Schwanz der Maus im Thermogramm nicht in voller Länge abgebildet.

Nicht nur die Farbpalette beeinflusst die qualitative Analyse eines Thermogramms. Die Änderung der Farb- bzw. Temperaturskala bezieht sich auf eine bestimmte Temperaturspanne, welche die unterschiedlichen Abstufungen der Temperatur mittels der Farbe darstellt. Die Spanne wird durch einen oberen und unteren Temperaturwert eingeeengt, den sog. Farbbereich. Eine automatische Einstellung von Farbspanne und -bereich ermöglicht mittels Analysesoftware (FLIR Tool+) die Farben vom kleinsten bis zum größten Temperaturwert gleichmäßig zu verteilen (Abbildung 13). Die Temperaturen werden bei automatischer Einstellung gemittelt und über die Temperaturspanne des Thermogramms gleichmäßig entsprechend der Farbpalette codiert.



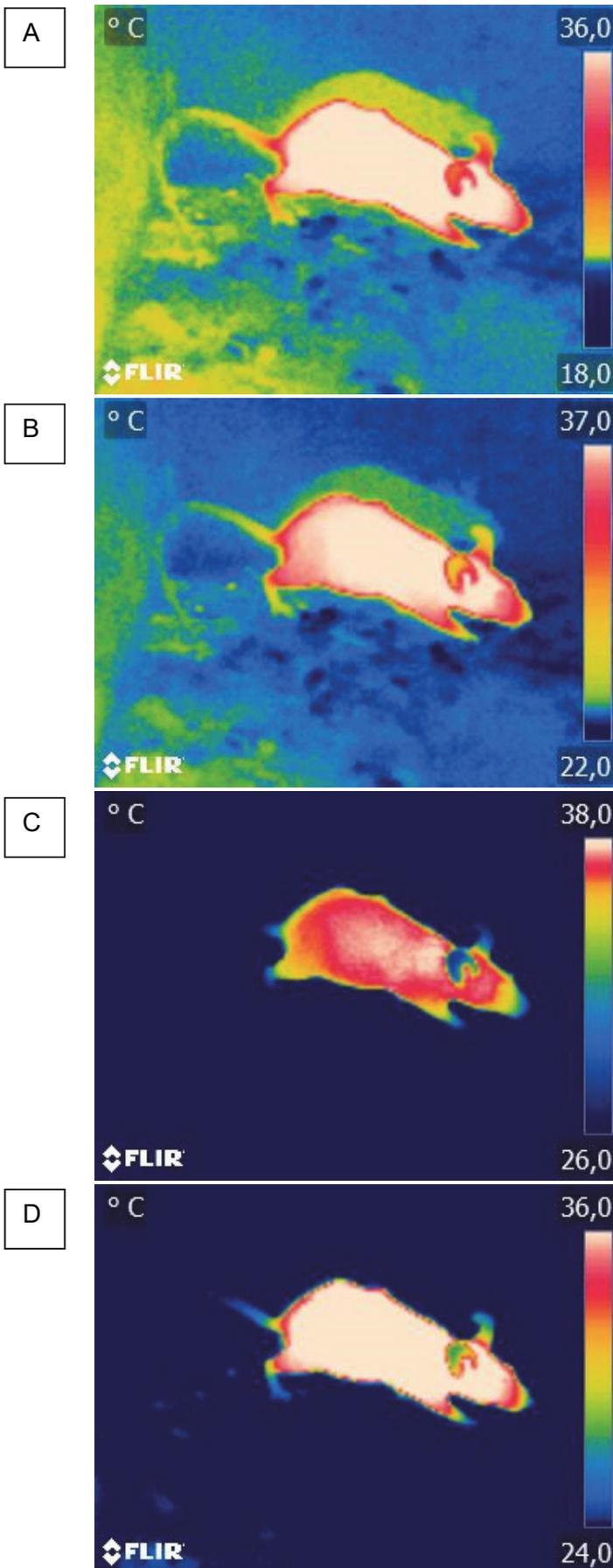


Abbildung 14: Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen) einer adulten weiblichen Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Maus in unterschiedlichen Einstellungen der Farbskala durch Änderung von Spanne und Bereich der Temperatur.

A: Temperaturskala 18,0 °C - 36,0 °C ($\Delta 18,0$ °C)

B: Temperaturskala 22,0 °C - 37,0 °C ($\Delta 13,0$ °C)

C: Temperaturskala 26,0 °C - 38,0 °C ($\Delta 12,0$ °C)

D: Temperaturskala 24,0 °C - 36,0 °C ($\Delta 12,0$ °C)

(Bilder von Kerstin Fiebig)

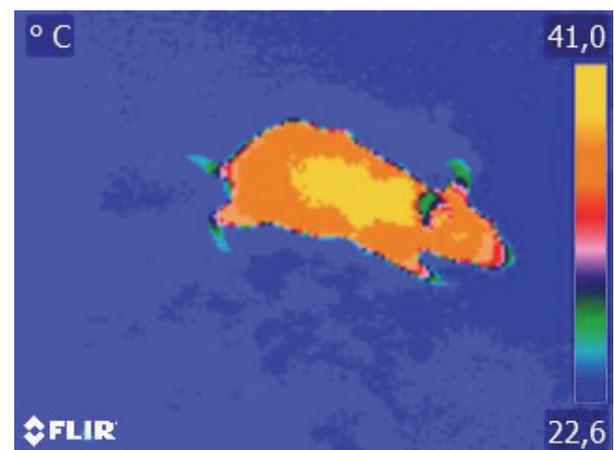


Abbildung 15: Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98) einer adulten weiblichen Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Maus in der Farbpalette: Medizinisch Pal; mit einer Temperaturspanne von $\Delta 18,4$ °C im Bereich von 22,6 °C bis 41,0 °C (Bild von Kerstin Fiebig) .

Die Effekte der unterschiedlichen Einstellungen des Temperaturbereichs sind in Abbildung 14 dargestellt. Ist der obere Wert des Temperaturbereichs niedrig gewählt, z. B. bei 36 °C, werden Temperaturen, die über diesem Wert liegen, automatisch in der Farbe des oberen Temperaturwertes dargestellt. Der gesamte Mausekörper ist dann im Thermogramm einheitlich mit der zum oberen Temperaturwert belegten Farbe Weiß dargestellt (Abbildung 14; $\Delta 18$ °C- oder $\Delta 12$ °C-Spanne). Die Temperaturabstufung des Körperbereichs der nackten Maus ist im Thermogramm bei einem niedrigen unteren Temperaturbereich undeutlich (Abbildung 14). Ist der obere Temperaturbereich des Thermogramms höher festgelegt, z. B. 38 °C (Abbildung 14; $\Delta 12$ °C-Spanne), wird der Bereich des Körpers entsprechend der realen Temperatur farblich differenziert dargestellt. Die Temperaturabstufungen der Körperoberfläche sind bei einer idealen Auswahl des oberen Wertes der Farbspanne des Thermogramms deutlich erkennbar (Abbildung 14). Adäquat verhält es sich bei der Einstellung des unteren Temperaturbereichs. Ist der untere Wert hoch gewählt z. B. 24 °C oder 26 °C, werden tiefere Temperaturwerte der unteren Farbcodierung zugeordnet (Abbildung 14; $\Delta 12$ °C-Spanne). Die kühle Käfigeinstreu oder die Akren der Nacktmaus werden aufgrund des hohen unteren Temperaturbereiches farblich nicht von der Umgebung abgegrenzt. Der Schwanz der Maus ist bei einem zu hoch eingestellten unteren Temperaturbereich (Abbildung 14; 24 °C oder 26 °C) nicht farblich abgesetzt verglichen zu niedrigen unteren Temperaturbereich. Wird die, durch den oberen und unteren Temperaturbereich festgelegte, Temperaturspanne eng eingestellt z. B. $\Delta 12$ °C (26 °C bis 38 °C), dann werden mehreren Temperaturabstufungen einer gemeinsamen Farbe zugeordnet (Abbildung 14). Daraus folgt, dass, je kleiner die Temperaturspanne eines Thermogramms ist, desto weniger sind thermografische Details der Maus darstellbar. Eine differenzierte Auflösung der Temperaturen ist bei der Einstellung mit größerer Temperaturspanne, z. B. $\Delta 18$ °C (18 °C bis 36 °C), des Thermogramms, darstellbar (Abbildung 14). Die Kombination von Temperaturspanne und Farbpalette kann zur Adjustierung der thermischen Unterschiede eingesetzt werden. Die Einstellung einer großen Temperaturspanne ($\Delta 18,4$ °C) und eines hohen oberen Temperaturbereichs (41 °C) ermöglicht bspw. mit der Farbpalette „medizinisch Pal“ die detaillierte Temperaturabstufung der Körperoberfläche und der Akren der Nacktmaus (

Abbildung 15). Bei den thermografischen Messungen (WBK FLIR E40) durch die Käfiggitterdeckel sind die Mäuse durch die Reflexion der Metallstrukturen überdeckt und nur Umrandungen der Tiere zu erkennen. Einzelheiten der Tiere, wie Augen, Ohren oder Nase sind bei der Thermografie mit Käfiggitterdeckel nicht zu erkennen. Die Konturen der Mäuse sind unter dem Gitterdeckel unscharf. Detailliertere Strukturen der Mäuse waren nicht darstellbar. Materialien zur Käfigausstattung, wie das Maushaus und das Nistmaterial, behinderten den Strahlengang der Thermografie. Die Mäuse sind im digitalen Bild zu sehen,

aber thermografisch im Unterschlupf nicht zu erfassen. Die nackte Maus war vom Nistmaterial überdeckt (Abbildung 16). Thermografisch ist von der Maus nur der nicht vom Nistmaterial verdeckte Bereich darstellbar. Die Konturen sind in diesem Bereich durch die Wärmeabstrahlung diffus.



Abbildung 16: Digitalaufnahme und Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) eines adulten Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mausbocks im IVC mit Nistmaterial (Bilder von Kerstin Fiebig).

4.1.2. Qualitative Analyse der Tiere in einer Gruppe

Anhand von den qualitativen Thermogrammen einer Gruppe sollte die Eignung der Thermografie zur Visualisierung von physiologischen Zuständen der Nacktmäuse betrachtet werden. Die qualitativen Thermogramme von Mäusen in der Gruppe unterscheiden sich von denen der Einzeltiere. Die 9 weiblichen adulten Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse sollten in Gruppenhaltung einzeln identifizierbar sein. Die farbliche Markierung der Nacktmaus-Schwänze, welche optisch sichtbar waren, konnte im Thermogramm nicht nachvollzogen werden. Diverse Körperbereiche der einzelnen Tiere wurden im Thermogramm der Gruppe von anderen Mäusen überdeckt und verursachten Probleme bei der Auswertung. Die Mäuse einer Gruppe konnten im Thermogramm nicht nach Einzeltieren zugeordnet werden, da die Wärmestrahlung nicht vollständig abgrenzbar war (Abbildung 18). Die Konturen der einzelnen Tiere waren im Thermogramm nicht zu unterscheiden. Das Sichtfeld der WBK erfasste nicht den gesamten Bereich des IVC, in dem sich die Mäusegruppe befand. Einzelne Tiere verließen das Sichtfeld während der Thermogrammaufnahme. Einige Tiere wurden unvollständig erfasst, sodass nur der Kopf oder der Rumpf gemessen wurde.

In der Gruppe waren dafür im Thermogramm die Unterschiede zwischen den Temperaturen von Einzeltieren verschiedenen Ernährungszustands deutlich zu erkennen (Abbildung 18). Tiere mit geringer irT konnten mittels qualitativer Analyse im Thermogramm einer anderen Farbe zugeordnet werden als Mäuse höherer Temperatur. Kühlere Tiere mit weniger

Wärmestrahlung wurden im Gruppenverband thermografisch erkannt. Thermogramme von Nacktmaus-Gruppen konnten so eingestellt werden, dass Einzeltiere komplett sichtbar waren und die einzelnen Akren, wie die komplette Schwanzlänge, die Ohren, Nase, Gliedmaßen vollständig dargestellt wurden. Alle Mäuse der Gruppe konnten nicht komplett sichtbar und vollständig, sowie fokussiert eingestellt werde. Die qualitative Thermografie der Mäusegruppe zeigte reproduzierbare Gruppenunterschiede der Einzeltiere durch die thermografische Farbzuordnung.

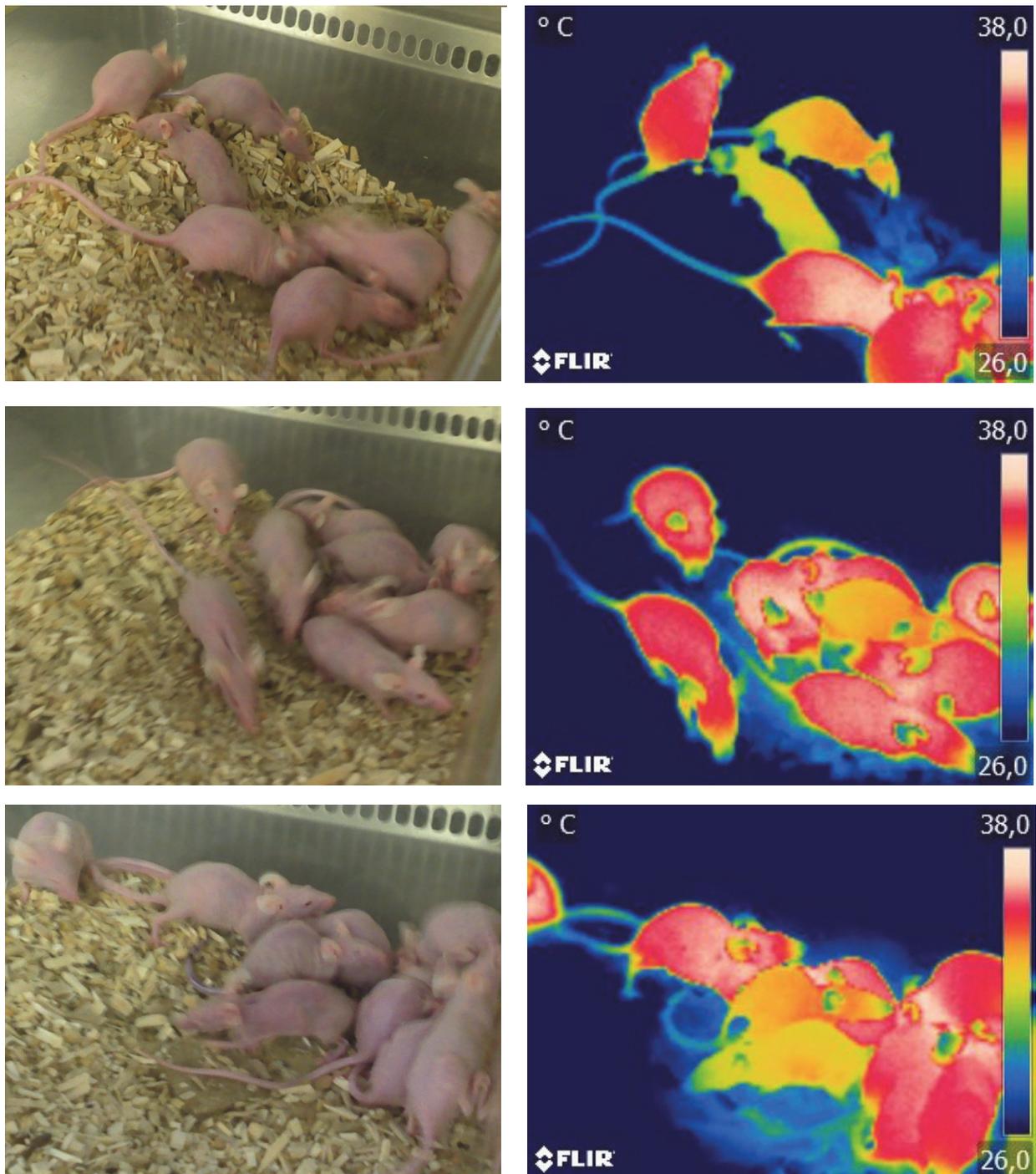


Abbildung 17: Digitalaufnahmen und korrespondierende Thermogramme (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen, Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) einer Gruppe von 9 adulten weiblichen Rj:NMRI-*Foxn1^{nu/nu}* Mäusen in einer frisch eingestreuten IVC-Käfigschale (Bilder von Kerstin Fiebig).

4.2. Quantitative Analyse

Aus den Analysen der qualitativen Thermogramme wurde das Messprozedere zur Bestimmung der Referenzwerte bei Nacktmäusen entwickelt. Die Thermogramme wurden dann in Messreihen quantitativ ausgewertet, um absolute Temperaturen zu erhalten. Um Hypothese 2 nachzuweisen, dass die quantitative Thermografie eine praktische Anwendung darstellt, berührungslos und nicht invasiv die Temperaturen von Nacktmäusen im physiologischen Bereich reproduzierbar zu messen, wurden serienmäßig mehrere Nacktmäuse thermografiert. Die Messabläufe wurden nach jedem neuen Erkenntnisgewinn durch die jeweiligen Analysen für die weiteren folgenden Messungen wie dann auch beschrieben abgeändert.

4.2.1. Thermografie 4 adulter, weiblicher BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse unterschiedlichen Ernährungszustands

Vier adulte, weibliche BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Nacktmäuse einer Käfiggruppe wurden nach dem Wiegen, einzeln und in der Gruppe, in einer nicht eingestreuten IVC-Käfigschale thermografiert. Die Auswertung der maximalen irT (irT_{max}) von 10 Thermogrammen sind in (Figure 2) dargestellt. Die quantitative Auswertung von jeweils 10 Thermogrammen (WBK FLIR E40) der Körperflächen erfolgte zur Bestimmung der maximalen irT (irT_{max}), durchschnittlichen irT und der minimalen irT je Nacktmaus. Der Zusammenhang der maximalen irT (irT_{max}), der durchschnittlichen irT und der minimalen irT je Nacktmaus sind in den Grafiken dargestellt. Der Boxplot zeigt geringe Interquartialabstände (Figure 1). Die irT sind auf unterschiedlichen Leveln, die im Zusammenhang mit den KGW zu stehen scheinen. Maus # 1 befand sich in einem schlechteren Ernährungszustand einhergehend mit einem geringeren Körpergewicht (KGW_{Maus1} 16,5 g). Die mittels WBK ermittelte irT_{max} von Maus # 1 lag in einem niedrigen Temperaturmessbereich (irT_{max} 34,0 °C - 34,5 °C; SD_{Maus1} 0,18). Die irT_{max} von Maus # 1 lag abzüglich der Kamera-Messgenauigkeit von ± 2 °C, außerhalb des physiologischen Bereichs bei Nacktmäusen vgl. mit den Literaturangaben (37,2 °C \pm 3 °C) (Funda et al. 1998) (Figure 1). Das Körpergewicht von Maus # 2 lag bei 24,8 g, die per WBK erfassten irT_{max} waren bei 38,4 °C bis 39,1 °C; mit einer SD von 0,28. Das Körpergewicht von Maus # 3 war 22,8 g, die per WBK erfassten irT_{max} waren bei 38,0 °C bis 39,1 °C; mit einer SD von 0,37. Das Körpergewicht von Maus # 4 war 20,2 g, die per WBK erfassten irT_{max} waren bei 38,0 °C bis 38,8 °C; mit einer SD von 0,23. Die erfassten irT_{max} -Werte waren bei den drei Mäusen (Maus #2 bis # 4) auf einem gleichmäßigen Niveau zwischen 38,0 °C bis 39,1 °C verteilt (SD 0,35) (Figure 1) und lagen unter Berücksichtigung der vom Hersteller angegebenen Messgenauigkeit der WBK von ± 2 °C im Bereich der physiologischen Referenztemperaturangaben von Nacktmäusen (37,2 °C \pm 3 °C) (Funda et al. 1998).

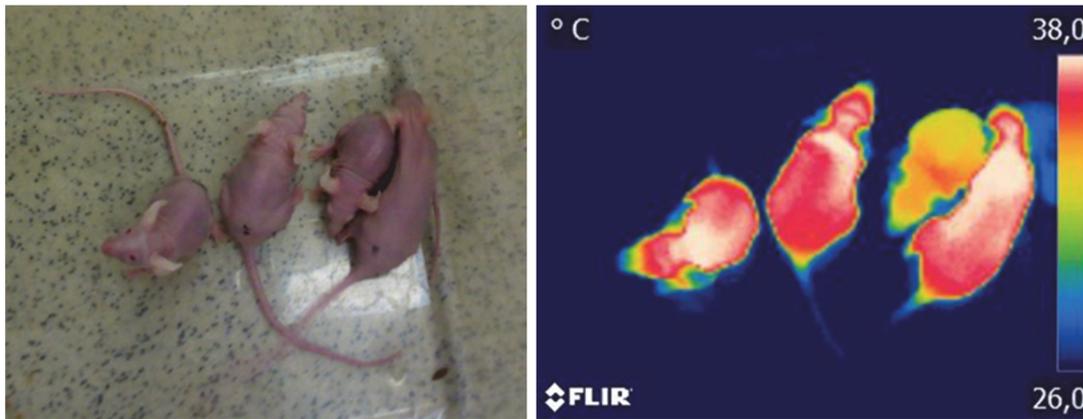


Abbildung 19: Digitalaufnahme und Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) einer Käfiggruppe von 4 adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen unterschiedlichen Ernährungszustands von blau (26,0 °C) nach weiß (38,0 °C) dargestellt (gelb Maus # 1) (Bilder von Kerstin Fiebig).

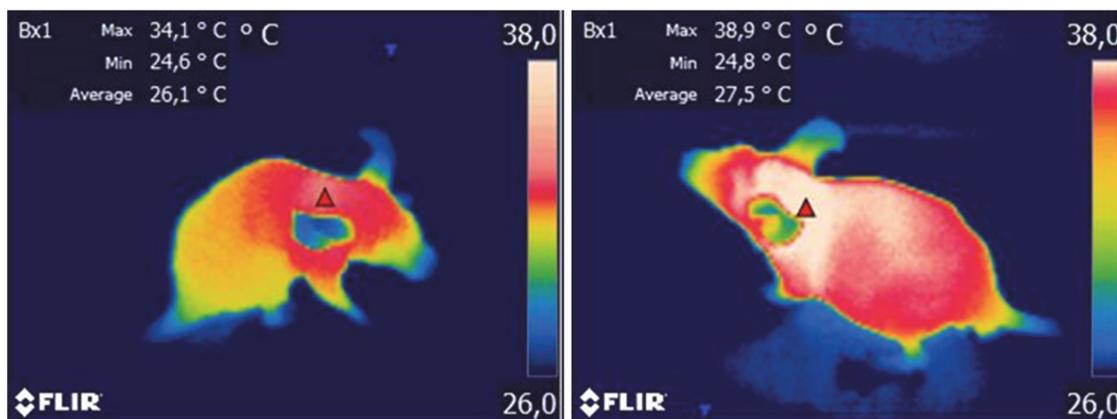


Abbildung 20: Thermogramm (WBK FLIR E40; E 0,98, Farbpalette: feinkontrast Regenbogen; Farbskala: 26,0 °C – 38,0 °C) der einzelnen adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse # 1 (KGW 16,5 g, irT_{max} bei gelb-orange 34,1 °C) und

Abbildung 21: Maus # 3 (KGW 22,8 g, irT_{max} bei rot-weiß 38,9 °C) (Bilder von Kerstin Fiebig).

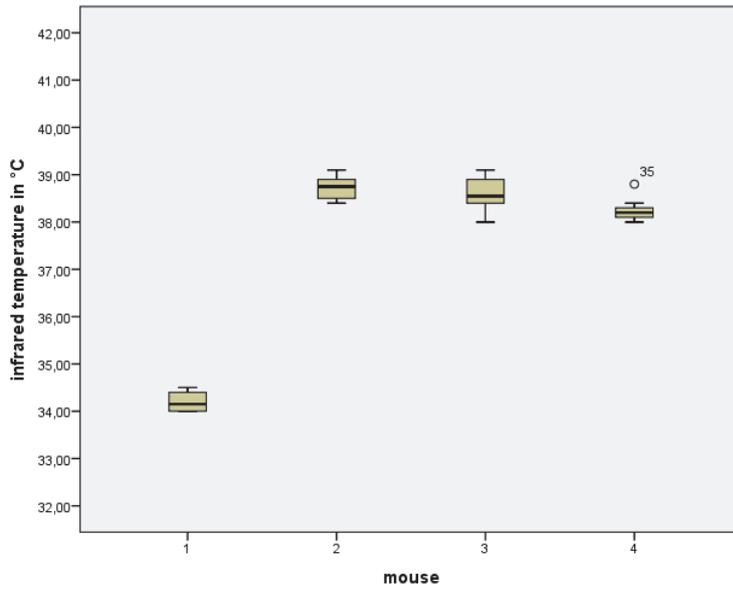


Figure 1: Boxplot der irT_{max} der Einzeltiermessungen (je $n = 10$) von adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen # 1 - 4 mit unterschiedlichem Ernährungszustand, # 1 (16,5 g KGW), # 2 (24,8 g KGW), # 3 (22,8 g KGW); # 4 (20,2 g KGW) im Vergleich.

1 Ausreißerwert (°) bei Maus # 4 in den oberen Bereich.

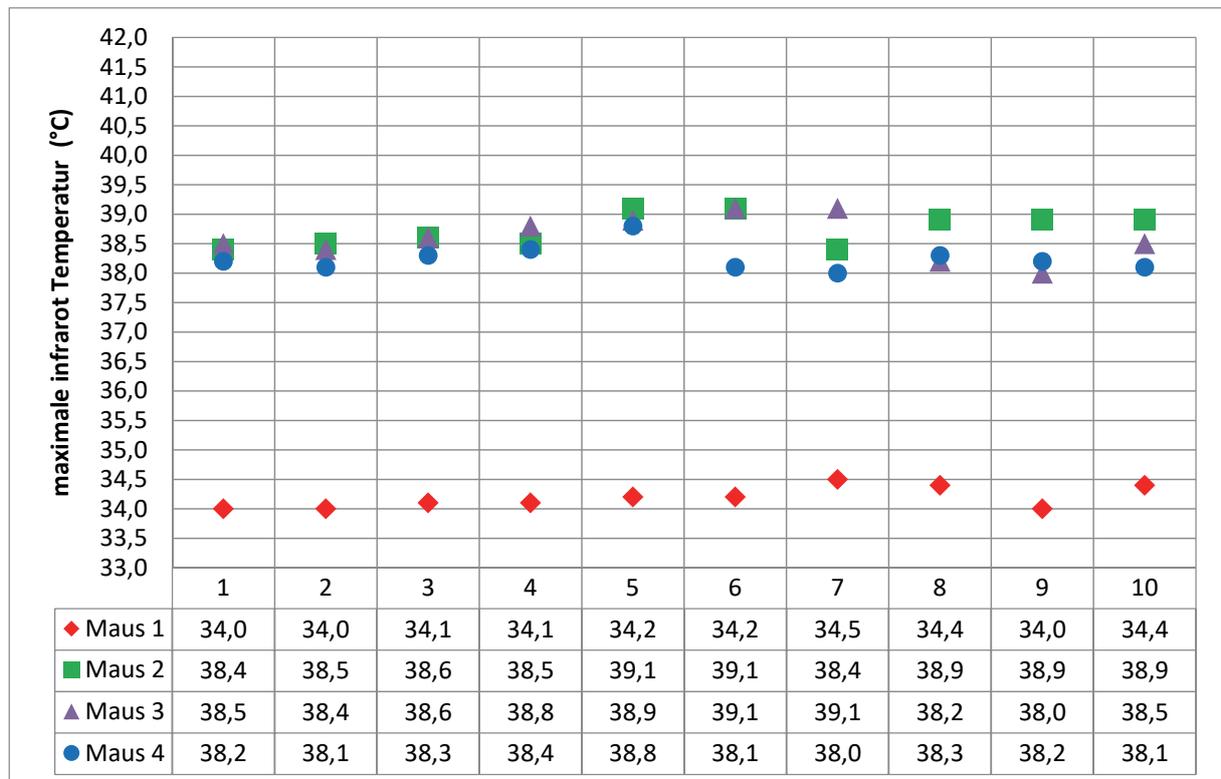


Figure 2: Die maximale infrarote Temperatur irT_{max} der 10 Einzeltiermessungen ($n = 4 \times 10$) von den adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen # 1 (16,5 g KGW), # 2 (24,8 g KGW), # 3 (22,8 g KGW); # 4 (20,2 g KGW) mit unterschiedlichem Ernährungszustand im Vergleich.

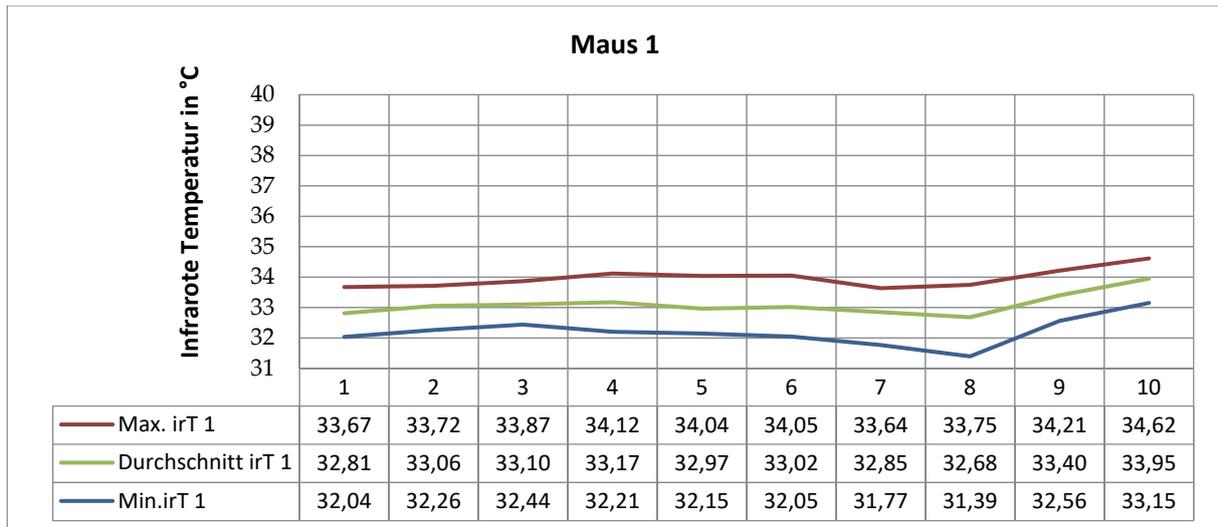


Figure 3: Die irT-Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 1 mit geringerem KGW (16,5 g). Max. irT1 (rot): Temperaturmaximum des Körpers; Durchschnitt irT1 (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers irT. Min. irT1 (blau): Temperaturminimum des Körpers von Maus # 1.

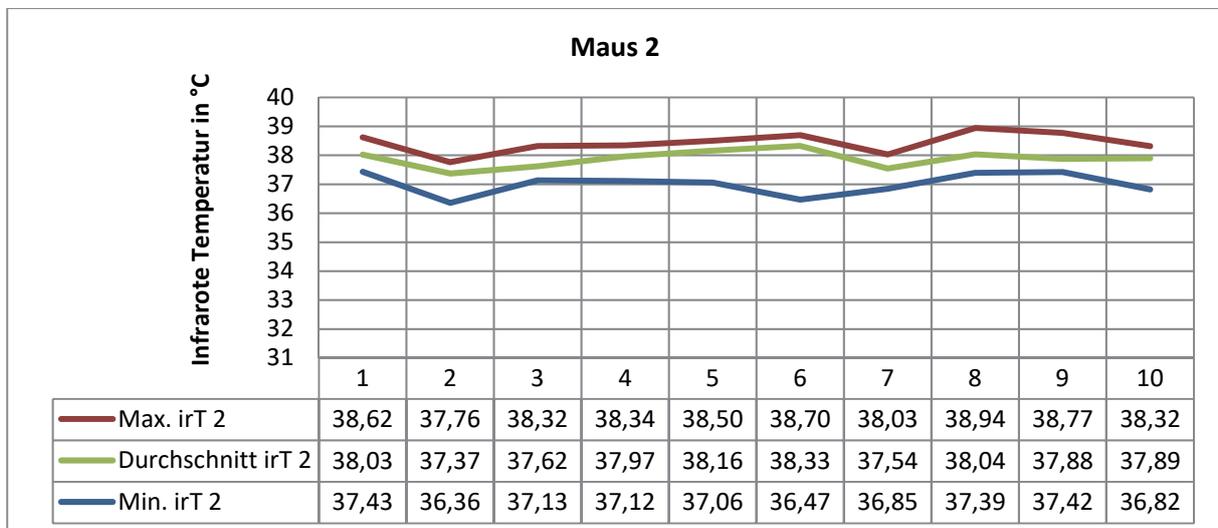


Figure 4: Die irT-Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 2 mit physiologischem KGW (24,8 g). Max. irT2 (rot): Temperaturmaximum; Durchschnitt irT2 (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers; Min. irT2 (blau): Temperaturminimum von Maus # 2.

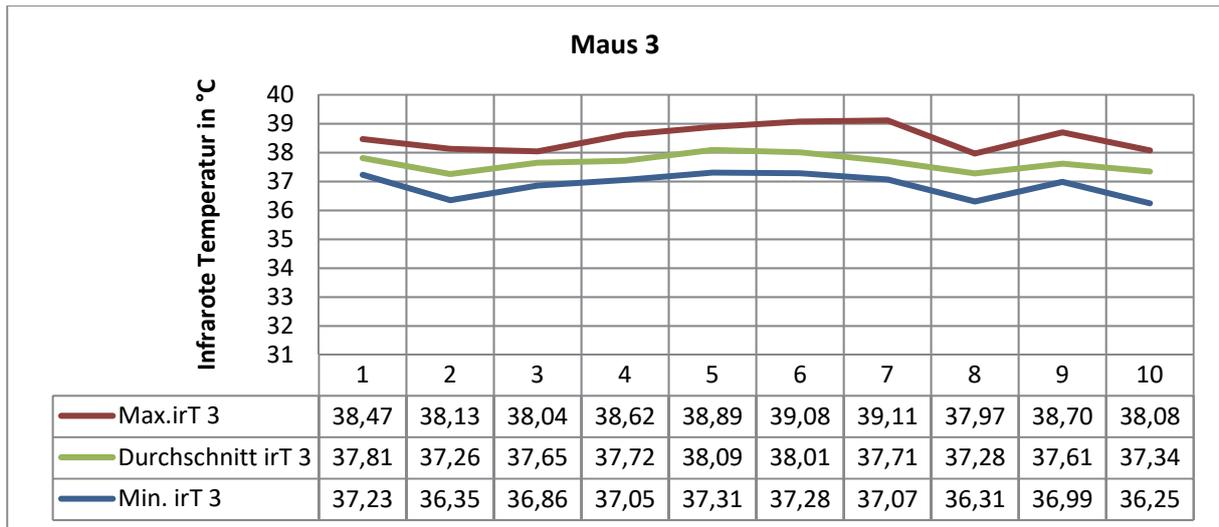


Figure 5: Die irT-Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 3 mit physiologischem KGW (22,8 g); Max. irT3 (rot): Temperaturmaximum; Durchschnitt irT3 (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers; Min. irT3 (blau): Temperaturminimum von Maus # 3.

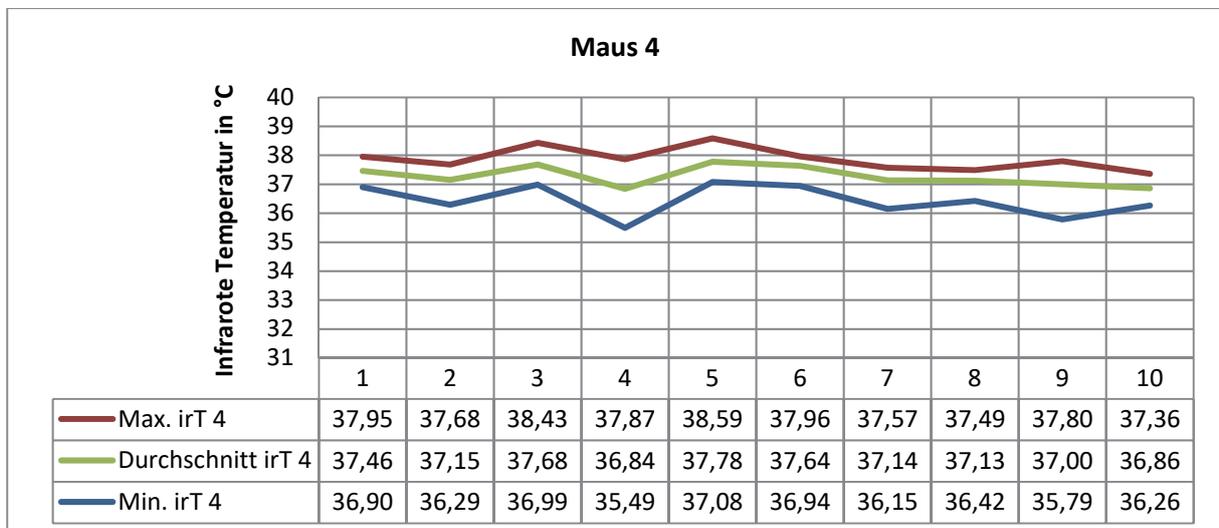


Figure 6: Die irT-Daten der 10 einzelnen Messungen von der adulten, weiblichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Maus # 4 mit physiologischem KGW (20,2 g). Max. irT4 (rot): Temperaturmaximum des Körpers; Durchschnitt irT4 (grün): Temperaturdurchschnitt des Körpers; Min. irT4 (blau): Temperaturminimum von Maus # 4.

4.2.2. Thermografie 50 adulter männlicher Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse

Die irT Daten der Messungen von 50 adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen (Janvier Labs) sind in der Figure 7 dargestellt. Pro Maus (n = 50) wurden 10 Thermogramme (WBK FLIR E40; E 0,98) erstellt. Die Messreihe erfolgte, um zu überprüfen, ob die absoluten irT_{max} des Tieres repräsentativ verwendet werden können. Es wurde jeweils der absolute Maximalwert der Einzeltiere (irT_{max}) und der MW der 10 Maximalwerte (MW irT_{max}) Thermogrammen je Tier vergleichend gegenübergestellt. Die Gegenüberstellung der absoluten irT_{max} und MW der Maxima (MW irT_{max}) der 10 Thermogramme pro Maus ist in Figure 7 abgebildet. Die Gegenüberstellung von irT_{max} und MW der Maxima (irT_{max}) der 50 Mäuse zeigt einen Zusammenhang der Temperaturwerte. In der Boxplot-Darstellung (Figure 8) sind die irT_{max} in dem Temperaturbereich von 34,19 °C bis 38,70 °C dargestellt. Die irT_{max} zeigen 13 Ausreißer (10 im unteren Bereich) und 5 Extremwerte (4 im unteren Bereich). Alle irT_{max} (N = 498) ergaben eine gesamte SD_{maus} 0,68 (0,12 - 1,08). Die Spanne der Interquartilsabstände der gemessenen irT ist vergleichend je Einzeltier sehr variabel. Die irT der Messreihe liegen in einer mäßig großen Temperaturspanne.

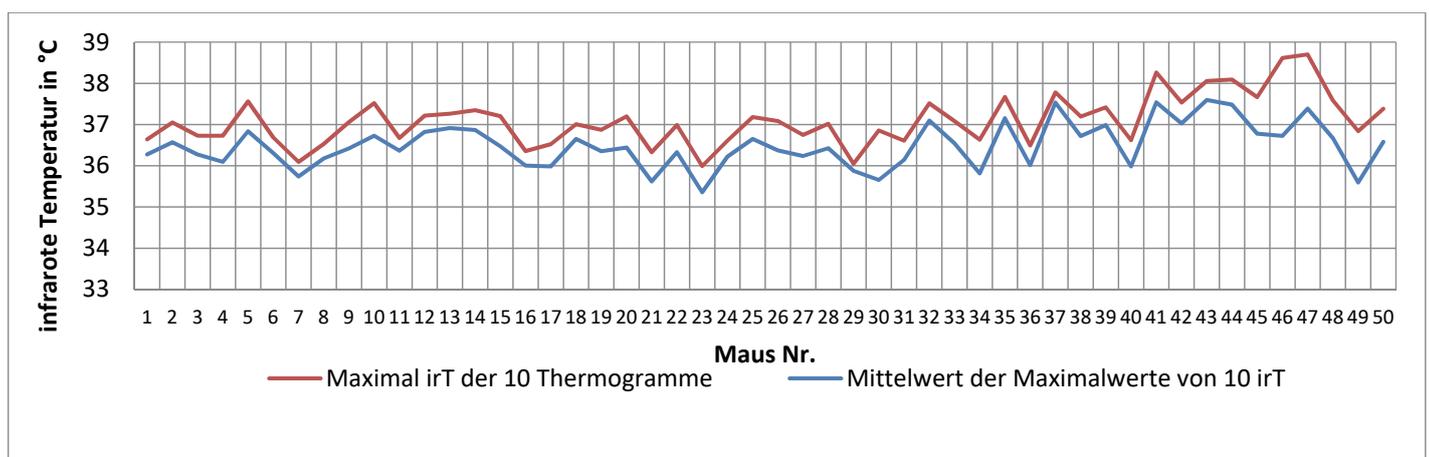


Figure 7: Gegenüberstellung der absoluten Maximalwerte der irT (irT_{max}) (rot; n = 498) und der MW aller irT_{max} (blau; n = 498) von 10 einzelnen Thermogrammen der 50 (# 1 - 50) adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäuse.

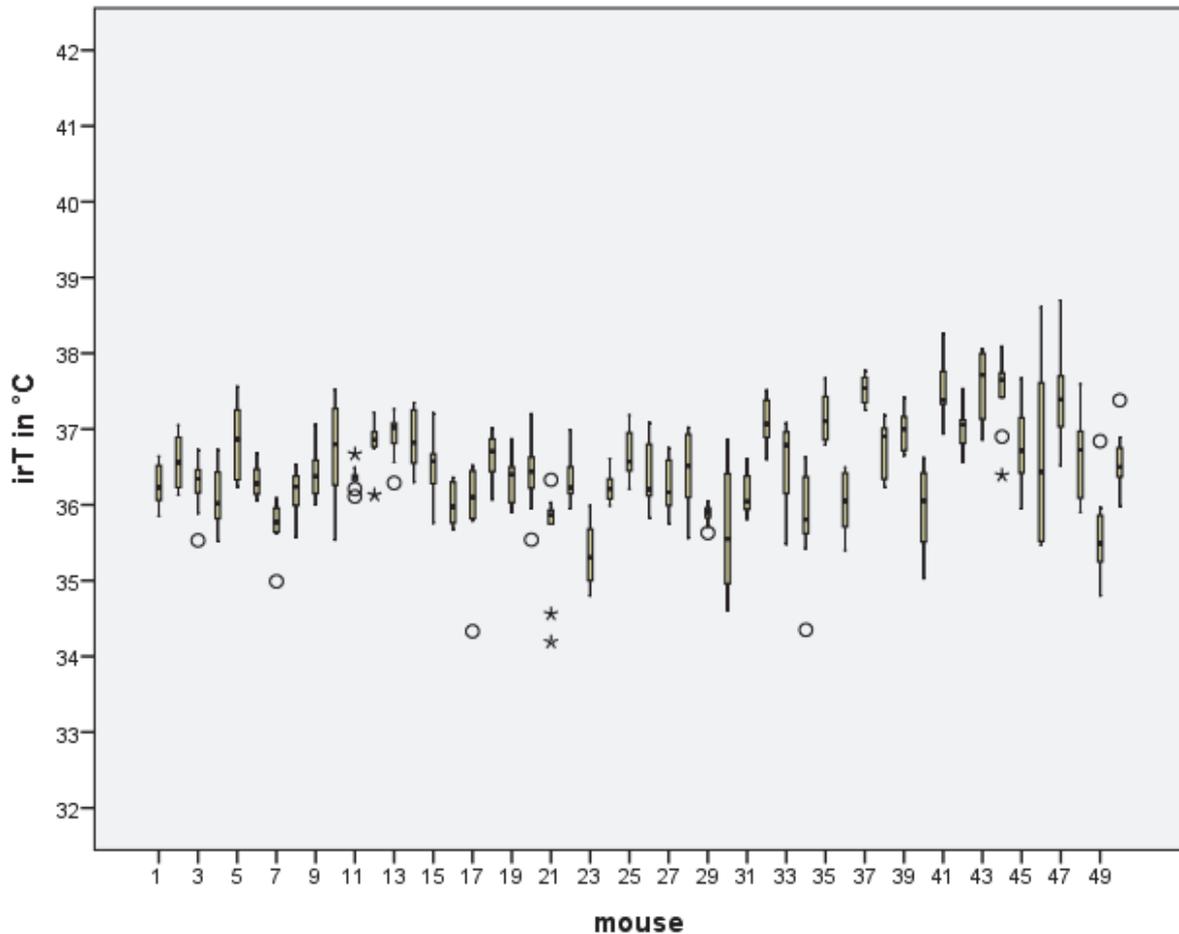


Figure 8: Boxplot der irT_{max} -Werte ($n = 498$) der 10 einzelnen Messungen von 50 (# 1 - 50) adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen. 13 Ausreißer (°) und 5 Extremwerte (*).

4.2.3. Thermografie 20 adulter männlicher BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse über einen längeren Zeitraum

Die irT_{max} Daten von 20 adulten männlichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Nacktmäusen (Janvier Labs) über einen Zeitraum von 4 Wochen sind in dem Boxplot dargestellt (Figure 9). Die irT_{max} -Daten ($n = 158$) zeigen 2 Ausreißer (Maus # 4, 19), wovon eine Maus (# 4) in den unteren Bereich geht. Die Spanne der Interquartilsabstände der gemessenen irT ist, vergleichend je Einzeltier, sehr variabel. Die irT der Messreihe liegen in einer 3,82 $^{\circ}C$ Temperaturspanne (36,52 $^{\circ}C$ - 40,34 $^{\circ}C$). In der Tabelle 1 sind die Daten zur deskriptiven Statistik aufgeführt.

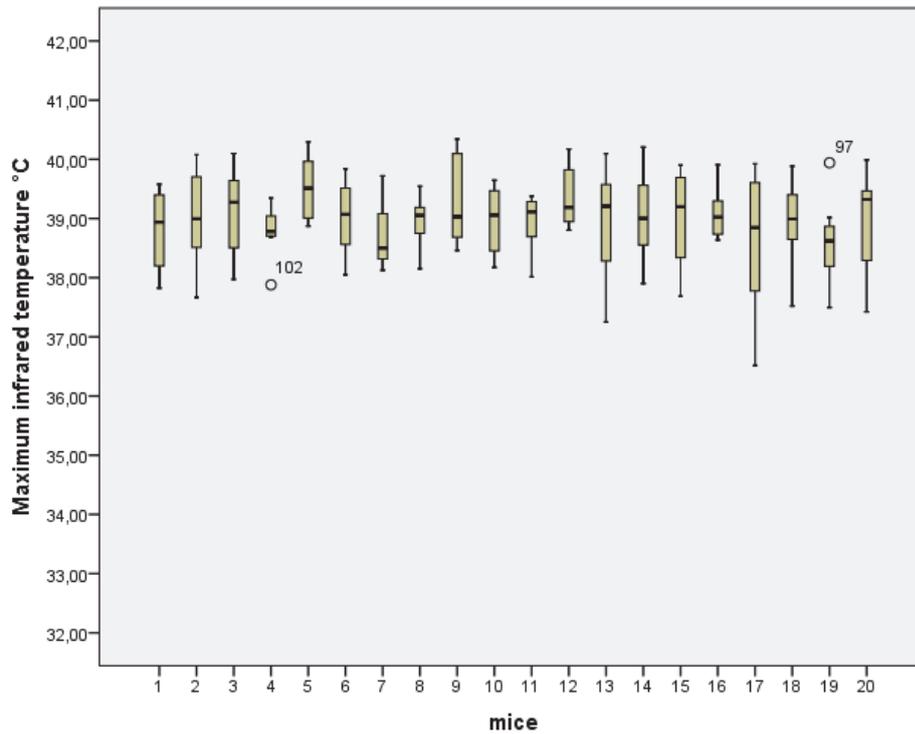


Figure 9: Boxplot der maximalen irT-Werte (N = 158) der 10 Einzeltiermessungen von 20 adulten männlichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen über einen Zeitraum von 4 Wochen. 2 Ausreißerwerte (°).

Tabelle 1: Die deskriptiven Daten von irT_{max} von 20 adulten männlichen BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen.

Descriptive Statistics												
	N	Range	Minimum	Maximum	MW		Std.	Variance	Skewness		Kurtosis	
					Deviation	Std.	Statistic		Error	Statistic	Std.	Statistic
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Error	Statistic	Statistic	Statistic	Error	Statistic	Error
Maximum infrared temperature °C	158	3,82	36,52	40,34	38,9835	,05599	,70379	,495	-,503	,193	,277	,384
Körpergewicht	118	15	24	39	30,25	,304	3,298	10,875	,190	,223	-,536	,442
Maus	158	19	1	20	10,39	,456	5,730	32,837	,010	,193	-1,194	,384
Valid N (listwise)	118											

4.3. Methodenvergleich bei 10 adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen

Die Ergebnisse des Methodenvergleichs zur Temperaturmessung wurden teilweise bereits veröffentlicht (Fiebig et al. 2018). Der Messmethodenvergleich dient der Prüfung, ob die nicht invasive Temperaturmessung mittels WBK bei Nacktmäusen eine gleich hohe Messgenauigkeit im Vergleich zu etablierten Temperaturmessverfahren erzielt. Die vergleichenden Temperaturmessungen an den Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen ($n_{\text{maus}} = 10$) wurden dreimal täglich über einen Zeitraum von 14 aufeinanderfolgenden Tagen sowie einmal am Morgen des 15. Tages wiederholt. Zusätzlich wurde das Körpergewicht (KGW) ($n_{\text{KGW}} = 430$) aller Mäuse von mindestens 34,1 g und höchstens 47,9 g ($MW_{\text{KGW}} 39,7$ g, $SD_{\text{KGW}} 3,32$ g) über die gesamte Zeit des Versuchs ermittelt. In der Analyse wurde das KGW als ein Effekt betrachtet, um den Einfluss auf die verschiedenen Methoden zu untersuchen. Die statistische Analyse beinhaltet die deskriptive Bewertung der Temperaturdaten und des KGW für jede Maus und jede Messmethode, wie in Tabelle 2 dargestellt.

Die erstellten Boxplots zeigen die Verteilung der Daten je Maus und Messmethode. Der Datensatz der irT_{max} ($n_{irT} = 430$) ist vollständig. Insgesamt wurden mittels WBK irT_{max} in einer Spanne von 35,46 °C bis 39,28 °C ($MW_{irT} 37,36$ °C) gemessen. Die SD_{irT} auf jede einzelne Maus betrachtet war gleichmäßig und klein ($MW_{irT} 36,57$ °C - 38,05 °C; $SD_{irT} 0,46$ °C - 0,59 °C), die SD_{irT} aller Mäuse insgesamt war etwas höher ($SD_{irT} 0,63$ °C) (Tabelle 2). Die insgesamt vier Ausreißer, welche mittels WBK hergingen, sind in Figure 10 dargestellt. Der Boxplot zeigt die irT_{max} der Mäuse mit einem Ausreißer der Maus # 1 in den unteren und je einen Ausreißer in den oberen Bereich von Maus # 6, # 7 und # 9 (Figure 10).

Die rT wurden aufgrund technischer und tierschutzrechtlicher Anforderungen bei jeder Maus unterschiedlich häufig gemessen. Insgesamt liegen die rT ($n_{rT} = 369$) in einem Bereich von 34,01 °C bis 38,87 °C ($MW_{rT} 36,80$ °C). Die einzelnen SD_{rT} ($SD_{rT} 0,50$ °C – 0,83 °C) einer jeden Maus waren unterschiedlich groß, wodurch eine größere SD_{rT} aller Mäuse ($SD_{rT} 0,78$ °C) entstand (Tabelle 2). In dem Boxplot der rT zeigt sich eine Gesamtanzahl von 15 Ausreißern, wovon 14 unter dem Bereich bei Maus # 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 und ein Ausreißer über dem Bereich bei Maus # 2 liegen (Figure 10).

Die scT -Messungen ($n_{scT} = 430$) der TR ergab mit 35,00 °C bis 42,10 °C ($MW_{scT} 37,27$ °C) den größten Temperaturmessbereich der verglichenen Methoden. Die einzelnen SD_{scT} jeder Maus war klein ($SD_{scT} 0,36$ °C - 0,62 °C), aber die SD_{scT} aller Mäuse war groß ($SD_{scT} 1,55$ °C) (Tabelle 2). Der Boxplot der scT zeigt, dass die TR der Maus # 6 und # 8 insgesamt über dem thermalen Messbereich der anderen TR liegen. Die SD_{scT} ist mit 0,57 °C, ($n_{scT} = 344$, $MW_{scT} 36,58$ °C, $Spanne_{scT} 35,0$ °C - 38,20 °C) vergleichsweise kleiner, wenn die TR-Messungen von

Maus # 6 und Maus # 8 aus der Berechnung der scT ausgeschlossen werden. Die TR brachten einen Ausreißer von Maus # 9 in den unteren Bereich und je einen Ausreißer über dem oberen Bereich bei Maus # 7 und # 10 hervor, sodass die TR insgesamt drei Ausreißer zeigen (Figure 10).

Die ipT ($n_{ipT} = 430$) der Datenlogger (DL) lagen in einem Temperaturbereich von 33,21 °C bis 37,76 °C. Die SD_{ipT} jeder einzelnen Maus (SD_{ipT} 0,48 °C - 0,84 °C) variierten stark voneinander. Daher ergab sich eine höhere SD_{ipT} aller Mäuse (MW_{ipT} 35,95 °C, SD_{ipT} 0,70 °C) (Tabelle 2). Der Boxplot der DL zeigt die durchschnittlich tiefer liegenden ipT Temperaturlevel, verglichen mit den Leveln der anderen Methoden (Figure 10). Es geht eine gesamtheitliche Anzahl von 11 Ausreißern der DL hervor, wobei jeweils ein Ausreißer unter dem Bereich von Maus # 2, 3, 4, 6, 7, 10 und zwei Ausreißer von Maus # 9 liegen, sowie jeweils einer über dem Bereich von Maus # 2, # 3 und # 6. Der DL von Maus # 3 produzierte einen extremen ipT Wert unter dem Bereich (Figure 10).

Der Vergleich der Messmethoden zur Temperaturmessung soll zeigen, dass die WBK in der Lage ist, mit gleicher Messgenauigkeit und weniger Invasivität bei adulten männlichen Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Mäusen zur Temperaturmessung angewendet werden zu können.

Der Vergleich der irT und rT zeigt, dass die Messergebnisse nicht systematisch mit dem MW der irT und rT wechseln, sondern auf eine Seite (einseitig) verschoben sind (Figure 11). Der Vergleich von irT mit rT zeigt einen CCC von 0,160 sowie eine mittlere Differenz von 0,56 °C (SD 0,89 °C) (Figure 11). Die Korrelation zwischen den irT und rT Messungen wurde mittels Pearsons Korrelationskoeffizient getestet und war klein ($r = 0,208^*(n = 369)$). Die Differenz der MW von irT und rT lag bei 0,52 °C und die Limits of agreement reichte von -1,23 °C bis 2,27 °C. Die irT waren durchschnittlich höher als die rT. Da dies nicht konstant ist, konnte kein Korrelationsfaktor ermittelt werden. Da diese Werte nicht als wiederholte Messungen von denselben Mäusen angesehen werden können, wurde ein lineares gemischtes Regressionsmodell zu Auswertung verwendet. Die gemischte Modellanalyse mit der abhängigen Variable „rT“ und der Annahme von „KGW“ und „irT“, als feste Faktoren, sowie dem Zufallsfaktor „Maus“ zeigte einen signifikanten Einfluss des „KGW“ und keinen signifikanten Einfluss der „irT“ auf die rT ($p < 0,001$ und $p = 0,073$). Die Schätzung eines festen Faktors brachte hervor, dass ein irT-Anstieg um 1 °C einen rT-Anstieg von 0,13 °C verursacht, während eine KGW-Zunahme von 1 g einen rT-Anstieg von 0,21 °C bewirkt. Die Schätzung des Kovarianzparameters „Maus (Varianz)“ war nicht signifikant mit $p = 0,112$. Der zufällige Effekt der „Maus“ beeinflusst ca. 63,0 % der Varianz und ist damit eine wichtige Ursache für die Unterschiede. Daraus geht hervor, dass die rT eine größere Variation zwischen den Mäusen aufweist, unabhängig vom KGW und der irT.

Der Vergleich zwischen irT und scT zeigt auf, dass die Unterschiede der Messergebnisse nicht systematisch mit dem MW der irT und scT wechseln. Aus diesem Grund war der Pearson-s Korrelationskoeffizient ($r = 0,382$ ($n=430$)) klein. In der Bland-Altman-Analyse der Temperaturwerte ergab sich eine MW-Differenz von $0,08$ °C und die Limits of agreement von $-2,72$ °C bis $2,88$ °C (Figure 15). Die irT waren tiefer als die scT, aber ein Korrelationsfaktor konnte nicht ermittelt werden. Der CCC der irT im Vergleich zu den scT war $0,270$ und damit etwas höher als der von den rT. Die mittlere Differenz der beiden Werte lag bei $0,09$, hatte aber eine große SD von $1,43$ °C, verursacht durch zwei Mäuse mit höheren scT-Messwerten. In der gemischten Modellanalyse hatten die Werte des KGW und die irT sowie der Zusammenhang zwischen ihnen einen signifikanten Effekt auf die scT ($p < 0,001$ für jede einzelne Maus). Die „Maus“ beeinflusst $95,6$ % der Datenvariation und ist daher ein wichtiger zufälliger Faktor. Die gemischte Modellanalyse der scT der TR, als abhängige Variable, mit dem „KGW“ und der „irT“ als feste Effekte und der „Maus“ als Zufallsfaktor war für das „KGW“ nicht signifikant ($p = 0,080$), jedoch signifikant für die „irT“ $p < 0,0001$. Die Schätzung des Kovarianzparameters „Maus (Varianz)“ war signifikant mit $p = 0,026$. Der Zufallsfaktor Veränderung der scT über alle Mäuse war $2,0$. Verglichen mit der residuals von $0,1$, zeigt sich ein Einzeltiereffekt (ein Effekt der einzelnen Maus auf die Messwerte).

Um die irT und die ipT zu vergleichen, wurde mittels Pearsons Korrelationskoeffizient ($r = 0,223$ ($n = 430$)) getestet, welcher sehr klein war und sich nicht systematisch mit dem MW verschob. Die irT-Werte waren durchschnittlich größer als die ipT und ein Korrelationsfaktor konnte nicht ermittelt werden. Die mittlere Differenz der 430 Datenpunkte von der irT und der ipT war $1,40$ °C und die Limits of agreement liegen bei $-0,22$ °C bis $3,03$ °C (Figure 16). Der Unterschied zwischen ipT und irT lag bei $1,4$ °C (SD $0,83$ °C) mit einem CCC von $0,07$. Das KGW ($p = 0,050$), irT ($p = 0,017$) und ihr Zusammenwirken ($p = 0,048$) zeigen alle einen signifikanten Einfluss auf ipT, obwohl der Einfluss des KGW an der Grenze zur Signifikanz liegt. Der Faktor „Maus“ ist für $28,4$ % der Variationen verantwortlich, welches der kleinste/tiefste Wert von den drei invasiven Messverfahren ist. Die gemischte Modellanalyse mit der abhängigen Variable „ipT“ der DL und als feste Effekte das „KGW“ und die „irT“ und die „Maus“ als Zufallsfaktor, war signifikant für die „irT“ ($p < 0,0000$), aber für das „KGW“ nicht signifikant ($p = 0,771$). Die Schätzung des Kovarianzparameters „Maus (Varianz)“ war mit einem P-Wert von $0,042$ signifikant. Das zeigt, dass die Variation zwischen den Mäusen signifikant größer war als bei der Betrachtung innerhalb einer Maus.

Es konnte kein systematischer Einfluss des „KGW“ bei den verglichenen Methoden nachgewiesen werden. Das KGW hat zwar Einfluss auf die rT-Messung, aber nicht auf die implantierten Systeme, wie TR und DL.

Tabelle 2: Die deskriptive Statistik des Messmethodenvergleich zeigt die Prüfung auf Normalverteilung der gemessenen Temperaturwerte per Wärmebildkamera, Transponder, Datenlogger und Rektalsonde je Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} Maus (n = 10). Eine Zusammenfassung der Prüfung und der Einzelfälle je Maus zeigt die KGW, irT, rT, scT und ipT. Die Daten sind als Mittelwerte MW ± SD (Fehlerbalken) aufgezeigt.

Maus	KGW in g	irT in °C	rT in °C	scT in °C	ipT in °C	
1	N	43	43	38	43	
	MW (SD)	42,22 (1,04)	37,31 (0,46)	36,66 (0,82)	36,33 (0,50)	35,31 (0,84)
	Range	39,95 - 43,52	36,02 - 38,13	34,81 - 38,20	35,30 - 37,50	34,00 - 37,21
2	N	43	43	41	43	43
	MW (SD)	40,79 (0,51)	37,44 (0,53)	36,84 (0,79)	36,07 (0,39)	35,80 (0,55)
	Range	39,82 - 41,92	36,00 - 38,47	34,88 - 38,88	35,20 - 36,90	34,43 - 37,00
3	N	43	43	38	43	43
	MW (SD)	46,30 (1,27)	36,57 (0,58)	36,45 (0,70)	36,30 (0,36)	35,84 (0,54)
	Range	43,38 - 47,90	35,46 - 37,93	34,43 - 37,60	35,70 - 37,00	34,07 - 37,06
4	N	43	43	39	43	43
	MW (SD)	36,85 (0,63)	37,40 (0,48)	37,02 (0,75)	36,81 (0,39)	36,44 (0,50)
	Range	35,58 - 38,43	36,41 - 38,42	35,29 - 38,12	36,20 - 37,80	35,20 - 37,42
5	N	43	43	40	43	43
	MW (SD)	37,51 (0,70)	37,51 (0,50)	36,80 (0,83)	36,75 (0,56)	36,23 (0,58)
	Range	36,07 - 38,68	36,60 - 38,47	34,34 - 38,60	35,40 - 37,70	34,90 - 37,31
6	N	43	43	39	43	43
	MW (SD)	42,85 (1,16)	37,00 (0,48)	36,67 (0,62)	39,33 (0,45)	35,96 (0,48)
	Range	38,91 - 44,36	35,98 - 38,21	35,18 - 37,62	38,50 - 40,30	34,87 - 37,09
7	N	43	43	34	43	43
	MW (SD)	36,84 (0,67)	37,53 (0,51)	36,87 (0,64)	36,62 (0,38)	36,05 (0,56)
	Range	35,61 - 38,31	36,40 - 38,64	34,35 - 38,10	35,50 - 37,50	34,42 - 37,14
8	N	43	43	39	43	43
	MW (SD)	35,18 (0,52)	38,05 (0,53)	37,54 (0,50)	40,82 (0,62)	36,50 (0,57)
	Range	34,14 - 36,18	36,94 - 39,28	36,26 - 28,45	39,70 - 42,10	35,32 - 37,76
9	N	43	43	40	43	43
	MW (SD)	39,77 (0,58)	37,15 (0,46)	36,54 (0,80)	37,26 (0,50)	36,04 (0,50)
	Range	38,65 - 41,00	36,03 - 38,36	34,01 - 37,92	36,20 - 38,60	34,54 - 36,75
10	N	43	43	21	43	43
	MW (SD)	38,91 (1,00)	37,63 (0,59)	36,55 (0,71)	36,47 (0,54)	35,32 (0,67)
	Range	37,11 - 41,32	36,23 - 38,69	35,41 - 38,05	35,00 - 37,30	33,21 - 36,31
n	N	430	430	369	430	430
	MW (SD)	39,72 (3,32)	37,36 (0,63)	36,80 (0,78)	37,27 (1,55)	35,95 (0,70)
	Range	34,14 - 47,90	35,46 - 39,28	34,01 - 38,87	35,00 - 42,10	33,21 - 37,76

Tabelle 3: Schätzung der festen Effekte mit KGW und irT als zufällige Effekte und rT als abhängige Variable

Schätzung der festen Effekte						
Parameter	Schätzung	Std. Error	t	p - value	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Intercept	23,494493	3,674123	6,395	<0,001	16,266487	30,722498
KGW	0,205459	,042583	4,825	<0,001	0,121093	0,289824
IRT	0,137342	,075479	1,820	0,070	- 0,011099	0,285783

a. Abhängige Variable: rektale Temperatur in °C.

Tabelle 4: Schätzung des Kovarianzparameters mit Maus und rT als abhängige Variable

Schätzung des Kovarianzparameters						
Parameter	Schätzung	Std. Error	Wald Z	p - value	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Residual	0,485701	0,036616	13,265	<0,001	0,418985	0,563040
Intercept [subject = Maus]	0,825363	0,508502	1,623	0,105	0,246731	2,760999

a. Abhängige Variable: rektale Temperatur in °C.

Tabelle 5: Schätzung der festen Effekte mit KGW und irT als zufällige Effekte und scT als abhängige Variable

Schätzung der festen Effekte						
Parameter	Schätzung	Std. Error	t	p - value	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Intercept	- 45,628519	11,747664	- 3,884	<0,001	- 68,720227	- 22,536812
KGW	1,406226	0,293486	4,791	<0,001	0,829333	1,983119
IRT	2,208486	0,318100	6,943	<0,001	1,583210	2,833762
KGW * IRT	- 0,037401	0,007969	- 4,693	<0,001	- 0,053065	- 0,021737

a. Abhängige Variable: subkutane Temperatur in °C.

Tabelle 6: Schätzung des Kovarianzparameters mit Maus und scT als abhängige Variable

Schätzung des Kovarianzparameters						
Parameter	Schätzung	Std. Error	Wald Z	p - value	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Residual	0,089454	0,006195	14,440	<0,001	0,078100	0,102459
Intercept [subject = Maus]	2,119315	1,000894	2,117	0,034	0,839840	5,348040

a. Abhängige Variable: subkutane Temperatur in °C.

Tabelle 7: Schätzung der festen Effekte mit KGW und irT als zufällige Effekte und ipT als abhängige Variable

Schätzung der festen Effekte						
Parameter	Schätzung	Std. Error	t	p - value.	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Intercept	- 16,047983	21,895063	- 0,733	0,464	- 59,087478	26,991512
KGW	1,076256	0,547202	1,967	0,050	0,000607	2,151905
IRT	1,412446	0,591279	2,389	0,017	0,250123	2,574769
KGW * IRT	- 0,029348	0,014806	- 1,982	0,048	- 0,058454	- 0,000242

a Abhängige Variable: intraperitoneale Temperatur in °C.

Tabelle 8: Schätzung des Kovarianzparameters mit Maus und ipT als abhängige Variable

Schätzung des Kovarianzparameters						
Parameter	Schätzung	Std. Error	Wald Z	Sig.	95% Konfidenzintervall	
					Untere Grenze	Obere Grenze
Residual	0,325834	0,022563	14,441	<0,001	0,284481	0,373198
Intercept [subject = Maus]	0,129371	0,068037	1,901	0,057	0,046152	0,362649

a. Abhängige Variable: intraperitoneale Temperatur in °C.

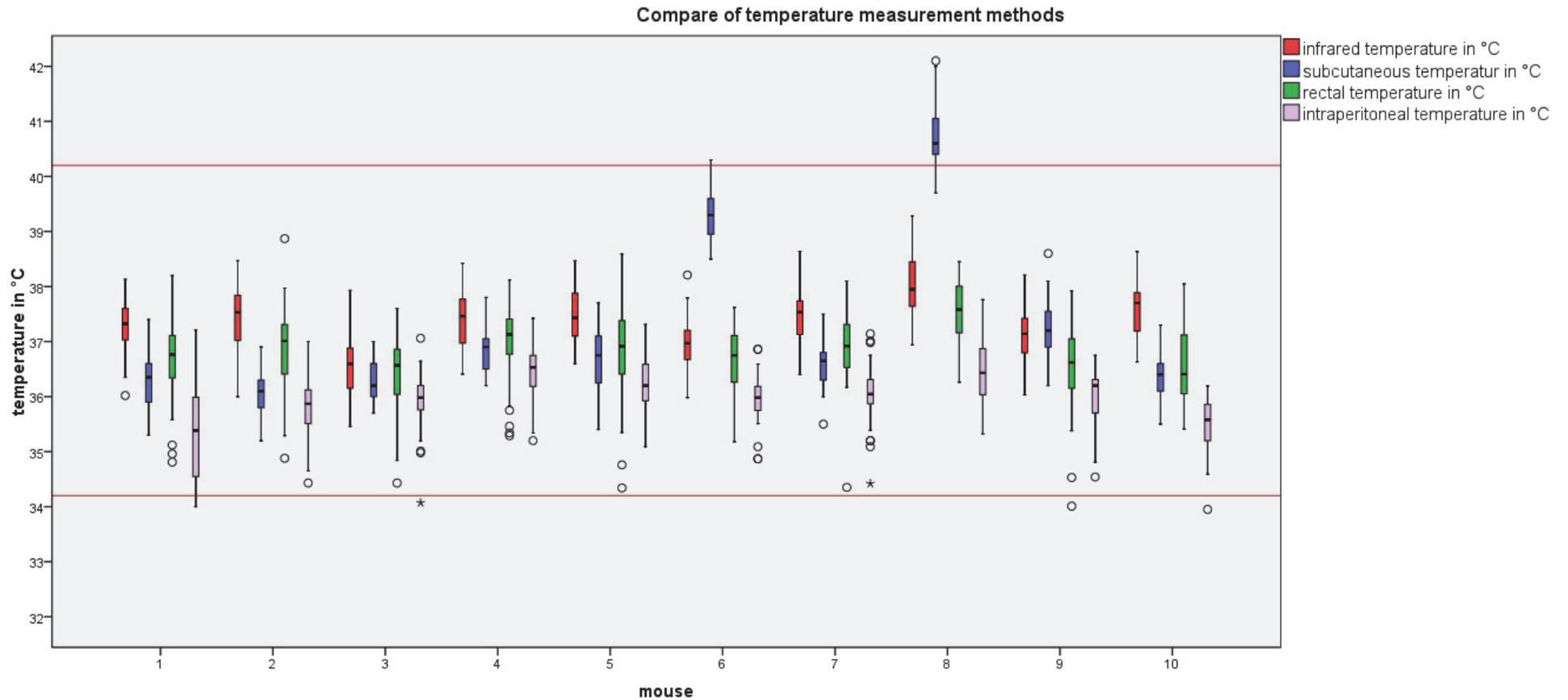


Figure 10: Boxplot der Temperaturdaten des Messmethodenvergleichs von 10 männlichen Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäusen. Rote Markierung irT (n = 430), blaue Markierung scT (n = 430), grüne Markierung rT (n = 369), violette Markierung ipT (n = 430). Die rosa Linie des Referenzbereichs: 34,2 °C - 40,2 °C (dorsale irT_{REF} (Funda et al. 1998): 37,2 °C ±3 °C) nach Literaturangaben für Nacktmäuse.

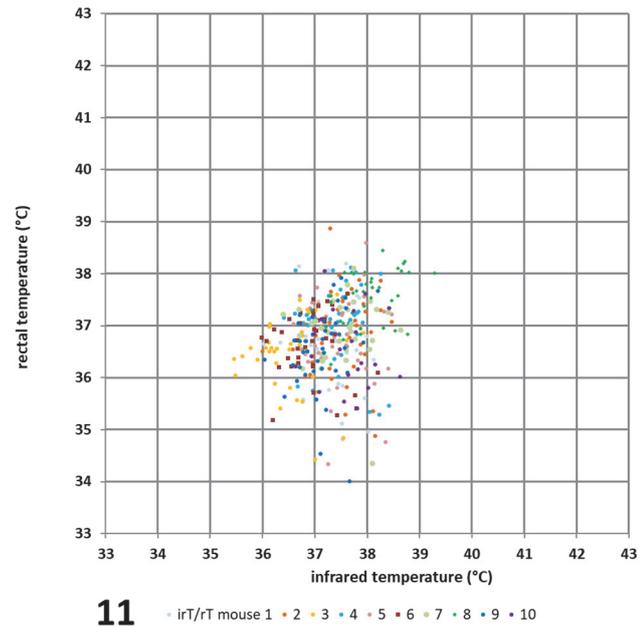


Figure 11: Bland - Altman - Datenpunkte der rT und irT des Messmethodenvergleichs (n = 369). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden.

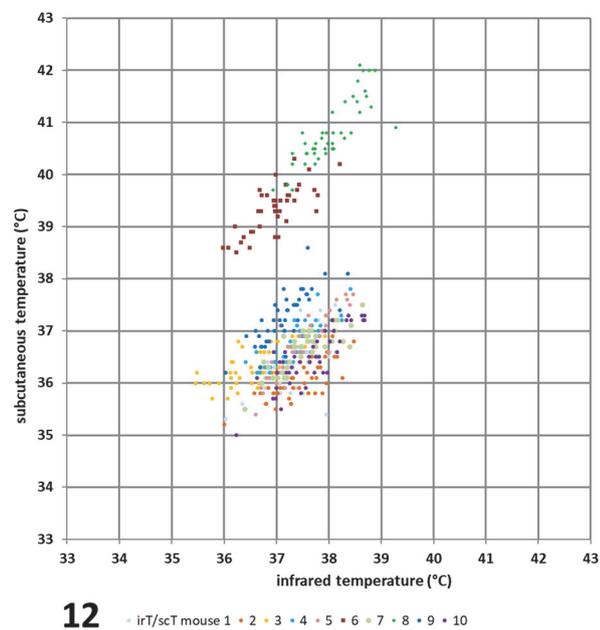


Figure 12: Bland - Altman - Datenpunkte der scT und irT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden.

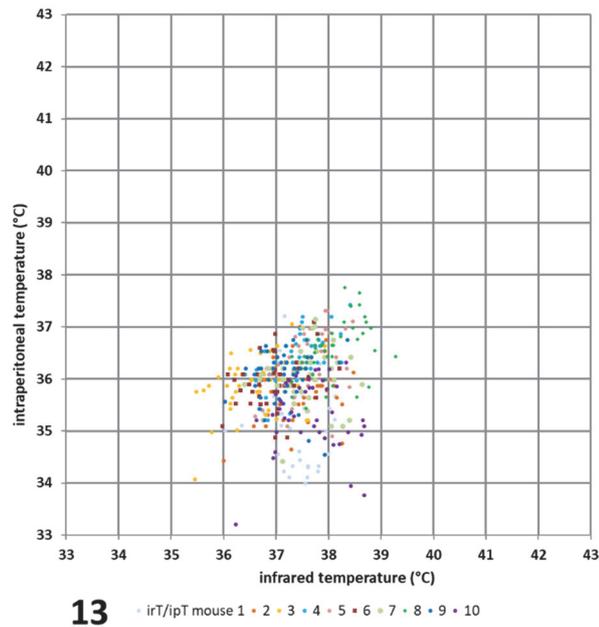


Figure 13: Bland - Altman - Datenpunkte der ipT und irT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden.

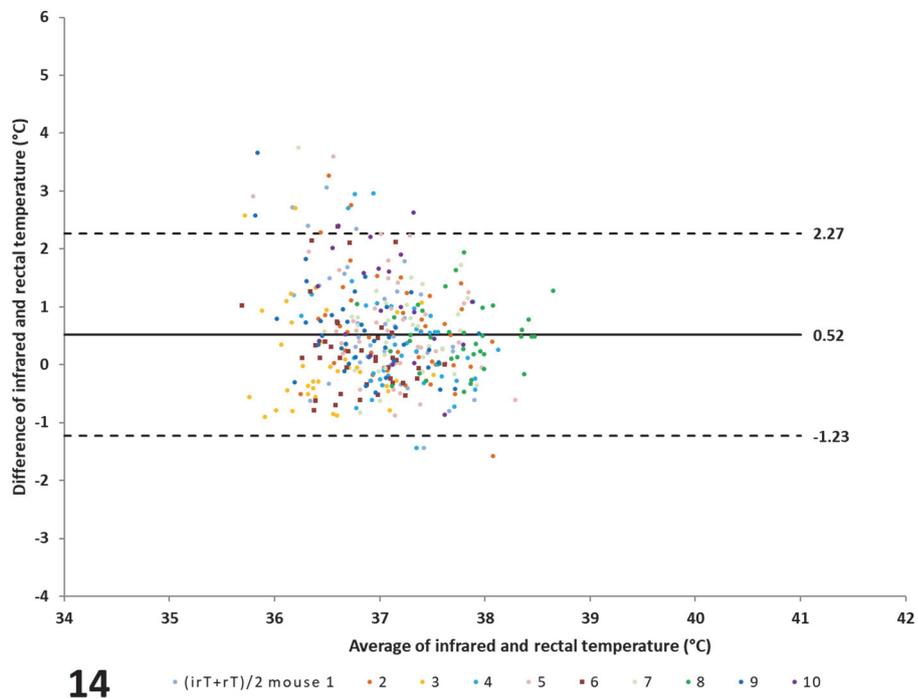


Figure 14: Bland - Altman - Datenpunkte der irT und rT des Messmethodenvergleichs (n = 369). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden. Die Linie (mean; mean +/- 1,96 SD).

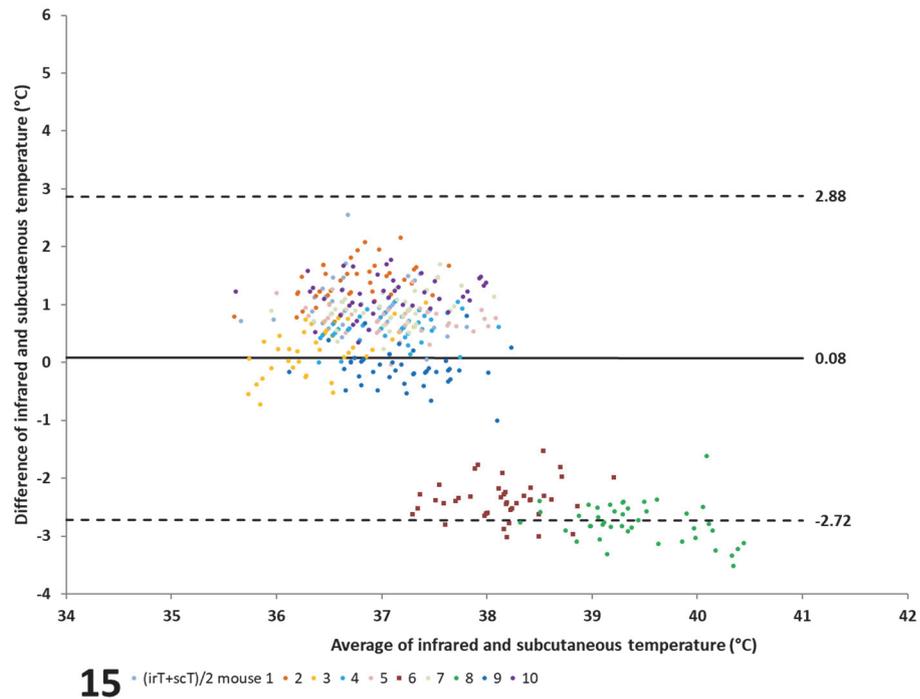


Figure 15: Bland - Altman Datenpunkte der irT und scT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden. Die Linie (mean; mean +/- 1,96 SD).

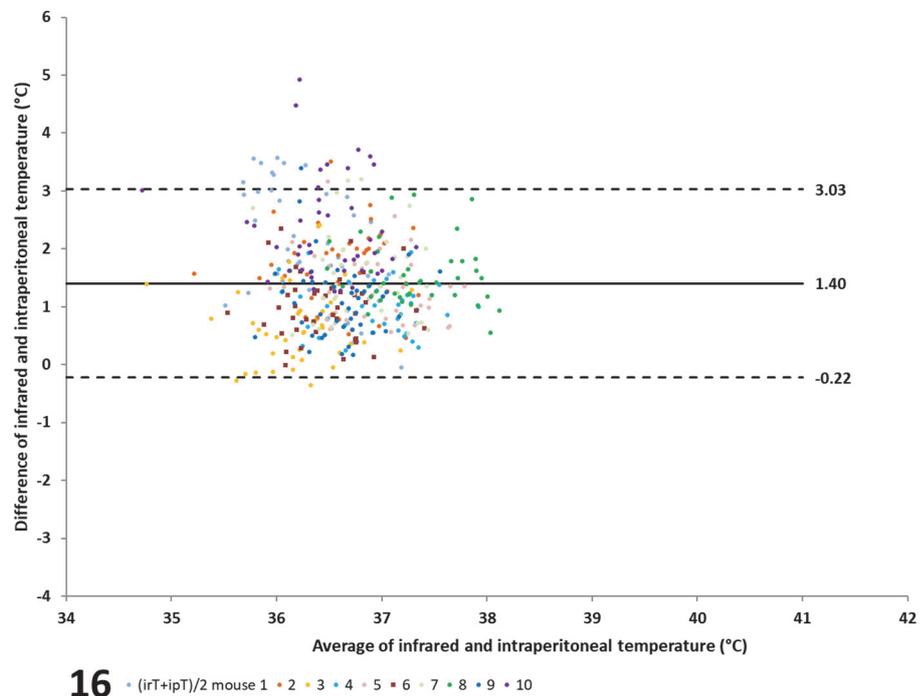


Figure 16: Bland - Altman Datenpunkte der irT und ipT des Messmethodenvergleichs (n = 430). Punkte repräsentieren die Daten der Messung von zwei Methoden. Die Linie (mean; mean +/- 1,96 SD).

5. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, die nichtinvasive und berührungslose Methode der Thermografie an der Nacktmaus zu etablieren. Thermografie ist bekannter Weise in der Lage, die von der Oberfläche emittierte, infrarote Wärmestrahlung eines Objekts in ein farbcodiertes Bild umzuwandeln. Die WBK misst die abgestrahlte Oberflächentemperatur eines Objekts (Meyer et al. 2017). Die Studie sollte durch die Testung der Hypothesen zum einen zeigen, dass die qualitative Thermografie geeignet ist, die von Nacktmäusen abgestrahlte thermische Energie in Form von Wärmestrahlung darzustellen. Zum anderen, dass die quantitative Thermografie eine praktische Anwendungsmöglichkeit bietet, um berührungslos Temperaturen von Nacktmäusen im physiologischen Bereich reproduzierbar zu messen. Des Weiteren sollte die thermografische Messung der Temperatur im Vergleich mit etablierten Messmethoden bestehen können. Der Vergleich der Messmethoden in dieser Arbeit soll, die nicht invasive Thermografie den bereits etablierten Temperaturmessverfahren im Punkt der Messgenauigkeit bei Nacktmäusen gegenüberstellen.

5.1. Qualitative Thermogramme

Thermografie wird bereits bei verschiedenen Fragestellungen an der Maus eingesetzt. Ob die Thermografie geeignet ist, Nacktmäuse zu visualisieren, wurde in dieser Studie anhand von qualitativen Analysen, d. h. an relativen Temperaturen des Thermogramms, untersucht. Dazu wurden qualitative Thermogramme von einzelnen Mäusen und Mäusen in Gruppen erstellt und ausgewertet. Es sind verschiedene Anfertigungs- und Analyseverfahren von Thermogrammen anderer Autoren bekannt (Carter et al. 2011; Crane et al. 2014; Harshaw et al. 2014; Vogel et al. 2016). Eine einheitliche Erstellung und Analyse von Thermogrammen dient einer möglichst standardisierten Beurteilung und erhöht die Qualität der Messung (Crane et al. 2014). In der vorliegenden Arbeit findet das Thema der Standardisierung von Thermogrammen auch Beachtung. Einige Autoren verdeutlichen die thermisch dargestellten Studienergebnisse durch die Änderung der Farbskalen in qualitativen Thermogrammen (Nonomura et al. 2001; Hofmann et al. 2007; Song et al. 2007; Tajino et al. 2007; Hodges et al. 2008; Harshaw et al. 2014; Vogel et al. 2016). Qualitative Thermogramme sind ohne die dazugehörigen analytischen Angaben zur Verwendung der Farbpalette und der Farbskala wenig aussagekräftig, da keine Zuordnung der Falschfarben zu der jeweiligen Temperatur möglich ist (Lee et al. 2010; Crane et al. 2014; Vogel et al. 2016). Der kleinste auflösbare Temperaturunterschied im Thermogramm hängt dabei vom Sehvermögen des Anwenders, dem Monitor der WBK und der geometrischen Auflösung der WBK ab (3511 ; Zimmermann und Zimmermann 2012; Soldan 2014). Wird durch minderwertige IR - Detektoren der WBK die elektronische Bandbreite zu stark eingeschränkt,

wird das „Rauschen“ verringert und die thermische Auflösung verbessert, aber wichtige örtliche Details können nicht mehr getrennt werden (Weichzeichnerbild). Die Farbwahrnehmung ist von Mensch zu Mensch verschieden, daher wird die Farbwirkung von den Autoren unterschiedlich eingesetzt (Song et al. 2007;David et al. 2013a;Vogel et al. 2016;Meyer et al. 2017). Crane et al. (2014, 2015) stellen heraus, wie wichtig die Auswahl der geeigneten Farbpalette, d. h. die Abfolge der Falschfarben, für die jeweilige Fragestellung ist (Crane et al. 2014;Crane et al. 2015). In der vorliegenden Arbeit zeigt der Wechsel in den Analyseinstellungen der qualitativen Thermogramme, dass die Auswahl der Farbpalette die detaillierte thermografische Darstellung der Nacktmaus verändert (Abbildung 13). Die Skalierung des Farbcodes wird in den oberen und unteren Temperaturbereich automatisch oder manuell eingepasst. Die Farbskala gibt die Größe des Temperaturbereichs an, so wird ermöglicht, bei jedem einzelnen Grad Celsius eine andere Farbe zu verwenden. In dieser Studie zeigt der Wechsel der Farbskaleneinstellung, dass eine systematische Änderung des Temperaturbereichs ermöglicht, die Nacktmaus unterschiedlich detailliert darzustellen (Abbildung 14). Eine Verschiebung der Temperaturbereiche im Thermogramm nach oben oder unten, bewirkt eine Veränderung der Detaildarstellung der Nacktmaus (Song et al. 2007). Je nach Fragestellung können unterschiedliche Körperregionen explizit untersucht werden (Franco et al. 2019).

Neben den analytischen Einstellungen zur Auswertung des Thermogramms beeinflussen die äußeren Umstände bei der Anfertigung die Eignung zur Temperaturmessung (Fouad und Richter 2008;David et al. 2013a). Aufgrund konstanter Klimaverhältnisse in einer Nacktmaushaltung sind externe Störfaktoren (Sonneneinstrahlung, Witterung) der thermografischen Messumgebung auf ein Minimum reduziert. Die normale Atmosphäre ist entsprechend transparent für die WBK und künstliche Lichtquellen stören bei der kleinen Messdistanz im Zentimeterbereich das Messergebnis kaum (Fouad und Richter 2008;Budzier und Gerlach 2010;Soldan 2014). Gmoser (2018) weist auf atmosphärische Einflüsse bei Messungen hin und empfiehlt eine Verkleinerung des Objektabstandes entgegen der Kameraeignung durch Nutzung einer zusätzlichen Makrolinse (Gmoser 2018). Meyer et al. (2017) weisen auf Variation von Raumtemperatur und „operativer Umgebungstemperatur“, die von den Tieren im Käfig erzeugt wird, hin (Meyer et al. 2017) und empfehlen, die Ergebnisse der Körperkerntemperaturmessung mit den thermografischen Werten von Schwanz und Rücken der Tiere zu kombinieren (Gachkar et al. 2017). Meyer et al. (2017) empfehlen dies, um ein vollständigeres thermoregulatorisches Portrait des Tieres und damit spezifische Defizite aufzeigen zu können, wenn man veränderte Temperaturbedingungen nutzt und die Messungen nicht auf Standardbedingungen beschränkt (Meyer et al. 2017). Für die in dieser Studie zur Diskussion stehende Etablierung der WBK ermöglichten standardisierte

Haltungsbedingungen ohne veränderte Temperaturen nahezu identische Umgebungsbedingungen, welche als vernachlässigbarer Messeinfluss angesehen werden können, da die Umgebung keine Temperaturbelastung verursachte und keine zusätzlichen thermoregulatorischen Effekte hervorrief.

Die Temperatur des Tierkörpers schwankt in physiologischen Grenzen. Fell trägt vor allem zur Wärmeisolation bei und beeinflusst die Wärmeabstrahlung (Hart 1971;Minakami et al. 1986;Hershey et al. 2014;Meyer et al. 2017), obwohl Mäusefell eine relativ schlechte Isolationsfähigkeit hat. Die lokalen Temperaturen der Körperoberfläche sind ungleichmäßig, da die Anteile der befellten und der nackten Haut im Dienste der Thermoregulation unterschiedlich fungieren (Warn et al. 2003;Romanovsky 2014;Gmoser 2018). Studien genetisch veränderter Mäuse zeigen, dass mittels WBK eine Kausalität zwischen dem Stoffwechsel und dem Energiehaushalt hergestellt werden kann (Meyer et al. 2017). Da Mäuse eine geringere Wärmekapazität und verhältnismäßig hohe Energieverluste haben, ist eine genaue Temperaturregulation besonders bei den felllosen Mäusen von großer Bedeutung (Kleiber 1947;Kleiber und Kleiber 1961). Tiere mit starker energetischer Erschöpfung oder metabolischen Defiziten können sich nicht endogen wieder erwärmen (Haemmerle et al. 2006;Oelkrug et al. 2011;Meyer et al. 2017). Ein Indiz für eine hohe Wärmeabgabe von Nacktmäusen an die Umgebung zeigt die thermografische Ausprägung des Wärmeschattens an der Käfigwand und die Restwärmeabgabe an die Einstreu (Abbildung 12 & Abbildung 13). Den Anwendungen der WBK zum thermalen Energieverlust bei felltragenden Mäusen sollte in Folgestudien nachgegangen werden. Haarlose Bereiche zeigen generell höhere Oberflächentemperaturen, da Fell zum einen die Diffusions- und Reflexionseffekte verringert und zum anderen die isolierende Wirkung ohne Fell fehlt (Hershey et al. 2014;Meyer et al. 2017). Die messtechnischen Veränderungen durch das Fell sind bei der thermografischen Messung von nackten Jungen oder genetisch haarlosen Tieren minimiert (Schulz et al. 2013;Romanovsky 2014;Maurer et al. 2015;Kasza et al. 2019). Die thermografische Untersuchung ist bei Nacktmäusen zur Etablierung der thermografischen Methode, wie in dieser Studie, optimal. Haarlosigkeit ist ein Vorteil, verglichen mit der thermografischen Auswertung von Messungen an Tieren mit Fell, da das Fell die Messunsicherheit der Wärmebildkamera erhöht.

Die qualitativen Thermogramme der Studie, welche im offenen IVC - Heimatkäfig erstellt wurden, zeigen, dass Behinderungen des Strahlengangs durch die Käfigausstattung möglich sind (Abbildung 16). Daher wurde zur thermografischen Anfertigung der quantitativen Temperaturwerte in dieser Studie ein separater Messkäfig anstatt des Heimatkäfigs verwendet. Eine Alternative zur Nutzung eines separaten Messkäfigs wäre die Entfernung der gesamten Käfigausstattung des IVC zur Anfertigung des Thermogramms. Die Entfernung der

Käfigausstattung aus dem Heimatkäfig würde die Dauer des täglichen Messdurchlaufs verlängern und eine nicht standardisierte Hintergrundstrahlung bewirken. Bei untrainierten Mäusen kann zudem ein stressinduzierter Anstieg der Körpertemperatur durch das Öffnen des Käfigs oder das Betreten des Tierhaltungsraums ausgelöst werden (Meyer et al. 2017). Um Limitationen durch Umgebungseinflüsse im Käfig zu vermeiden, wurde im Messmethodenvergleich dieser Studie die Messung von Einzeltieren in einem separaten Messkäfig durchgeführt. Andere Autoren beschreiben, dass Stress für die Tiere vermieden werden kann, wenn die Tiere vorab an die Messsituation und das Handling gewöhnt werden (Kramer et al. 1993;Hurst und West 2010). Die Mäuse in dieser Studie wurden vor den Messungen für die Messsituation trainiert.

Das Umsetzen der einzelnen Tiere in einen separaten Messkäfig, wie es beim Wiegevorgang Routine ist, macht den Einsatz der Thermografie auch in Gruppenhaltung praktikabel (Gordon et al. 1998). So wird in dieser Studie ein beschriebenes Problem der Tieridentifikation von Einzeltieren in Thermogrammen einer Gruppe umgangen (Harshaw et al. 2014;Mufford et al. 2016). Komplikationen bei der Identifikation mittels Thermografie als Bildgebung konnten in dieser Studie bei den qualitativen Gruppentieraufnahmen bestätigt werden (Abbildung 18 & Abbildung 19). Trotz farbiger Markierungen am Hinterleib oder der Schwanzwurzel, waren einzelne Mäuse bei den Gruppenmessungen z.T. schwer zu identifizieren. Eine eindeutige Identifikation aller Mäuse per WBK ist bei Käfiggruppen über 4 Tieren und mehreren Thermogrammen, trotz digitaler Bildgebung, nicht möglich. Die Überlagerung der Einzeltiere in der Gruppe bewirkt eine undeutliche Trennung der Wärmestrahlung (Abbildung 17).

Tiere mit geringer irT konnten mittels qualitativer Analyse im Thermogramm einer anderen Farbe zugeordnet werden als Mäuse höherer Temperatur. Kühlere Tiere mit weniger Wärmestrahlung wurden im Gruppenverband thermografisch erkannt.

Die vor allem bei Weibchen praktizierte Gruppenhaltung hat Einfluss auf das thermoregulatorische Verhalten (Himms-Hagen und Villemure 1992;David et al. 2013a;Maher et al. 2015). Zudem kann beim Fangen einzelner Mäuse aus einer Käfiggruppe, der Fangstress für die verbleibenden Mäuse zum Anstieg der gemessenen Körpertemperatur von der ersten bis zur letzten Maus variieren (Zethof et al. 1994). Die Körpertemperatur verändert sich auch mit einiger Verzögerung zur motorischen Aktivität (Lateef et al. 2014), da die Muskulatur zur inneren Wärmeproduktion beiträgt. Die Veränderung der Temperatur durch verhaltensbedingte Thermoregulation über soziale Interaktion in der Gruppe muss bei der Einzelhaltung nicht befürchtet werden (Gordon et al. 1998). Die adulten Mäuseböcke des Messmethodenvergleichs dieser Studie wurden einzeln gehalten, vgl. (Hoefig et al. 2015;Hoefig et al. 2016), auch um Verletzungen der Haut durch Bisswunden aufgrund von

Rangkämpfe zu vermeiden. Aus den quantitativen Thermogrammen der Gruppen gehen tierindividuelle thermische Unterschiede hervor. Die qualitativen Thermogramme der Mäusegruppen sind geeignet einzelne auffällige Mäuse im Thermogramm der Käfiggruppe wiederholt zu detektieren (Abbildung 18). Die abgestrahlte thermische Energie von Nacktmäusen in der Gruppe kann gemessen werden. Die Visualisierung der Nacktmäuse im qualitativen Thermogramm ist mittels WBK FLIR E40 für eine bildliche Darstellung möglich.

Bei den Gruppenaufnahmen mit der WBK FLIR E40 konnten nicht alle Tiere gleichzeitig auf einer Ebene des Thermogramms fokussiert werden. Die Mäuse waren bei der Anwendung des manuellen Fokus ungleich gut fokussiert. Die Abgrenzung der einzelnen Mäuse der Gruppe im Thermogramm wurde unterschiedlich deutlich. Ein zeitgleicher genauer Fokus mehrerer Tiere war manuell nicht möglich.

Andere Autoren zeigen, dass Thermografie hilfreich ist, um die Körpertemperaturen von Mäusen zu messen (Saegusa und Tabata 2003). In dieser Arbeit wurden quantitative Thermogramme erstellt, die reproduzierbare Ergebnisse liefern sollten, um darzustellen wie praktisch die Anwendung der berührungslose Temperaturmessung an Nacktmäusen im physiologischen Bereich ist. Zur Ermittlung konkreter Oberflächentemperaturen einer Nacktmaus, ist es notwendig die WBK radiometrisch zu kalibrieren und Thermogramme quantitativ zu analysieren, um die gemessene Strahlung einer äquivalenten Temperatur zuordnen zu können (Soldan 2014).

5.2. Quantitative Thermogramme

Die quantitative Analyse diente der Ermittlung absoluter Temperaturen in Thermogrammen. Zur Gewinnung reproduzierbarer Messungen ist die Einstellung des korrekten Emissionswertes in der WBK vorausgesetzt (Wolfe und Zissis 1989). Der Emissionswert ist ein Faktor, der materialabhängig die Unterschiede zwischen gemessener Strahlung und berechneter Temperatur korrigiert. In anderen Studien wird für Mäuse ein Emissionswert von 0,95 (Vogel et al. 2016;Gmoser 2018;Franco et al. 2019) oder 0,98 genutzt (David et al. 2013a;David et al. 2013b;Crane et al. 2014;Crane et al. 2015). Der Emissionswert müsste idealerweise für jede Maus individuell bestimmt werden (Villasenor-Mora et al. 2009;Gerß 2014). Die individuelle Bestimmung des Emissionswertes pro Maus ist in der Praxis jedoch nicht realisierbar. In dieser Studie wurde der einheitliche Emissionswert der nackten Haut von 0,98 für alle Messungen verwendet, der auch von anderen Autoren beschrieben wird (Wolfe und Zissis 1989;Klir et al. 1990;Warn et al. 2003;Ring 2006;Villasenor-Mora et al. 2009;David et al. 2013a;David et al. 2013b;Crane et al. 2014;Soerensen et al. 2014).

In den publizierten Studien anderer Autoren sind die Messbereiche zur Analyse der Thermogramme insgesamt unterschiedlich gut nachvollziehbar (Shelton et al. 2006; Harshaw et al. 2014; Calkosinski et al. 2015; Carstens et al. 2016). Manche Autoren verwenden nicht die Strahlungstemperatur von der gesamten Körperoberfläche der Maus, sondern von vordefinierten Sichtfeldern einer standardisierten Größe (Romanovsky et al. 2002; Rudaya et al. 2005; Wang et al. 2006; Garami et al. 2011; Meyer et al. 2017). Aus technischen Gründen ziehen es manche Autoren vor, die Oberflächentemperatur aus der Häufigkeitsverteilung der Werte über das Sichtfeld zu bestimmen, z. B. aus 10% des wärmsten Anteils (Crane et al. 2014) oder rechnen die Thermogrammfläche der Pixel um (Harshaw et al. 2014). Andere Studien nutzen lokale Temperaturen (Regio of Interest). Dabei wird in einer Reihe von Thermogrammen entweder ein Durchschnittswert der Temperaturmaxima oder ein maximaler Temperaturwert bestimmt (Funda et al. 1998; Hofmann et al. 2007; Bollen et al. 2009; Warner et al. 2013; Hoefig et al. 2015; Hoefig et al. 2016; Gachkar et al. 2017; Gmoser 2018; Kasza et al. 2019).

Zur Bestimmung einer korrekten einzelnen irT und Nutzung eines maximalen Wertes zur Auswertung ist die Erstellung eines qualitativ hochwertigen Thermogramms notwendig. Mit bekannter Gegenstandsweite kann die geometrische Auflösung einer WBK berechnet werden (Soldan 2014), welche Rückschlüsse auf die Größe des kleinsten Messfleckes der einzelnen Detektorzelle auf der Objektebene gibt. Ist das wärmste darzustellende Detail des Tieres z.B. der Schwanz oder das Ohr, kleiner als der kleinste Messfleck, wird die restliche Messfläche mit der Strahlung der Umgebung verrechnet bzw. rechnerisch „aufgefüllt“. Ist der Messfleck größer als das Messobjekt, wird auch der kühlere Bereich der Objektumgebung zur Wertbildung vom Detektor herangezogen. Die Größe des kleinsten Messfleckes der Kamera lassen andere Studien (Hoefig et al. 2015; Gmoser 2018) z.T. außer Acht. In Übereinstimmung mit anderen Autoren zeigt diese Studie, dass Mäuse quantitativ mit minderwertigen WBK darstellbar und differenzierte Temperaturbeurteilungen möglich sind (Hoefig et al. 2015; Hoefig et al. 2016; Mufford et al. 2016; Gmoser 2018; Franco et al. 2019).

Die quantitativen Ergebnisse der Käfiggruppe von vier BALB/cAnN - Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen zeigen, dass die Messwerte der Körperflächen linear reagieren. Die Auswertung erfolgte durch die Bestimmung der maximalen irT (irT_{max}), der durchschnittlichen irT und der minimalen irT je Nacktmaus (Figure 1 - 2). Die maximalen irT (irT_{max}) können stellvertretend für die Werte aus den durchschnittlichen irT und der minimalen irT je Nacktmaus verwendet werden. Die quantitativen Ergebnisse der Käfiggruppe von vier BALB/cAnN - Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen zeigen, dass die Strahlungsintensität des höchsten ermittelten maximalen irT (irT_{max}) den Temperaturwert mit der geringsten Fehlerquelle darstellt. Die maximale irT (irT_{max}) aus 10

Thermogrammen sollte bei einer quantitativen Messung als alleiniger Wert genutzt werden (Figure 3 - 6).

Eine Maus mit geringerem Körpergewicht wurde thermografisch auch in der Gruppenhaltung als kühler detektiert (Abbildung 19). Die thermale Kontrolle von Mäusen in Gruppenhaltung mittels WBK stellt sich als geeignete Ergänzung zur Beurteilung des Körpergewichts dar. In dieser Studie zeigt sich, dass die Thermografie geeignet ist leichtere Nacktmäuse in einer Gruppenhaltung zu detektieren. Die quantitative Analyse der 4 BALB/cAnN - Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäuse unterschiedlichen Ernährungszustands bestätigen den energetischen Einfluss auf die Wärmestrahlung. Die Ergebnisse der Studie zeigen den Einfluss des Körpergewichts auf die irT. Die Thermogramme der Käfiggruppe von 4 BALB/cAnN - Foxn1^{nu/nu}/Rj Mäusen mit unterschiedlichem Ernährungszustand zeigen, dass Unterschiede im Körpergewicht quantitativ thermografisch darstellbar sind (Abbildung 19; Figure 2).

Zugunsten der Reproduzierbarkeit und der praktischen Anwendung der Messmethode wurden in dieser Studie keine komplizierteren Analyseverfahren für die Gewinnung der irT genutzt. Der standardisierte Messaufbau ermöglichte ein Sichtfeld der WBK mit einer alleinigen Maus im separaten Käfig. Die Maus hat eine höhere Wärmestrahlung als die kältere Umgebung im separaten Käfig. Daher liefert die Maus den wärmsten thermografischen Messpunkt für die quantitative Analyse des jeweiligen Thermogramms unabhängig von welcher Körperregion dieser stammt. Um valide Vergleichsdaten der thermografischen Methode zu erhalten, wurden Messungen von 50 einzelgehaltenen Rj:NMRI - Foxn1^{nu/nu} Mäuseböcken mittels WBK FLIR E40 angefertigt, die einen Referenzbereich angeben sollten. Die irT der Messungen spiegeln den physiologischen Temperaturbereich von Nacktmäusen wider (Figure 8). Publierte Daten zu den dorsalen/rückenseitigen Hauttemperaturen der Nacktmaus liegen bei $37,2\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ (Funda et al. 1998). Andere Studien ziehen ausschließlich den irT_{max} der Thermogramme zur Analyse heran (Kambiz et al. 2015; Vogel et al. 2016). Die Gegenüberstellung von irT_{max} und MW der Maxima (irT_{max}) der 50 Rj:NMRI - Foxn1^{nu/nu} Mäuse zeigt, dass die absolut ermittelte maximale irT (irT_{max}) den Temperaturwert mit der geringsten Fehlerquelle darstellt. Statt MW der irT_{max} sollte die maximale irT (irT_{max}) aus 10 Thermogrammen bei einer quantitativen Messung als alleiniger Wert genutzt werden (Figure 7). Die hohe Anzahl von Ausreißern und Extremwerten bei den irT - Messwerten der 50 Rj:NMRI- Foxn1^{nu/nu} Mäuse zeigt die Anfälligkeit der Messmethode mit manueller Fokussierung der WBK. Das bedingt die hohe Anzahl an Ausreißern in dem unteren Bereich der irT_{max}, daraus folgt, dass die Methode die irT - Ergebnisse unterschätzt, statt überschätzt. Der ermittelte große irT_{max} - Bereich bei Messungen der 50 Rj:NMRI - Foxn1^{nu/nu} Mäuseböcken zeigt, dass die einzelnen SD darauf schließen lassen, dass die Methode je Einzeltier sehr variable Ergebnisse liefert.

Die 10 Thermogramme der 50 Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäuseböcke haben eine geraume Messzeit in Anspruch genommen. Die Auslastung der WBK FLIR E40 war mit der Kapazität der Speicherkarte erreicht. Die Dauer der manuellen Fokussierung der Mäuse verlängerte sich durch die niedrige Messfrequenz der WBK FLIR E40 von 9Hz. Vergleichend geben andere Autoren eine Messzeit von 15 - 20 Sekunden pro Aufnahme bei einer WBK mit 9 Hz an (Vogel et al. 2016;Gmoser 2018). Das Eigengewicht der WBK verursachte über den Messzeitraum Vibrationen durch die Hand - und Armbewegung des Anwenders. Die Vibrationen, welche bei der handgeführten WBK zu Messungenauigkeiten führen können, werden in aktuelleren Arbeiten anderer Autoren für die Fokuskontrolle vernachlässigt (Vogel et al. 2016;Gmoser 2018).

Die quantitative Thermogrammanalyse der 50 Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäuse zeigt, dass sich die MW von den irT_{max} aus den 10 Thermogrammen, wie die Maxima der irT_{max} verhalten (Figure 7). Bezugnehmend auf diese Erkenntnis ist davon auszugehen, dass der höchste, maximal gemessene Temperaturwert (irT_{max}) aller Thermogramme derjenige ist, der den realen irT Wert am ehesten widerspiegelt. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die maximale irT der korrektere Wert ist und adäquat zu den Messdaten anderer Methoden genutzt werden kann (Vgl. Vogel et al. (2016)). Dies steht dem Vorgehen anderer Studien entgegen, die nicht den absoluten maximalen irT - Wert, sondern den MW der Temperaturen, nutzen (Gmoser 2018).

Einige Autoren sehen die WBK als ungeeignetes Messinstrument für die Temperaturmessung an. Eine praktikable Temperaturmessmethode sollte in der Lage sein, reproduzierbare Werte der Mäuse über einen längeren Zeitraum wiederzugeben. Um die Eignung der Thermografie zur Temperaturmessung darzustellen, wurden mehrfach thermografische Messungen an 20 adulten BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäuseböcken über einen Zeitraum von 4 Wochen gefertigt. Die kleine Anzahl von Ausreißern und das Fehlen von Extremwerten bei 158 irT Messwerten bei den 20 BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäusen zeigt die Anfälligkeit der Methode durch den Anwender mit manueller Fokussierung der WBK. Der ermittelte irT_{max} Bereich der BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäuseböcke zeigt irT - Werte in physiologischen Temperaturbereichen mit annehmbaren SD (Figure 9). Die quantitative Thermografie stellt eine praktische Anwendung dar, berührungslos und nicht invasiv die Temperaturen von Nacktmäusen im physiologischen Bereich reproduzierbar zu messen. Sowohl die thermografischen Messungen der 4 weiblichen BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäuse unterschiedlichen Ernährungszustands als auch die Messung der 50 männlichen Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäuse und die Mehrfachmessungen der 20 BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäuseböcke über einen längeren Zeitraum zeigen die Praktikabilität der WBK. Bezugnehmend auf die Erkenntnis der quantitativen Thermografie ist davon auszugehen, dass der irT_{max} aller Thermogramme als realer irT - Wert genutzt werden

sollte. Die WBK - Technik ist in der Lage reproduzierbare Temperaturdaten im physiologischen Bereich zu generieren.

5.3. Methodenvergleich

Der Methodenvergleich dient zur Prüfung der 3. Hypothese. Diese besagt, dass bei Nacktmäusen die Thermografie, im Vergleich mit bereits etablierten Temperaturmessverfahren, bei gleicher Messgenauigkeit weniger invasiv ist.

Der gewählte Messaufbau der WBK wurde für diese Studie standardisiert. Die Standardisierung sichert eine hohe Qualität der irT und ermöglicht eine Reproduzierbarkeit der irT - Messungen. Der praktikable Messaufbau eignet sich für den routinemäßigen täglichen Einsatz.

Das genutzte WBK - Modell FLIR E40 für die qualitativen und quantitativen Thermogramme dieser Studie, hat eine thermale Auflösung von 160×120 Pixel (19200). Hierbei ergibt sich eine gesamte Messfläche von 18×13 cm, in der technisch der kleinste Messfleck von $3,2 \text{ mm}^2$ erfasst werden kann (geometrische Auflösung $2,72 \text{ mrad}$). Die hohe Größe des Messflecks der WBK E40 verantwortete die minderwertigen irT - Ergebnisse bei Mäusen. Die WBK - Messung mit der FLIR E40 aus mindestens 40 cm Abstand und einer maximalen Aufnahme Frequenz von 9 Hz verhindert, bei manueller Fokussierung frei bewegliche Mäuse korrekt zu messen. Andere Autoren bevorzugen die manuelle Fokussierung (David et al. 2013a; Gmoser 2018; Franco et al. 2019). Die Mäuse könnten durch das Aufstellen auf die Hinterbeine die fokussierte Messebene der WBK verlassen. Daraus resultieren zu tiefe Messergebnisse. Die manuelle Fokussierung müsste der Maus in der Bewegung folgen (Gmoser 2018). Manuelle Fokussierung ist bei Messungen von Käfiggruppen nicht in der Lage alle Mäuse gleichzeitig einzustellen. Zudem ist die Messfrequenz der qualitativ niedrigeren WBK FLIR E40 geringer, wodurch die Bewegungen des Messobjekts höhere Auswirkung auf das Temperaturergebnis hat als bei höheren Frequenzen. Die WBK FLIR E40 misst unbewegte Objekte mit einer Genauigkeit von $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ oder $\pm 2 \%$ im messkalibrierten Bereich (bei Umgebungstemperaturen von $10 \text{ }^\circ\text{C}$ bis $35 \text{ }^\circ\text{C}$). Andere Studien arbeiteten am Nager mit WBK ähnlicher Pixelanzahl (Shelton et al. 2006; Song et al. 2007; David et al. 2013a; David et al. 2013b; Tepper et al. 2013; Calkosinski et al. 2015; Kambiz et al. 2015; Mufford et al. 2016; Gachkar et al. 2017; Gmoser 2018). Einige Studien zeigen, dass auch eine WBK mit einer geringeren Anzahl an Pixeln verwertbare Ergebnisse liefert (Song et al. 2007; David et al. 2013b; Mufford et al. 2016; Vogel et al. 2016; Gachkar et al. 2017). Jedoch ist es nur mit einer hochwertigen WBK möglich akkurate irT - Daten zu erhalten (Hofmann et al. 2007; Nguyen et al. 2010). Für detaillierte und genaue Messaufnahmen darf der Messfleck maximal gleichgroß wie das zu messende Detail sein. Um eine korrekte Messung zu gewährleisten, sollte der

Messfleck mindestens so gewählt werden, dass er höchstens ein Drittel der Größe der kleinsten zu messenden Struktur beträgt (Soldan 2014). So wird das Messobjekt auf drei Pixeln abgebildet und wird auf mindestens einer Detektorzelle vollständig gemessen, wodurch einzelne fehlerhafte Detektorzellen geringeren Einfluss auf das Messergebnis haben (Fouad und Richter 2008). Deshalb kann die thermografisch bestimmte Hauttemperatur nicht überschätzt, sondern nur unterschätzt werden (Fouad und Richter 2008). Fehlerhafte Detektorpixel kommen auch bei sehr guter Fertigung der WBK vor (Soldan 2014). Defekte Detektorpixel zeigen entweder einen fehlerhaften Wert an oder den Messbereichsanfangs- oder -endwert statt einer realen irT . Auf der Detektormatrix kann es bis zu 1 % Funktionsstörungen der Detektorzellen kommen. Um keine weißen Messflecke im Thermogramm zu erhalten, werden Werte fehlerhafter Detektorzellen durch einen Rechenalgorithmus eingefügt, indem die bei der Herstellerkalibrierung identifizierten Pixel den Mittelwert der benachbarten Pixel darstellen (Soldan 2014). Um optimale Ergebnisse zu erzielen, sollte eine WBK eine Genauigkeit von ± 2 % oder besser erreichen.

Für die Evaluierung der Messmethode ist der Abgleich der WBK mit anderen Temperaturmessmethoden in einem validen Methodenvergleich nötig. Einige Autoren sagen, dass die Auflösung der WBK eine Mindestanzahl von 640×480 Pixel zur Messung valider Temperaturen bei der Maus nicht unterschreiten sollte (Klir et al. 1990; Hankenson et al. 2013; Crane et al. 2014; Carstens et al. 2016). Daher war für die Messung eine höhere Pixelanzahl und eine bessere Messgenauigkeit der WBK notwendig. Die hochwertigere WBK FLIR T660 für den Methodenvergleich hat mit 640×480 Messpunkten (307200 Gesamtpixel) und einem minimalen Fokusabstand von 0,25 m (geometrische Auflösung: 0,68 mrad) einen technisch kleinsten Messfleck von $0,83 \text{ mm}^2$. Durch die geringere Größe des Messflecks wurden bei Messungen mit der WBK FLIR T660 hochwertigere irT - Ergebnisse erzielt als bei der Messung mit der WBK FLIR E40. Die WBK FLIR T660 hat eine Messgenauigkeit von ± 1 °C oder ± 1 % im messkalibrierten Bereich. Die maximale Aufnahmefrequenz von 30 Hz ermöglicht der WBK FLIR T660 Aufnahmen von radiometrischen IRV mit stufenloser automatischer Fokussierung.

Die vollautomatische Autofokus - Funktion stellt die irT - Messebene scharf. Die einzelne Maus im separierten Messkäfig wird automatisch fokussiert, wodurch die subjektive Beurteilung durch den Anwender der WBK FLIR T660 umgangen wird. Die Fokusschärfe und damit die Qualität der thermografischen Videos wird nicht manuell vom Bediener und dessen Sehvermögen beeinflusst. Die Nutzung der Autofokuseinstellung zur Anfertigung der Thermogramme dient der Standardisierung der irT - Messung.

Die Thermografie - Technik zeigt im Vergleich eine gute Genauigkeit der Temperaturmessung gegenüber den anderen Methoden (Saegusa und Tabata 2003;Warn et al. 2003). Publierte irT Daten zu den dorsalen bzw. rückenseitigen Hauttemperaturen von Nacktmäusen liegen bei $37,2\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ (Funda et al. 1998). Die veröffentlichten Temperaturdaten werden durch die irT Ergebnisse in dieser Studie bestätigt (Tabelle 1).

Die trainierten Mäuse wurden durch das Angebot an Haferflocken zur Thermografie im Messkäfig ruhig gehalten (Vlach et al. 2000;Vianna und Carrive 2005;Brunell 2012). Die richtige Fokussierung ist für eine korrekte Messung notwendig, denn bei einer falschen Fokussierung wird die Strahlung über den unscharfen Bereich gemittelt und die ermittelten Temperaturen sind zu tief (Soldan 2014). Ein absolutes Maß für die Bildschärfe eines Thermogramms gibt es bei bewegten Messobjekten nicht (Soldan 2014). Es gibt Funktionen die Fokussierung zu optimieren, indem verschieden fokussierte Messungen vom selben Objekt miteinander verglichen werden (Soldan 2014). Solche Funktionen bewerten, wie ausgeprägt die „Kanten“ der Messpunkte im Thermogramm sind, oder betrachten den kleinsten und größten Wert oder die Verteilung im Histogramm (Pieper und Korpel 1983). Probleme treten auf, wenn sich die Objekte im Messszenario bewegen und die Entfernung zur WBK verändern, da sich die Gegenstandsweiten verändern und nicht mehr fokussiert werden (Ray 2002). Ein Training der Mäuse bewirkt, dass diese sich weniger hektisch bewegen und so die Maus für die Thermografie besser fokussiert werden können (Vlach et al. 2000). So wird die Messzeit für die korrekte irT mit trainierten Mäusen verkürzt und die Qualität der irT Messergebnisse verbessert (Refinement).

Andere Studien nutzen für die irT - Messungen einzelne Thermogramme (Shelton et al. 2006;Harshaw et al. 2014;Calkosinski et al. 2015;Carstens et al. 2016;Vogel et al. 2016;Gmoser 2018). In dieser Studie wurde eine Mindestanzahl von 8 bis 10 qualitativen Thermogrammen pro Analyse einer Nacktmaus als notwendig erachtet, um reproduzierbare valide Daten mit der WBK zu ermitteln und die Methode interpretationsfähig zu gestalten. Für die irT des Messmethodenvergleichs wurde in dieser Studie ein 10 Sekunden langes radiometrisches IRV erstellt. Die Aufnahme von 10 Sekunden mit einer Frequenz von 30 Hz der WBK FLIR T660 entspricht eine Anzahl an 300 irT der Thermogramme pro Video. Die Videomessung sorgt für eine hohe Wahrscheinlichkeit an richtigen irT - Werten, von denen der irT_{max} - Wert zur Analyse genutzt wird (Vogel et al. 2016). Die Autofokus - Funktion der WBK FLIR T660 verlangt nach der Nutzung eines Stativs, um Mikrovibrationen der Hand des Anwenders zu vermeiden. Das Stativ ermöglicht die Einhaltung eines konstanten Abstands zum Messobjekt (David et al. 2013a;Gaskill et al. 2013;Crane et al. 2014;Crane et al. 2015). Der konstante Abstand zum separaten Käfig erlaubte die Einstellung der einzelnen Maus im Sichtfeld der WBK (Gaskill et al. 2013;Mufford et al. 2016). Die Verwendung eines Stativs

ermöglicht definierte Messabläufe (Carter et al. 2011;David et al. 2013b;Gaskill et al. 2013;Crane et al. 2014;Harshaw et al. 2014;Carstens et al. 2016) und unterstützt die Vorteile der verwendeten Autofokus - Funktion. Eine automatische Fokussierung ist aufgrund des notwendigen Kontrastes bzw. eines minimalen Temperaturunterschieds in einigen Anwendungsgebieten umstritten (Zimmermann und Zimmermann 2012;Soldan 2014). Die Verwendung eines Stativs erlaubt die Fokussierung der Maus in der Ebene der thermografischen Messung. Die maximale Aufnahmefrequenz der WBK FLIR T660 ermöglicht radiometrische autofokussierte Videoaufnahmen, selbst bei bewegten Mäusen.

Es sollte untersucht werden, ob die nicht invasive Messung mittels WBK im Vergleich mit bereits etablierten Temperaturmessverfahren eine gleiche Messgenauigkeit bei Nacktmäusen erreichen kann. Die anderen üblichen Temperaturmessverfahren sind invasiv und stellen bei der Anwendung in der Maus bereits für sich eine Belastung dar. Die Methode der WBK Messung soll im Vergleich zu den üblicherweise angewendeten Temperaturmessverfahren (rT, scT und ipT) bei der Nacktmaus valide sein. Die Ergebnisse der Methodenetablierung zeigen, dass die WBK FLIR T660 geeignet ist, die in der Literatur publizierten physiologischen Körpertemperaturen von erwachsenen männlichen Nacktmäusen im Ruhezustand von 37,0 °C bis 37,2 °C darzustellen (Jacoby et al. 2002).

Andere Studien verwenden die rT - Messung als Standard für die innere Körpertemperatur (Cates et al. 2014). Obgleich die rT anfällig für Umwelt- und Verfahrensvariationen ist, weil diese von der Temperatur des fließenden Blutes der hinteren Extremitäten beeinflusst wird, entspricht die rT am ehestens der Körperkerntemperatur, wenn die Peripherie warm ist.

Die rT - Messung wurde in dieser Vergleichsstudie den anderen Messmethoden gegenübergestellt. Die rT Messung ist auf die Fixation der Tiere angewiesen. Die Fixation stellt für sich eine Belastung für die Nacktmäuse dar (Clement et al. 1989). Die Dauer der rT Messungen hängt dabei von der Reaktionsgeschwindigkeit der Rektalsonde ab. Die rT Sonden sollten eine eigene Kontrollfunktion, die mehrere stabile Werte mittelt, besitzen, um einen richtigen Temperaturwert zu erhalten. Ein zu schnell abgelesener rektaler Messwert unterschätzt die tatsächliche Temperatur (Meyer et al. 2017). Ein zu langes Warten bei der rT - Messung kann einen Anstieg der Körpertemperatur, innerhalb von Sekunden als Stressantwort, nach sich ziehen (Clement et al. 1989;Kalliokoski et al. 2013;Hershey et al. 2014;Meyer et al. 2017). Ein akuter stressinduzierter Anstieg der Körpertemperatur kann durch Training der Mäuse umgangen werden (Garami et al. 2011). Nagetiere sind leicht an eine Fixierung zu gewöhnen, so dass sie bei gewohntem Handling weder Stresshyperthermie (Zethof et al. 1994;Romanovsky et al. 1998) noch andere Anzeichen von Stress zeigen (Hashimoto et al. 1988;Stamp und Herbert 1999).

Messunterschiede können auch in Abhängigkeit von der jeweiligen Einführtiefe der Rektalsonde auftreten. Willershäuser et al. (2012) gehen von einer Standardabweichung von 0,4 °C und einer Insertionstiefe von 2 cm für Inzucht - Mäuse aus (Willershäuser et al. 2012), was bei einer moderaten Differenz von 0,5 °C der Rektaltemperatur die Verwendung von mindestens 12 Tieren pro Gruppe erfordern würde (Meyer et al. 2017). Eine entscheidende Einschränkung bei der rT - Messung ist neben der Fixation des Tieres die Einzelmessung zu einem bestimmten Zeitpunkt (Gmoser 2018). Die Nutzung punktuell gemessener rT vernachlässigt die thermalen zirkadianen Rhythmen der Mäuse und ignoriert, dass die Körpertemperatur durch Änderungen in der Umgebung beeinflusst wird (Keeney et al. 2001;Basso et al. 2016). Eine kontinuierliche Messung der Körpertemperatur ist aussagekräftiger, um periodische Änderungen aufzudecken und diese in den physiologischen Kontext zusetzen (Meyer et al. 2017). Frequentierte Messwiederholungen im Rektum können zu Abschürfungen und Läsionen der Darmwand führen. Es besteht das Risiko einer Infektion durch Rektumperforation mit der Rektalsonde, welche lebensbedrohliche bakterielle Infektionen verursachen kann (Clement 1993;Newsom et al. 2004;Cates et al. 2014). In dieser Studie wurde die Rektalsonde nach der Messung jeder Maus auf das Vorhandensein von Blutspuren kontrolliert. Wurden geringste Spuren von Blut nach einer rektalen Messung entdeckt, wurde aus Gründen des Tierschutzes auf die folgende rT - Messung bei diesem Tier verzichtet. Trotz Vorkehrungen die potenzielle Schädigung zu verhindern, indem die für Mäuse geeignete Rektalsonde vor der Nutzung eingölt wurde, war die rT - Messtechnik für das Tier invasiv. Daher liegen bei der rT - Messmethode im Vergleich zu den anderen Methoden (TR, WBK, DL) weniger Datenpunkte vor (Tabelle 2). Klinische Anzeichen von Schädigungen der Mäuse in Form von Durchfall, Infektionen oder Gewichtsverlust, verursacht durch die wiederholte Nutzung der rektalen Sonde, wurden in dieser Studie aber nicht festgestellt.

Die rT - Daten dieser Studie liegen innerhalb einer großen Temperaturspanne. Die Varianzen zwischen den einzelnen Mäusen (intraindividuelle Schwankungen) waren bei der rektalen Messung groß (Tabelle 2). Die interindividuellen Schwankungen der rT - Daten waren nicht so groß (Tabelle 2). Dieser Fakt könnte ein Indikator für eine Fehlerquelle der rT - Messung sein. Ein erwarteter Effekt der Einzelmaus konnte bei der Rektalmessung nicht gezeigt werden.

In dieser Studie verursacht die Messung der rT die größte Anzahl an Ausreißern (Figure 10). Ein Stress bedingter Anstieg der rT durch das Handling der Maus konnte nicht festgestellt werden.

Die frequentierten rT - Messungen dieser Studie waren notwendig, um Messungen zum gleichen Zeitpunkt zu haben, die einen aussagekräftigen Vergleich mit den anderen Messmethoden ermöglichen. Die zu vergleichenden Messmethoden (scT, irT, rT) wurden

ohne zeitlichen Versatz erstellt. Die Temperaturmessungen pro Tier wurden nahezu zu einem Zeitpunkt gefertigt. Der Anstieg der Temperatur im Tier, der physiologisch zu erwarten wäre, konnte im Vergleich der rT zur irT nicht gezeigt werden (Figure 11). Die rT und irT steigen nicht zusammenhängend an. Die rT korrespondieren nicht mit den irT . Der Einfluss des KGW war bei der irT nicht gleich signifikant wie bei der rT . In dieser Studie stellt sich übereinstimmend mit anderen Autoren die Temperaturmessung mittels Rektalsonde nicht als geeignetes Standardverfahren zur Temperaturmessung bei der Maus dar (Clement et al. 1989; Stephens Devalle 2005; Cates et al. 2014).

Temperaturmessmethoden mit einem TR sind nach der subkutanen Implantation im Tier einfach auszulesen. Die Verwendung des s.c. TR bietet zusätzlich eine Möglichkeit zur Identifikation der Maus (Klir et al. 1990; Kort et al. 1998; Chen und White 2006; Brunell 2012; Caro et al. 2013). Bei der TR - Messung sollte die Häufigkeit der Tierhandhabung beachtet werden (Vlach et al. 2000; Vianna und Carrive 2005; Hankenson et al. 2013). Die Messung der thermosensitiven TR erfolgt durch die vom Scanner abgegebene Energie. Die Energie lädt den implantierten TR energetisch auf. Der TR gibt dann ein Signal ab, welches von der Antenne des Readers empfangen wird. Das Tier muss also in der Reichweite der Ableseeinheit gehalten werden, bis das Signal eingeht. Ein stressbedingter Anstieg der scT durch das Handling der Maus konnte, wie bei der rT - Messung, nicht festgestellt werden. Aber die scT spiegelt nicht zwangsläufig die im Ruhezustand bestehende Körpertemperatur wider (Clement et al. 1989; Newsom et al. 2004). Die Art des TR Sensors, die experimentellen Bedingungen, die Position der Sonde bei der Implantation und die Häufigkeit der Messung bestimmen den biologischen Wert der Ergebnisse (Meyer et al. 2017). TR - induzierte Sarkombildungen sind bei Mäusen als Risiko beschrieben (Blanchard et al. 1999). Die durch einen temperatursensitiven TR bestimmte scT liegt nahe der Temperatur der Haut (Romanovsky 2014). Einige Autoren sehen die Temperaturmessung mittels TR, als wenig invasive Technik an, die einfach zu implantieren ist (Kort et al. 1998; Vlach et al. 2000; Wacker et al. 2012; Langer und Fietz 2014). Ein entscheidender Nachteil bei der Anwendung der TR ist die notwendige Implantation. In einigen Studien wurde die Implantation der TR ohne Narkose durchgeführt, da diese vom Hersteller nicht zwingend notwendig erachtet wird (Harper und Batzli 1996; Vlach et al. 2000; Gibbons und Andrews 2004; Caro et al. 2013; Langer und Fietz 2014). Andere Autoren sehen eine Anästhesie für die Implantation eines subkutanen TR als erforderlich an, um eine gute Implantation zu gewährleisten und die Tiere vor Stress und Schmerz zu bewahren (Kort et al. 1998; Hartinger et al. 2003; Brunell 2012; Wacker et al. 2012). Der chirurgische Eingriff der Implantation (mit oder ohne Narkose) stellt eine Belastung für die Maus dar (Kort et al. 1998; Brunell 2012; Tepper et al. 2013). Jeder Eingriff bringt ein zusätzliches Risiko für Infektionen (Newsom et al. 2004; Brunell 2012; Caro et al. 2013).

Die Temperaturangaben von gesunden, klinisch unauffälligen Mäusen, wie sie für diese Studie genutzt wurden, können richtwertig sein. Im Vergleich zu den rT Messungen sind die einzelnen (Maus - individuellen) Standardabweichungen, die scT der TR, bei der Einzeltiermessung sehr klein. Die kleinen intraindividuellen Standardabweichungen waren bei einem im Tier implantierten System zu erwarten. Die Nutzung von TR ist durch zahlreiche Studien mit hohen TR - Verlustraten und TR - Funktionsausfällen diskutiert (Kern 1997;Quimby et al. 2009;Sonnenberg 2011;Brunell 2012). Wissenschaftler aus dem Bereich der Versuchsnager erwähnen technische Probleme mit der TR (Chen und White 2006;Sorensen 2015). Hunter et al. (2014) veröffentlichten TR - Ausfälle bei Mäusen, wonach TR in den ersten Tagen nach der Implantation fehlten (Hunter et al. 2014). Zudem wurden in anderen Studien TR - Temperaturdaten über 40 °C und unter 33 °C nicht als Ausreißer Werte dokumentiert (Hunter et al. 2014). Einige Autoren dokumentieren Datenausfälle und Migrationsprobleme der Sender, die Auswirkungen auf die Tierversuchszahl und die Datenanalyse haben (Chen und White 2006;Sorensen 2015).

Die zwei der zehn verwendeten TR (Maus # 6 & # 8) dieser Studie im Temperaturbereich lagen deutlich über den der anderen TR - Messlevel (Figure 10). Die Werte beider TR bilden systematisch einen falschen Temperaturbereich ab, sodass die TR - Werte (Maus # 6 & # 8) nicht als Ausreißer identifiziert wurden, wie die anderen Studien praktizieren (Warn et al. 2003;Newsom et al. 2004;Vianna und Carrive 2005;Chen und White 2006;Trammell und Toth 2011;Brunell 2012;Caro et al. 2013). Die wahrscheinlich nicht korrekten scT der zwei TR (Maus # 6 & # 8) lassen sich nicht durch die Herstellerangaben im Rahmen der Temperaturgenauigkeit von 1.0 °C erklären.

Die gesamtheitliche Standardabweichung der scT aller Mäuse dieser Studie ist sehr groß (Tabelle 2). Die gemessene Temperaturspanne der subkutanen TR war mit 7,1 °C die größte Temperaturspanne unter den genutzten Messmethoden (Tabelle 2). Auch wenn die Körperschale der Regulation der Kerntemperatur dient, bleibt fraglich, ob die Temperaturschwankungen der TR bei nahezu konstanten Raumtemperaturen eine methodische Fehlfunktion des Messsystems sind. Alternativ sollte daher eine Nutzung von temperaturkalibrierten TR im Experiment bevorzugt werden, um diese fehlerhaften Effekte von vornherein auszuschließen (Trammell und Toth 2011;Brunell 2012;Caro et al. 2013). Zudem ist einer aus Studien erwähnten hohen Ausfallrate der TR, entweder durch Migration oder mittels erhöhter hygienischer bzw. technischer Zusatzmaßnahmen, entgegen zu treten. Da die TR in einer Umverpackung aus Pappe zu 100 Stück vom Hersteller begast angeliefert werden und eine einzelne keimdichte sterile Mindestverpackung entsprechend dem deutschen Medizinproduktegesetz für die einzelnen Applikatoren mit den zu implantierten TR nicht

vorhanden ist, ist eine erhöhte hygienische Überwachung angezeigt (Deutsches Medizinproduktegesetz = nationale Umsetzung der europäischen Richtlinien 90/385/EWG).

Ein Vergleich zwischen erhobenen scT und irT zeigt einen Temperaturanstieg in physiologischen Temperaturgrenzen an. Die beiden Methoden (WBK und TR) im Vergleich zeigen eine geringe mittlere Differenz, aber ein großes Konfidenzintervall. Bei der Verwendung von implantierten Systemen sollte bei der Interpretation zusätzlich die Körperregion des implantierten Temperatursystems beachtet werden (Klir et al. 1990; Newsom et al. 2004; Stephens Devalle 2005; Brunell 2012). Zwischen den verschiedenen Körperregionen bestehen Temperaturunterschiede (Funda et al. 1998; Saegusa und Tabata 2003; Vianna und Carrive 2005; Ring und Ammer 2012).

TR werden in einigen Mausstudien in der Nähe des interskapulären braunen Fettgewebes (BAT - Depots) implantiert (Bal et al. 2012; Gerhart-Hines et al. 2013; Lateef et al. 2014) (Muller et al., 2013). Um den Einfluss des BAT zu kontrollieren, kann durch den Einsatz von Implantaten ein Index zur Bewertung der Wärmeproduktion verwendet werden, der eine Unterscheidung zwischen BAT Temperatur und Körperkerntemperatur bezeichnet (Almeida et al. 2012; Mohammed et al. 2014; Su et al. 2016; Zhang et al. 2016b). Solchen Anwendungen ist angesichts der Transpondergröße im Verhältnis zum BAT - Umfang skeptisch gegenüberzutreten (Meyer et al. 2017). Die Größenverhältnisse zwischen implantiertem Fremdkörper und dem Körpergewicht bzw. der Körpergröße der Maus sind von Bedeutung (Leon et al. 2004; Gaskill et al. 2013). Zudem unterliegen die Körpertemperaturen tageszeitlichen Schwankungen und anderen äußeren Faktoren. Wird zu unterschiedlichen Zeiten gemessen, ergeben sich verschieden große Amplituden der täglichen Schwankungen der Körpertemperatur (Levesque et al. 2016). In anderen Studien wird durch die Untersuchung der Temperaturdaten ein Tag - Nacht - Rhythmus dargestellt (Keeney et al. 2001; Williamson et al. 2007). Auch der murine Torpor, welcher in den frühen Morgenstunden auftritt, soll im Prinzip durch rektale Sondierung diagnostizierbar sein (Meyer et al. 2017). Diskussionen der Bedeutung von ultradianen Rhythmen in der Thermogenese gehen über den Rahmen dieser Arbeit hinaus. In dieser Studie sollte der Verlauf der Körpertemperatur der Tiere mittels kontinuierlicher Messung der Datenlogger dargestellt werden.

Das DL - Messsystem zeichnete kontinuierlich (jede Minute) die ipT auf, um die ultradianen Fluktuationen und die zeitliche Assoziation der Körpertemperatur in physiologischen Reaktionen zu zeigen. Der Vergleich in dieser Studie betrachtet daher nicht den circadianen Rhythmus oder andere physiologische Faktoren, wie die körperliche Aktivität (Refinetti und Menaker 1992; Decoursey et al. 1998; Ootsuka et al. 2009). Die Veränderungen der Körpertemperatur während des Handlings sollten durch ipT des DL widergespiegelt werden

(Clement et al. 1989; Vlach et al. 2000; Hankenson et al. 2013; Cates et al. 2014). Der stressbedingte Temperaturanstieg während der anderen Messungen (scT, irT, rT) sollte mittels DL dargestellt werden (Arata et al. 2016). In diesem Zusammenhang empfehlen Meyer et al. (2017) und Blessing und Ootsuka (2016), dass die einzelnen Aufzeichnungen routinemäßig untersucht werden, bevor die Ergebnisse gemittelt werden. Die verwendete Software der DL nutzt jedoch Überabtastung (Oversampling) und Mittelwertbildung/Durchschnittsberechnung, um die Auflösung der Messdaten zu erhöhen. Die berechneten ipT der Datenloggersoftware scheinen unphysiologisch tief zu sein (Vianna und Carrive 2005; Brunell 2012; Su et al. 2016; Zhang et al. 2016a) (Figure 10). Diese Berechnung führt zur gleichmäßigen Verteilung der Werte (Tabelle 1), welche eine Verwischung des Temperaturanstiegs innerhalb der physiologischen Grenzen in der Maus mit sich bringt (Figure 15). Das System der DL konnte in den ipT keine Temperaturerhöhungen im Tier widerspiegeln. Einen durch das Handling (scT, irT, rT) bedingter Einfluss auf die Temperaturwerte konnte im Rahmen der DL - Auswertung nicht dargestellt werden. Die abgeleiteten intraperitonealen Temperaturwerte lassen sich nur bedingt mit den anderen Temperaturdaten (scT, irT, rT) vergleichen. Die kalkulierten ipT liegen nicht im physiologischen bT Bereich der Maus. Eine Problematik der DL Messmethode zeigt sich in der hohen Anzahl an Ausreißern im unteren Temperaturbereich. Das Messsystem der DL war mit den meisten Ausreißern behaftet. Trotz hoher angegebener Messgenauigkeit der DL untereinander, produzierten die DL als einzige Methode im Messmethodenvergleich einen Extremwert (Figure 10). Die verwendeten DL scheinen nicht valide für die Anwendung im biologischen System zu sein. Die ipT der DL zeigen bei der Einzeltierbetrachtung eine mittlere Standardabweichung. Die SD des DL von Maus # 1 im Messmethodenvergleich war so groß, dass aus dieser eine größere SD für die gesamten Tiere resultierte. Zudem ist ein entscheidender Nachteil bei der Anwendung der DL die notwendige intraperitoneale Implantation (Johnston et al. 2007). Der im Rahmen dieser Studie vorgenommene chirurgische Eingriff zur Implantation umfasste eine Inzision der Haut für den s.c. TR und eine Öffnung der Peritonealhöhle für den DL, wonach eine Erholungsphase für die Tiere zwingend erforderlich war, da Temperaturabsenkung nach Laparotomie beschrieben wird (Leon et al. 2004). Bei den in dieser Studie verwendeten ausgewachsenen männlichen Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäusen verliefen die chirurgischen Eingriffe komplikationslos. Dennoch entfallen, diese zusätzlichen belastenden Faktoren bei der Nutzung der Infrarottechnik (Warn et al. 2003; Newsom et al. 2004; Chen und White 2006). Die Maus ist im Vergleich zu nicht invasiven Temperaturmessmethoden durch den DL zusätzlich belastet. Der invasive Eingriff der Implantation benötigt eine Schmerzbehandlung. Es ist eine postoperative Beobachtungszeit und eine entsprechende Erholungsphase für das Tier notwendig.

Außerdem sollte das Verhältnis zwischen Tierkörpergröße und zu implantierendem Fremdkörper, ob TR oder DL, beachtet werden. Insbesondere bei kleineren Mauslinien besteht die Gefahr für Komplikationen durch das eingebrachte Fremdmaterial (Leon et al. 2004). Derartige Komplikationen sind im Rahmen dieser Studie nicht aufgetreten, könnten aber mit zusätzlichen Einschränkungen für das Tier verbunden sein (Dahlborn et al. 2013).

Die DL wurden nicht in der Bauchhöhle fixiert. Die frei beweglichen DL konnten ihre Position ändern. Für Tiere besteht bei der Anwendung der freibeweglichen DL ein erhöhtes Risiko. Unter den Versuchsbedingungen dieser Studie stellt die WBK FLIR T 660 im Vergleich zur Rektalsonde oder zum TR und zum DL eine weniger belastende Temperaturmessmethode bei Nacktmäusen dar. Ein Nachteil der DL ist die ausschließliche retrograde Auswertung. Die retrograde Auslesung der DL erlaubt keine Kenntnis über die aktuelle ipT des Tieres. Die Technik des DL kann keinen aktuellen Rückschluss auf die Tiergesundheit geben. Zudem ist eine Explantation aus dem Tier notwendig, um die DL zur Datensicherung zu erhalten. Stellt man die verwendeten DL der Thermografie zur Gewinnung von Temperaturdaten gegenüber, dann ist die Belastung für die Tiere bei der Nutzung des DL unverhältnismäßig groß.

Die nicht invasive Messmethode der irT - Technik umgeht viele der genannten Belastungen der anderen Messmethoden. Die irT ist berührungsfrei und benötigt keine Fixation des Tieres, obgleich einige Autoren in ihren Studien die Mäuse zur thermografischen Messung fixieren (Carter et al. 2011;Tepper et al. 2013). Thermografie benötigt keinen chirurgischen Eingriff. Die herausragende Überlegenheit der berührungsfreien Thermografie im Vergleich zu den anderen Temperaturmessmethoden (TR, RT, DL) liegt in der geringen Invasivität und geringen Belastung der Tiere bei gleicher Validität der Messdaten. Die Infrarotmessung stellt eine geeignete nicht invasive Temperaturmessmethode dar.

Die rT (Brunell 2012) und der i.p. DL (Zhang et al. 2016a) stellen die physiologischen Schwankungen der Körpertemperatur auch in dieser Studie weniger gut dar (Figure 10). Der Methodenvergleich wurde an gesunden Tieren durchgeführt und betrachtete nur gesunde erwachsene Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäuse, welche eine der meist genutzten Mäuselinien in der onkologischen Forschung sind. Im Rahmen des Methodenvergleichs wurden bereits beschriebene Unterschiede des Geschlechts (Wither et al. 2012;Gaskill et al. 2013) oder der Genetik (Saegusa und Tabata 2003;Gaskill et al. 2013) nicht untersucht. Zur Einführung der berührungslosen irT - Messung als Standardmethode sollten weitere Untersuchungen zur Validierung an Mäusen mit Fell durchgeführt werden (Funda et al. 1998;Vianna und Carrive 2005). Geschlechtsunterschiede, unterschiedliche Genetik und Alter der Tiere sollten in Folgestudien ebenso berücksichtigt werden. Die berührungslose oberflächliche irT - Messung ist, verglichen mit den üblichen Temperaturmessmethoden, für das Tier schonender. Die irT -

Messtechnik ist in Abwägung der möglichen Komplikationen gegenüber den anderen Meßmethoden hoch überlegen und stellt ein angewendetes Refinement für die Maus dar. Die Wärmebildtechnik ist in der Lage kontaktlos über die Infrarotstrahlung Auskünfte über die gesundheitliche Verfassung der Maus zuzulassen. Der Gesundheitszustand der Maus spiegelt sich in der Wärmestrahlung wider. Einige Krankheitsbilder führen nachweislich zu Hyper- bzw. Hypothermie (Vlach et al. 2000; Bast et al. 2004; Molins et al. 2012; Adamson et al. 2013), welche auch mittels Wärmebild ersichtlich sein sollte.

Neben dem Methodenvergleich von Temperaturmessverfahren, sollte in dieser Studie auch der enge Zusammenhang zwischen Temperaturschwankungen der Nacktmaus im physiologischen Grenzen und den gemessenen Temperaturen wiedergeben werden können. Der Vergleich zwischen den Temperaturdaten die mittels WBK und s.c. TR gemessen wurden, zeigen die Temperaturschwankungen innerhalb der physiologischen Bereiche (Figure 10) (Chen und White 2006). Weitere Folgestudien mit erkrankten Mäusen könnte zur Erkennung von frühzeitigen Endpunkten führen und sollte in Kombination mit anderen Versuchsreihen stattfinden. Der Vorteil der Messung von Temperaturen mittels nicht invasiver WBK ist die Erfassung von direkten Temperaturen unter Standardbedingungen in der Versuchstierhaltung bzw. experimentellen Studien (Tepper und Gannot 2015). Die WBK ist ein schnelles, stressfreies Messwerkzeug. Für die irT Messung sind keine chirurgischen Eingriffe und kein Einbringen von Fremdmaterial in die Maus notwendig. Die WBK liefert vergleichbar valide Temperaturmessergebnisse wie der TR oder die RT.

Die rT - Werte sind vorsichtig zu interpretieren. Die Fixation der Maus und die Durchführung der rT Messung stellt eine Belastung dar, obgleich Gmosers - Studie mit einer stündlichen Fixationen der Mäuse zur irT - Messung keinen thermalen Handling - Effekt nachweisen konnte (Gmoser 2018). Eine häufige Wiederholung der rT Messung kann zu Komplikationen und damit einhergehenden Messausfällen führen. Die entstehenden Einzeltiereffekte sollten bei der Fehlerbetrachtung der rT berücksichtigt werden. Dies ist ebenso bei TR, die implantiert werden müssen und weiteres Handling des Tieres zur Messung benötigen. Es wird im Experiment die Nutzung von temperaturkalibrierten TR empfohlen, um die Einzelausfälle von TR besser kontrollieren zu können.

Die DL haben den Vorteil der kontinuierlichen Temperaturmessung. DL können aber nur retrograd ausgelesen werden. In dieser tierexperimentellen Studie waren die von der DL - Software berechneten ipT für die Fragestellung nicht geeignet. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die WBK geeignet ist, die in der Literatur angegebenen physiologischen dorsalen Temperaturen von $37,2\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ (Funda et al. 1998) in gesunden erwachsenen männlichen Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäusen darzustellen. Die Messungen der WBK dieser Arbeit zeigen eine

gleichmäßige Verteilung der Temperaturdaten. Die irT haben eine geringe Standardabweichung zu den verglichenen Methoden (Tabelle 2). Die WBK produzierte, verglichen mit anderen Messsystemen, eine geringe Anzahl an Ausreißern.

Die vorliegende Studie zeigt, dass die nicht invasive Thermografie geeignet ist, valide, reproduzierbare Temperaturwerte in der Nacktmaus zu ermitteln. Der Vorteil für die praktische Anwendung ist, dass die nichtinvasive Thermografie als diagnostisches Werkzeug genutzt werden kann.

Die Ergebnisse zeigen, dass die WBK ebenso genau ist wie die rektale und die subkutane Temperaturmessmethode. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass infrarot Technik geeignet ist, die Körpertemperatur von Nacktmäusen zu messen und ebenso valide wie die rektale und subkutane Temperaturmessung ist. Die WBK ist viel schonender für die Maus und stellt im Sinne der 3R ein angewendetes Refinement dar. Darüber hinaus bietet sich die WBK zur Routinekontrolle bei Nacktmäusen an. In weiteren Studien sollte untersucht werden, ob die WBK in experimentellen Mausmodellen mit befallten Mäusen, mit weiblichen Mäusen und mit Tieren in Gruppenhaltung ebenso valide Ergebnisse liefert.

Die Thermografie ist bei Nacktmäusen im Vergleich mit bereits etablierten Temperaturmessverfahren, bei gleicher Messgenauigkeit nicht invasiv. Die Messwerterfassung mittels WBK als nicht invasives Verfahren stellt eine bemerkenswerte Verbesserung gegenüber allen anderen Messmethoden dar, weil diese mit vergleichbarer Messgenauigkeit keinen invasiven Eingriff am Tier erfordert. Die drei anderen genutzten Methoden stellen allein aufgrund ihrer invasiven Natur (intraperitoneal, subkutan, rektal) bei der Anwendung eine Belastung für das Tier da, die bei der Wärmebildmessung entfällt. Im Rahmen von tierexperimentellen Tätigkeiten können mit der Thermografie im Sinne des 3R - Prinzips nicht manipulativ Temperaturen an der Nacktmaus gemessen und somit andere invasive Verfahren ersetzt werden.

6. Zusammenfassung

„Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera, als Refinement an adulten Nacktmäusen“

Etablierte Methoden zur Erfassung der Körpertemperatur sind invasiv, wodurch diese ein Maß an Belastung und Stress für Mäuse verursachen. Vor diesem Hintergrund wurde die nicht invasive Thermografie, als angewendetes Refinement mit etablierten, invasiveren Temperaturmessverfahren an Nacktmäusen verglichen.

In dieser Studie zeigten die qualitative Thermografie von einzelnen Nacktmäusen und von Mäusen in der Gruppe, dass die Methode geeignet ist, die abgestrahlte thermische Energie (Wärmestrahlung) zu messen und physiologische Zustände zu detektieren. Eine akkurate Identifikation aller Mäuse per Wärmebildkamera ist bei größeren Käfiggruppen und mehreren Thermogrammen trotz zusätzlicher digitaler Bildgebung jedoch nicht praktikabel.

Die qualitativen Thermogramme der Mäuse in der Gruppe sind geeignet einzelne auffällige Mäuse einer Käfiggruppe wiederholt im Thermogramm zu detektieren. Die abgestrahlte thermische Energie von Nacktmäusen in der Gruppe kann im qualitativen Thermogramm mittels Wärmebildkamera FLIR E40 visualisiert werden.

Die quantitative Thermografie stellt eine praktische Anwendung dar, um berührungslos und nicht invasiv, die Temperaturen von Nacktmäusen im physiologischen Bereich reproduzierbar zu messen. Die vorliegende Studie ergab, dass ein Temperaturwert aus einer minimalen Anzahl von 10 Thermogrammen bei der quantitativen Methode genutzt werden sollte. Bezugnehmend auf den Erkenntnissen der quantitativen Thermografie ist davon auszugehen, dass thermografisch gemessene Hauttemperaturen nicht überschätzen werden. Daraus resultiert, dass der höchste, maximal gemessene Temperaturwert (irT_{max}) aller Thermogramme derjenige Wert ist, der den realen irT -Wert am besten widerspiegelt. Die Studienergebnisse zeigen, dass die höchste irT_{max} aus allen Thermogrammen bei einer quantitativen Messung als Temperaturwert genutzt werden sollte, statt eines Mittelwertes der Temperaturen oder eines Mittelwertes der maximalen irT (irT_{max}).

Sowohl die thermografischen Messungen der 4 weiblichen BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäuse unterschiedlichen Ernährungszustands, als auch die Messung der 50 männlichen Rj:NMRI - *Foxn1^{nu/nu}* Mäuse und die Mehrfachmessungen der 20 BALB/cAnN - *Foxn1^{nu/nu}/Rj* Mäuseböcke über einen längeren Zeitraum zeigen die Praktikabilität der Wärmebildkamera.

Die für alle quantitativen Thermogramme verwendete Wärmebildkamera des Modells FLIR E40 hat eine höhere Messfleckgröße und eine geringere Kameraauflösung und -qualität, verglichen mit den momentanen technischen Möglichkeiten. Für den Vergleich der verschiedenen Temperaturmessmethoden wurde die Wärmebildkamera des Modells FLIR T660 genutzt. Eine geringere Größe des Messflecks ermöglichte es, mit der WBK FLIR T660 hochwertigere irT - Ergebnisse zu erhalten als bei der Messung mit dem Modell FLIR E40. Eine automatische Fokussierung ist auf Grund des notwendigen Kontrastes in Form eines minimalen Temperaturunterschiedes in einigen Anwendungsgebieten allerdings umstritten. In dieser Studie zeigt sich, dass die Autofokusfunktion des Modells FLIR T660 die Nutzung eines Stativs bedingt, um Mikrovibrationen der Hand des Anwenders zu vermeiden und hochwertige Temperaturergebnisse zu erhalten. Nur die Verwendung eines Stativs ermöglicht die Fokussierung einer Nacktmaus in einer konstanten Ebene zur thermografischen Messung. Wobei einzig die hohe Aufnahmefrequenz des Modells FLIR T660 radiometrische autofokussierte Videoaufnahmen selbst bei bewegten Mäusen ermöglicht.

In dieser Studie wurde die Anwendung der Wärmebildkamera mit invasiveren Methoden, wie einer rektalen Sonde, einem subkutan implantieren Transponder und einen intraperitoneal implantierten Datenlogger gegenübergestellt. Die Wärmebildkamera ist ein stressfreies Messwerkzeug, sodass kein chirurgischer Eingriff und kein Einbringen von Fremdmaterial in die Maus notwendig sind. Rektal mit der Sonde model 5885, Precision Digital Thermometer with PRT [platinum resistance thermometer] (H Tinsley, New Addington, United Kingdom) erhobene Temperaturwerte sollten vorsichtig interpretiert werden, da die Durchführung zu Komplikationen führen kann und die entstehenden Einzeltiereffekte bei der Fehlerbetrachtung berücksichtigt werden müssen. Die Transponder-Messungen mit den IPTT-100 (Bio Medic Data Systems, Seaford, DE) haben zusätzlich den Vorteil der Möglichkeit einer Identifizierung der Maus. Wobei diese Studie zeigt, dass im Experiment die Nutzung von temperaturkalibrierten Transpondern zu empfehlen ist. Die Datenlogger, DST Nano-T Temperature Recorder (Starr Oddi, Gardabaer, Iceland) haben zwar den Vorteil der kontinuierlichen Temperaturmessung, aber in dieser tierexperimentellen Studie, waren die von der Software berechneten, registrierten intraperitoneal gemessenen Temperaturen für die Fragestellung nicht verwendbar.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Wärmebildkamera ebenso genau ist wie die rektale und die subkutane Temperaturmessmethode. Die Studie zeigt, dass die infrarot gemessene Temperatur geeignet ist, die Temperatur von Nacktmäusen widerzuspiegeln und ebenso valide ist wie die rektale und subkutane Temperaturmessung.

Zusammengefasst stellt die höchst effiziente, nicht invasive Methode der Thermografie ein Refinement gegenüber anderen Temperaturmessverfahren dar. Diese Methode detektiert Defizite des Ernährungszustandes der Tiere und ermöglicht frühzeitig das Wohlergehen von Nacktmäusen durch geeignete Maßnahmen zu verbessern. Die Thermografie ist ein vielversprechender Ansatz, um die Tierbeurteilung unter anderen Aspekten vorzunehmen, um zukünftig eine bessere tägliche Inaugenscheinnahme in der Versuchstierhaltung herbeizuführen. Die qualitative Thermografie stellt sich als geeignete Refinement Methode dar, um die von Nacktmäusen abgestrahlte Wärmestrahlung zu visualisieren und, neben der täglichen Inaugenscheinnahme der Tiere, deren Wohlbefinden objektiv zu beurteilen.

Zusätzlich stellt die quantitative Thermografie eine praktische Anwendung dar, um berührungslos und nichtinvasiv die Temperaturen von Nacktmäusen in physiologischen Temperaturbereichen reproduzierbar zu messen. Die Thermografie ist bei Nacktmäusen im Vergleich zu etablierten Temperaturmessverfahren (rektale, subkutane und intraperitoneale) bei gleicher Messgenauigkeit weniger invasiv. Ein Ersatz, der in verschiedenen Studien üblicherweise verwendeten Temperaturerfassung, sollte durch die Möglichkeit, der nicht invasive Methode grundsätzlich abgewogen werden.

Die Temperaturmessung mittels Thermografie als nicht invasives Verfahren stellt eine Verbesserung gegenüber etablierten Methoden dar, weil diese nicht mit Belastungen wie die Fixation oder dem Risiko einer Infektion verbunden ist. Im Rahmen von Studien können mit dieser Messmethode im Sinne des 3R - Prinzips nicht manipulativ Temperaturen sicherer an der Nacktmaus gemessen werden.

7. Summary

„Temperature measurement with the Infrared camera in adult nude mice - Refinement “

Established methods of measuring body temperature are typically invasive, and may cause mice discomfort and stress. The objective of the study was to compare a non-invasive qualitative thermography with the established invasive temperature measurement methods in nude mice.

In this study, the qualitative thermography of an individual and of group-housed nude mice, showed that this method is suitable for measuring the radiated thermal energy (thermal radiation), and for detecting select physiological conditions which result in a change of skin temperature, i.e. bodyweight. An accurate identification using thermal imagery in a group-housed mouse, is not possible even if additional digital imagery is used for identifying individual animals.

Use of qualitative thermograms in group-housed mice is suitable for continuous or repeat visualisation of an individual mouse, as it enables clear differentiation of certain physiological conditions from other animals within that group. The radiated thermal energy of nude mice in the group can be visualised using a qualitative thermogram model infrared camera (IRC) FLIR E40.

Quantitative thermography is a practical method for the non-tactile and non-invasive measurement of the temperature of nude mice within physiological ranges. The present study found that a temperature value from a minimum of 10 thermograms should be used for a quantitative measurement. Based on the findings of quantitative thermography, it can be assumed that thermographically measured skin temperatures are not an overestimate. The highest, maximum measured temperature value (irT-max) of all thermograms is the one that most accurately reflects the actual skin temperature. The study results clearly demonstrate that the highest irT-max ever recorded from all thermograms of one quantitative measurement should be used rather than the average of all temperatures recorded, or the average of irT-max of one individual thermogram.

The thermographic measurements of 4 female BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu}/Rj mice with different body weights, the measurement of the 50 male Rj:NMRI-Foxn1^{nu/nu} mice and the multiple measurements of the 20 BALB/cAnN-Foxn1^{nu/nu} / Rj male mice over a prolonged period of time demonstrate practical and easy deployment of the thermal imaging.

The infrared camera FLIR E40 used for quantitative thermograms has a larger measuring spot size and a lower resolution and quality compared to other infrared cameras that we have evaluated. The high-quality thermal imaging camera FLIR T660 was used to compare the different temperature measurement methods. A smaller size of the measuring spot with infrared camera FLIR T660 made it possible to obtain higher quality irT results as compared to the infrared camera FLIR E40 model. However, automatic focusing is controversial in some areas of research due to the minimal differential between environmental and mouse temperature.

This study shows that the auto focus function of the infrared camera FLIR T660 model requires the use of a tripod to prevent vibrations caused by the user, and to ensure high-quality temperature results. Use of a tripod enables focus in a constant plane to generate accurate thermographic measurement in nude mice. The high recording frequency of infrared camera FLIR T660 model, enables radiometric autofocused video recordings, even when the mouse is moving.

Thermography is a non-invasive method compared to established temperature measurement methods. The thermal imaging camera is a stress-free measuring device, avoiding surgical intervention, or physical restraint and placement of a foreign object in mice.

In our study we have compared IRC with other more invasive methods, the intra-rectal temperature probe, subcutaneous temperature transponders and intra-peritoneal data loggers.

Intra-rectal temperature measurements with model 5885, Precision Digital Thermometer with PRT [platinum resistance thermometer] (H Tinsley, New Addington, United Kingdom) probe should be interpreted carefully, as the handling during insertion of the temperature probe tip may result in complications, or modulated response due to stress.

Subcutaneous temperature transponders using IPTT-100 (Bio Medic Data Systems, Seaford, DE) also enable individual identification and are useful for some experiments, but transponders must be temperature calibrated.

Intra-peritoneal data loggers we used should have the advantage of providing continuous temperature measurement, however with DST Nano-T Temperature Recorder (Starr Oddi, Gardabaer, Iceland) the results of software analysis can only be extracted at the end of experiment.

The comparative study results demonstrate that the thermal imager is as accurate as the intra-rectal and subcutaneous temperature measurement methods in nude mice. The infrared skin

temperature is a valid and accurate method, comparable to rectal and subcutaneous temperature measurements.

In summary, the highly efficient, non-invasive method of infra-red thermography is a refinement compared to other more invasive temperature measurement methods. The method can detect deficit in body condition, i.e. bodyweight of nude mice. Qualitative infrared thermography is a suitable refinement method which primary aim is the assessment of surface temperature through capture of thermal radiation emitted by nude mice, and secondarily, for qualitative assessment of overall health status and well-being of animals.

In addition, quantitative thermography application can measure reproducibly the temperatures of nude mice in physiological temperature ranges without contact and non-invasively. In nude mice, thermography is non-invasive compared to established temperature measurement methods (rectal, subcutaneous, and intraperitoneal) and with the same measurement accuracy. A substitute for the temperature detection commonly used in various studies by the non-invasive method should always be considered.

Temperature measurement using thermography, as a non-invasive method, is an improvement over established methods because it is not associated with physical restraint or the risk of physical damage and subsequent infection. In the context of our studies, this measurement method proved to be safe and accurate for temperature and well-being assessment in nude mice.

8. Literaturverzeichnis

VDI-Richtlinie 3511: VDI Handbuch Energietechnik, Blatt 1 bis 5 (1994–2000) Technische Temperaturmessung, Beuth Verlag GmbH, Berlin 2005

Abreu-Vieira, G., C. Y. Xiao, O. Gavrilova und M. L. Reitman (2015):
Integration of body temperature into the analysis of energy expenditure in the mouse.
Molecular Metabolism 4: 461-470. DOI: 10.1016/j.molmet.2015.03.001.

Adamson, T. W., D. Diaz-Arevalo, T. M. Gonzalez, X. Liu und M. Kalkum (2013):
Hypothermic endpoint for an intranasal invasive pulmonary aspergillosis mouse model.
Comp Med 63: 477-481.

Al-Massadi, O., B. Porteiro, D. Kuhlou, M. Kohler, M. J. Gonzalez-Rellan, M. Garcia-Lavandeira, E. Diaz-Rodriguez, M. Quinones, A. Senra, C. V. Alvarez, M. Lopez, C. Dieguez, T. J. Schulz und R. Nogueiras (2016):
Pharmacological and Genetic Manipulation of p53 in Brown Fat at Adult But Not Embryonic Stages Regulates Thermogenesis and Body Weight in Male Mice.
Endocrinology 157: 2735-2749. DOI: 10.1210/en.2016-1209.

Almeida, M. C., T. Hew-Butler, R. N. Soriano, S. Rao, W. Wang, J. Wang, N. Tamayo, D. L. Oliveira, T. B. Nucci, P. Aryal, A. Garami, D. Bautista, N. R. Gavva und A. A. Romanovsky (2012):
Pharmacological blockade of the cold receptor TRPM8 attenuates autonomic and behavioral cold defenses and decreases deep body temperature.
J Neurosci 32: 2086-2099. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5606-11.2012.

Arata, S., J. Watanabe, M. Maeda, M. Yamamoto, H. Matsushashi, M. Mochizuki, N. Kagami, K. Honda und M. Inagaki (2016):
Continuous intake of the Chaga mushroom (*Inonotus obliquus*) aqueous extract suppresses cancer progression and maintains body temperature in mice.
Heliyon 2: e00111. DOI: 10.1016/j.heliyon.2016.e00111.

Bae, D. D., P. L. Brown und E. A. Kiyatkin (2007):
Procedure of rectal temperature measurement affects brain, muscle, skin, and body temperatures and modulates the effects of intravenous cocaine.
Brain Res 1154: 61-70. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.03.078.

Bal, N. C., S. K. Maurya, D. H. Sopariwala, S. K. Sahoo, S. C. Gupta, S. A. Shaikh, M. Pant, L. A. Rowland, E. Bombardier und S. A. Goonasekera (2012):
Sarcolipin is a newly identified regulator of muscle-based thermogenesis in mammals.
Nature medicine 18: 1575. DOI: 10.1038/nm.2897.

Basso, A., G. Del Bello, F. Piacenza, R. Giacconi, L. Costarelli und M. Malavolta (2016):
Circadian rhythms of body temperature and locomotor activity in aging BALB/c mice: early and late life span predictors.
Biogerontology 17: 703-714. DOI: 10.1007/s10522-016-9635-y.

Bast, D. J., M. Yue, X. Chen, D. Bell, L. Dresser, R. Saskin, L. A. Mandell, D. E. Low und J. C. de Azavedo (2004):
Novel murine model of pneumococcal pneumonia: use of temperature as a measure of disease severity to compare the efficacies of moxifloxacin and levofloxacin.
Antimicrob Agents Chemother 48: 3343-3348. DOI: 10.1128/AAC.48.9.3343-3348.2004.

Blanchard, K. T., C. Barthel, J. E. French, H. E. Holden, R. Moretz, F. D. Pack, R. W. Tennant und R. E. Stoll (1999):

Transponder-induced sarcoma in the heterozygous p53^{+/-} mouse.
Toxicol Pathol 27: 519-527. DOI: 10.1177/019262339902700505.

Blessing, W. und Y. Ootsuka (2016):

Timing of activities of daily life is jaggy: how episodic ultradian changes in body and brain temperature are integrated into this process.
Temperature 3: 371-383. DOI: 10.1080/23328940.2016.1177159.

Bollen, B., M. Bouslama, B. Matrot, Y. Rotrou, G. Vardon, F. Lofaso, O. Van den Bergh, R. D'Hooge und J. Gallego (2009):

Cold stimulates the behavioral response to hypoxia in newborn mice.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 296: R1503-1511. DOI: 10.1152/ajpregu.90582.2008.

Brunell, M. K. (2012):

Comparison of noncontact infrared thermometry and 3 commercial subcutaneous temperature transponding microchips with rectal thermometry in rhesus macaques (*Macaca mulatta*).
J Am Assoc Lab Anim Sci 51: 479-484.

Buchanan-Smith, H. M., A. E. Rennie, A. Vitale, S. Pollo, M. J. Prescott und D. B. Morton (2005):

Harmonising the definition of refinement.
Animal Welfare 14: 379-384.

Budzier, H. und G. Gerlach (2010):

Thermische Infrarotsensoren: Grundlagen für Anwender. Wiley-VCH.

Calkosinski, I., M. Dobrzynski, J. Rosinczuk, K. Dudek, A. Chroszcz, K. Fita und R. Dymarek (2015):

The use of infrared thermography as a rapid, quantitative, and noninvasive method for evaluation of inflammation response in different anatomical regions of rats.
Biomed Res Int 2015: 972535. DOI: 10.1155/2015/972535.

Cannon, B. und J. Nedergaard (2004):

Brown adipose tissue: function and physiological significance.
Physiol Rev 84: 277-359. DOI: 10.1152/physrev.00015.2003.

Cannon, B. und J. Nedergaard (2011):

Nonshivering thermogenesis and its adequate measurement in metabolic studies.
J Exp Biol 214: 242-253. DOI: 10.1242/jeb.050989.

Caro, A. C., F. C. Hankenson und J. O. Marx (2013):

Comparison of Thermoregulatory Devices Used during Anesthesia of C57BL/6 Mice and Correlations between Body Temperature and Physiologic Parameters.
Journal of the American Association for Laboratory Animal Science 52: 577-583.

Carstens, A. M., E. M. Tambara, D. Colman, M. G. Carstens und J. E. Matias (2016):

Infrared image monitoring of local anesthetic poisoning in rats.
Braz J Anesthesiol 66: 603-612. DOI: 10.1016/j.bjane.2015.04.006.

Carter, E. A., A. A. Bonab, K. Paul, J. Yerxa, R. G. Tompkins und A. J. Fischman (2011):

Association of heat production with 18F-FDG accumulation in murine brown adipose tissue after stress.
J Nucl Med 52: 1616-1620. DOI: 10.2967/jnumed.111.090175.

- Case, J. R., M. A. Young, D. Dreau und S. R. Trammell (2015):
Noninvasive enhanced mid-IR imaging of breast cancer development in vivo.
J Biomed Opt 20: 116003. DOI: 10.1117/1.JBO.20.11.116003.
- Cates, C. C., J. G. McCabe, G. W. Lawson und M. A. Couto (2014):
Core body temperature as adjunct to endpoint determination in murine median lethal dose testing of rattlesnake venom.
Comp Med 64: 440-447.
- Cesarovic, N., F. Nicholls, A. Rettich, P. Kronen, M. Hassig, P. Jirkof und M. Arras (2010):
Isoflurane and sevoflurane provide equally effective anaesthesia in laboratory mice.
Lab Anim 44: 329-336. DOI: 10.1258/la.2010.009085.
- Chen, P. H. und C. E. White (2006):
Comparison of rectal, microchip transponder, and infrared thermometry techniques for obtaining body temperature in the laboratory rabbit (*Oryctolagus cuniculus*).
J Am Assoc Lab Anim Sci 45: 57-63.
- Cinelli, P., A. Rettich, B. Seifert, K. Burki und M. Arras (2007):
Comparative analysis and physiological impact of different tissue biopsy methodologies used for the genotyping of laboratory mice.
Lab Anim 41: 174-184. DOI: 10.1258/002367707780378113.
- Cinti, S. (2002):
Adipocyte differentiation and transdifferentiation: plasticity of the adipose organ.
J Endocrinol Invest 25: 823-835. DOI: 10.1007/BF03344046.
- Clement, J. G. (1993):
Experimentally induced mortality following repeated measurement of rectal temperature in mice.
Lab Anim Sci 43: 381-382.
- Clement, J. G., P. Mills und B. Brockway (1989):
Use of Telemetry to Record Body-Temperature and Activity in Mice.
Journal of Pharmacological Methods 21: 129-140. DOI: 10.1016/0160-5402(89)90031-4.
- Crane, J. D., E. P. Mottillo, T. H. Farncombe, K. M. Morrison und G. R. Steinberg (2014):
A standardized infrared imaging technique that specifically detects UCP1-mediated thermogenesis in vivo.
Mol Metab 3: 490-494. DOI: 10.1016/j.molmet.2014.04.007.
- Crane, J. D., R. Palanivel, E. P. Mottillo, A. L. Bujak, H. Wang, R. J. Ford, A. Collins, R. M. Blumer, M. D. Fullerton, J. M. Yabut, J. J. Kim, J. E. Ghia, S. M. Hamza, K. M. Morrison, J. D. Schertzer, J. R. Dyck, W. I. Khan und G. R. Steinberg (2015):
Inhibiting peripheral serotonin synthesis reduces obesity and metabolic dysfunction by promoting brown adipose tissue thermogenesis.
Nat Med 21: 166-172. DOI: 10.1038/nm.3766.
- Cruz, J. I., J. M. Loste und O. H. Burzaco (1998):
Observations on the use of medetomidine/ketamine and its reversal with atipamezole for chemical restraint in the mouse.
Lab Anim 32: 18-22. DOI: 10.1258/002367798780559383.

- Dahlborn, K., P. Bugnon, T. Nevalainen, M. Raspa, P. Verbost und E. Spangenberg (2013):
Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on
animal identification.
Lab Anim 47: 2-11. DOI: 10.1177/002367712473290.
- David, J. M., A. F. Chatziioannou, R. Taschereau, H. Wang und D. B. Stout (2013a):
The hidden cost of housing practices: using noninvasive imaging to quantify the metabolic demands
of chronic cold stress of laboratory mice.
Comp Med 63: 386-391.
- David, J. M., S. Knowles, D. M. Lamkin und D. B. Stout (2013b):
Individually ventilated cages impose cold stress on laboratory mice: a source of systemic
experimental variability.
J Am Assoc Lab Anim Sci 52: 738-744.
- Decoursey, P. J., S. Pius, C. Sandlin, D. Wethey und J. Schull (1998):
Relationship of circadian temperature and activity rhythms in two rodent species.
Physiol Behav 65: 457-463. DOI: 10.1016/s0031-9384(98)00187-5.
- (2013):
Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Mai 2006 (BGBl. I S. 1206, 1313), das
zuletzt durch Artikel 280 der Verordnung vom 19. Juni 2020 (BGBl. I S. 1328) geändert worden ist
- Eichna, L. W., A. R. Berger, B. Rader und W. H. Becker (1951):
Comparison of intracardiac and intravascular temperatures with rectal temperatures in man.
J Clin Invest 30: 353-359. DOI: 10.1172/JCI102451.
- Engelhardt, v. W., G. Breves, M. Diener und G. Gäbel (2015):
Physiologie der Haustiere. Georg Thieme Verlag.
- Enzi, G., M. Gasparo, P. R. Biondetti, D. Fiore, M. Semisa und F. Zurlo (1986):
Subcutaneous and visceral fat distribution according to sex, age, and overweight, evaluated by
computed tomography.
Am J Clin Nutr 44: 739-746. DOI: 10.1093/ajcn/44.6.739.
- Ewringmann, A. und B. Glöckner (2007):
Leitsymptome bei Hamster, Ratte, Maus und Rennmaus: Diagnostischer Leitfaden und Therapie.
Georg Thieme Verlag.
- Fiebig, K., T. Jourdan, M. H. Kock, R. Merle und C. Thone-Reineke (2018):
Evaluation of Infrared Thermography for Temperature Measurement in Adult Male NMRI Nude Mice.
J Am Assoc Lab Anim Sci. DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-17-000137.
- Flecknell, P. (2002):
Replacement, reduction and refinement.
ALTEX 19: 73-78.
- Forschungsgemeinschaft, D. (2012):
Leitlinien zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis. Deutsche Forschungsgemeinschaft.
- Foster, D. O. und M. L. Frydman (1978):
Brown adipose tissue: the dominant site of nonshivering thermogenesis in the rat.
Experientia Suppl 32: 147-151. DOI: 10.1007/978-3-0348-5559-4_16.

- Foster, D. O. und M. L. Frydman (1979):
Tissue distribution of cold-induced thermogenesis in conscious warm- or cold-acclimated rats reevaluated from changes in tissue blood flow: the dominant role of brown adipose tissue in the replacement of shivering by nonshivering thermogenesis.
Can J Physiol Pharmacol 57: 257-270. DOI: 10.1139/y79-039.
- Fouad, N. A. und T. Richter (2008):
Leitfaden Thermografie im Bauwesen: Theorie, Anwendungsgebiete, praktische Umsetzung.
Fraunhofer IRB Verlag.
- Franco, N. H., A. Geros, L. Oliveira, I. A. S. Olsson und P. Aguiar (2019):
ThermoLabAnimal - A high-throughput analysis software for non-invasive thermal assessment of laboratory mice.
Physiol Behav 207: 113-121. DOI: 10.1016/j.physbeh.2019.05.004.
- Funda, D. P., J. Houstek, M. Holub, L. Kazdova, M. Michalsky, L. Burysek, M. Cervinkova und P. Sima (1998):
Differences in thermoregulation between immunocompetent and immunodeficient hairless mice exposed to mild cold.
Folia Microbiol (Praha) 43: 487-489. DOI: 10.1007/BF02820799.
- Gachkar, S., R. Oelkrug, N. Martinez-Sanchez, E. Rial-Pensado, A. Warner, C. S. Hoefig, M. Lopez und J. Mittag (2017):
3-Iodothyronamine Induces Tail Vasodilation Through Central Action in Male Mice.
Endocrinology 158: 1977-1984. DOI: 10.1210/en.2016-1951.
- Garami, A., E. Pakaj, D. L. Oliveira, A. A. Steiner, S. P. Wanner, M. C. Almeida, V. A. Lesnikov, N. R. Gavva und A. A. Romanovsky (2011):
Thermoregulatory phenotype of the Trpv1 knockout mouse: thermoeffector dysbalance with hyperkinesis.
J Neurosci 31: 1721-1733. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4671-10.2011.
- Gaskill, B., S. A. Rohr, E. A. Pajor, J. Lucas und J. Garner (2009):
Some like it hot: Mouse temperature preferences in laboratory housing.
Applied Animal Behaviour Science 116: 279-285. DOI: 10.1016/j.applanim.2008.10.002.
- Gaskill, B. N., C. J. Gordon, E. A. Pajor, J. R. Lucas, J. K. Davis und J. P. Garner (2012):
Heat or insulation: behavioral titration of mouse preference for warmth or access to a nest.
PLoS One 7: e32799. DOI: 10.1371/journal.pone.0032799.
- Gaskill, B. N., C. J. Gordon, E. A. Pajor, J. R. Lucas, J. K. Davis und J. P. Garner (2013):
Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology.
Physiol Behav 110-111: 87-95. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.12.018.
- Gerhart-Hines, Z., D. Feng, M. J. Emmett, L. J. Everett, E. Loro, E. R. Briggs, A. Bugge, C. Hou, C. Ferrara, P. Seale, D. A. Pryma, T. S. Khurana und M. A. Lazar (2013):
The nuclear receptor Rev-erb α controls circadian thermogenic plasticity.
Nature 503: 410-413. DOI: 10.1038/nature12642.
- Gerß, H. (2014):
Anwendung der Infrarotthermographie zur nicht-invasiven Detektion fieberhafter Tiere in Schweinegruppen-Einschätzung der Anwendbarkeit im Tierseuchenkrisenfall am Beispiel der Klassischen Schweinepest.

Dr. med. vet. Inaugural Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover.

Gibbons, J. W. und K. M. Andrews (2004):

PIT tagging: Simple technology at its best.

Bioscience 54: 447-454. DOI: 10.1641/0006-3568(2004)054[0447:Ptstai]2.0.Co;2.

Gmoser, J. (2018):

Korrelation der thermographisch gemessenen Augenoberflächentemperatur mit klinischen und echokardiographischen Parametern im Herzinfarktmodell an der Maus.

Dr. Inaugural - Dissertation, Julius-Maximilians-Universität Würzburg.

Gordon, C. J. (1990):

Thermal biology of the laboratory rat.

Physiol Behav 47: 963-991. DOI: 10.1016/0031-9384(90)90025-y.

Gordon, C. J. (2004):

Effect of cage bedding on temperature regulation and metabolism of group-housed female mice.

Comp Med 54: 63-68.

Gordon, C. J. (2012):

Thermal physiology of laboratory mice: Defining thermoneutrality.

Journal of Thermal Biology 37: 654-685. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2012.08.004.

Gordon, C. J., P. Becker und J. S. Ali (1998):

Behavioral thermoregulatory responses of single- and group-housed mice.

Physiol Behav 65: 255-262. DOI: 10.1016/s0031-9384(98)00148-6.

Gordon, C. J., A. F. Johnstone und C. Aydin (2014):

Thermal stress and toxicity.

Compr Physiol 4: 995-1016. DOI: 10.1002/cphy.c130046.

Haemmerle, G., A. Lass, R. Zimmermann, G. Gorkiewicz, C. Meyer, J. Rozman, G. Heldmaier, R. Maier, C. Theussl, S. Eder, D. Kratky, E. F. Wagner, M. Klingenspor, G. Hoefler und R. Zechner (2006):

Defective lipolysis and altered energy metabolism in mice lacking adipose triglyceride lipase.

Science 312: 734-737. DOI: 10.1126/science.1123965.

Hankenson, F. C., N. Ruskoski, M. van Saun, G. S. Ying, J. Oh und N. W. Fraser (2013):

Weight loss and reduced body temperature determine humane endpoints in a mouse model of ocular herpesvirus infection.

J Am Assoc Lab Anim Sci 52: 277-285.

Hannibal, J., H. M. Hsiung und J. Fahrenkrug (2011):

Temporal phasing of locomotor activity, heart rate rhythmicity, and core body temperature is disrupted in VIP receptor 2-deficient mice.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 300: R519-530. DOI: 10.1152/ajpregu.00599.2010.

Harper, S. J. und G. O. Batzli (1996):

Monitoring use of runways by voles with passive integrated transponders.

Journal of Mammalogy 77: 364-369. DOI: 10.2307/1382809.

- Harshaw, C. und J. R. Alberts (2012):
Group and individual regulation of physiology and behavior: a behavioral, thermographic, and acoustic study of mouse development.
Physiol Behav 106: 670-682. DOI: 10.1016/j.physbeh.2012.05.002.
- Harshaw, C., J. J. Culligan und J. R. Alberts (2014):
Sex differences in thermogenesis structure behavior and contact within huddles of infant mice.
PLoS One 9: e87405. DOI: 10.1371/journal.pone.0087405.
- Hart, J. S. (1971):
Mammals.
Rodents. Elsevier, Academic Press Inc: 1-149.
- Hartertinger, J., D. Kulbs, P. Volkers und K. Cussler (2003):
Suitability of temperature-sensitive transponders to measure body temperature during animal experiments required for regulatory tests.
ALTEX 20: 65-70.
- Hashimoto, K., S. Suemaru, T. Takao, M. Sugawara, S. Makino und Z. Ota (1988):
Corticotropin-releasing hormone and pituitary-adrenocortical responses in chronically stressed rats.
Regul Pept 23: 117-126. DOI: 10.1016/0167-0115(88)90019-5.
- Hershey, J., D. Aler und S. Miller (2014):
Surface temperature correlates to core body temperature in mice across a wide range of values.
Lab Anim. Sci. Prof 4: 44-46.
- Hessel, E. F., K. Reiners, A. Hegger, H. Van den Weghe, S. Böck und G. Wendl (2008):
Simultane Einzeltiererkennung-Einsatz der RFID-Technologie unter Verwendung von HF-Transpondern.
LANDTECHNIK–Agricultural Engineering 63: 38-39.
- Hilsberg, S. (2001):
Aspekte zur klinischen Anwendung der Infrarot-Thermographie in der Zoo-und Wildtiermedizin.
Dr. med. vet. Dissertation, Universität Leipzig, Leipzig.
- Himms-Hagen, J. und C. Villemure (1992):
Number of mice per cage influences uncoupling protein content of brown adipose tissue.
Proc Soc Exp Biol Med 200: 502-506. DOI: 10.3181/00379727-200-43461.
- Hitrec, T., M. Luppi, S. Bastianini, F. Squarcio, C. Berteotti, V. Lo Martire, D. Martelli, A. Occhinegro, D. Tupone, G. Zoccoli, R. Amici und M. Cerri (2019):
Neural control of fasting-induced torpor in mice.
Sci Rep 9: 15462. DOI: 10.1038/s41598-019-51841-2.
- Hodges, M. R., G. J. Tattersall, M. B. Harris, S. D. McEvoy, D. N. Richerson, E. S. Deneris, R. L. Johnson, Z. F. Chen und G. B. Richerson (2008):
Defects in breathing and thermoregulation in mice with near-complete absence of central serotonin neurons.
J Neurosci 28: 2495-2505. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4729-07.2008.

- Hoefig, C. S., L. Harder, R. Oelkrug, M. Meusel, B. Vennstrom, G. Brabant und J. Mittag (2016): Thermoregulatory and Cardiovascular Consequences of a Transient Thyrotoxicosis and Recovery in Male Mice. *Endocrinology* 157: 2957-2967. DOI: 10.1210/en.2016-1095.
- Hoefig, C. S., S. F. Jacobi, A. Warner, L. Harder, N. Schanze, B. Vennstrom und J. Mittag (2015): 3-Iodothyroacetic acid lacks thermoregulatory and cardiovascular effects in vivo. *Br J Pharmacol* 172: 3426-3433. DOI: 10.1111/bph.13131.
- Hofmann, S. M., L. Zhou, D. Perez-Tilve, T. Greer, E. Grant, L. Wancata, A. Thomas, P. T. Pfluger, J. E. Basford, D. Gilham, J. Herz, M. H. Tschop und D. Y. Hui (2007): Adipocyte LDL receptor-related protein-1 expression modulates postprandial lipid transport and glucose homeostasis in mice. *J Clin Invest* 117: 3271-3282. DOI: 10.1172/JCI31929.
- Hunter, J. E., J. Butterworth, N. D. Perkins, M. Bateson und C. A. Richardson (2014): Using body temperature, food and water consumption as biomarkers of disease progression in mice with Emu-myc lymphoma. *Br J Cancer* 110: 928-934. DOI: 10.1038/bjc.2013.818.
- Hurst, J. L. und R. S. West (2010): Taming anxiety in laboratory mice. *Nat Methods* 7: 825-826. DOI: 10.1038/nmeth.1500.
- Ishii, K., M. Kuwahara, H. Tsubone und S. Sugano (1996): The telemetric monitoring of heart rate, locomotor activity, and body temperature in mice and voles (*Microtus arvalis*) during ambient temperature changes. *Lab Anim* 30: 7-12. DOI: 10.1258/002367796780744992.
- Jacoby, R. O., J. G. Fox und M. Davisson (2002): Biology and diseases of mice. *Laboratory animal medicine*. 2: 35-120.
- Jennings, M., D. B. Morton, E. Charton, J. Cooper, C. Hendriksen, S. Martin, M. C. Pearce, S. Price, K. Redhead, N. Reed, H. Simmons, S. Spencer und H. Willingale (2010): Application of the Three Rs to challenge assays used in vaccine testing: tenth report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Biologicals* 38: 684-695. DOI: 10.1016/j.biologicals.2010.04.004.
- Johnston, N. A., C. Bosgraaf, L. Cox, J. Reichensperger, S. Verhulst, C. Patten, Jr. und L. A. Toth (2007): Strategies for refinement of abdominal device implantation in mice: strain, carboxymethylcellulose, thermal support, and atipamezole. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 46: 46-53.
- Kaiyala, K. J., K. Ogimoto, J. T. Nelson, M. W. Schwartz und G. J. Morton (2015): Leptin signaling is required for adaptive changes in food intake, but not energy expenditure, in response to different thermal conditions. *PLoS One* 10: e0119391. DOI: 10.1371/journal.pone.0119391.
- Kalliokoski, O., K. R. Jacobsen, H. S. Darusman, T. Henriksen, A. Weimann, H. E. Poulsen, J. Hau und K. S. Abelson (2013): Mice do not habituate to metabolism cage housing--a three week study of male BALB/c mice. *PLoS One* 8: e58460. DOI: 10.1371/journal.pone.0058460.

Kambiz, S., J. W. van Neck, S. G. Cosgun, M. H. van Velzen, J. A. Janssen, N. Avazverdi, S. E. Hovius und E. T. Walbeehm (2015):

An early diagnostic tool for diabetic peripheral neuropathy in rats.

PLoS One 10: e0126892. DOI: 10.1371/journal.pone.0126892.

Kasza, I., D. Adler, D. W. Nelson, C. L. Eric Yen, S. Dumas, J. M. Ntambi, O. A. MacDougald, D. Hernando, W. P. Porter, F. A. Best und C. M. Alexander (2019):

Evaporative cooling provides a major metabolic energy sink.

Mol Metab 27: 47-61. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.06.023.

Keeney, A. J., S. Hogg und C. A. Marsden (2001):

Alterations in core body temperature, locomotor activity, and corticosterone following acute and repeated social defeat of male NMRI mice.

Physiol Behav 74: 177-184. DOI: 10.1016/s0031-9384(01)00541-8.

Kern, C. J. (1997):

Technische Leistungsfähigkeit und Nutzung von injizierbaren Transpondern in der Rinderhaltung.

Doktors der Agrarwissenschaften Dissertation, Technische Universität München in Weihenstephan.

Klaus, S., H. Munzberg, C. Truloff und G. Heldmaier (1998):

Physiology of transgenic mice with brown fat ablation: obesity is due to lowered body temperature.

Am J Physiol 274: R287-293. DOI: 10.1152/ajpregu.1998.274.2.R287.

Kleiber, M. (1947):

Body size and metabolic rate.

Physiol Rev 27: 511-541. DOI: 10.1152/physrev.1947.27.4.511.

Kleiber, M. und M. Kleiber (1961):

The fire of life. An introduction to animal energetics. Wiley.

Klinke, R. und S. Silbernagl (2003):

Lehrbuch der Physiologie. Thieme Stuttgart.

Klir, J. J., J. E. Heath und N. Bennani (1990):

An infrared thermographic study of surface temperature in relation to external thermal stress in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*.

Comp Biochem Physiol A Comp Physiol 96: 141-146. DOI: 10.1016/0300-9629(90)90055-w.

Kort, W. J., J. M. Hekking-Weijma, M. T. TenKate, V. Sorm und R. VanStrik (1998):

A microchip implant system as a method to determine body temperature of terminally ill rats and mice.

Lab Anim 32: 260-269. DOI: 10.1258/002367798780559329.

Kozak, L. P., R. A. Koza und R. Anunciado-Koza (2010):

Brown fat thermogenesis and body weight regulation in mice: relevance to humans.

Int J Obes (Lond) 34 Suppl 1: S23-27. DOI: 10.1038/ijo.2010.179.

Kramer, K., S. A. B. E. Vanacker, H. P. Voss, J. A. Grimbergen, W. J. F. Vandervijgh und A. Bast (1993):

Use of Telemetry to Record Electrocardiogram and Heart-Rate in Freely Moving Mice.

Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 30: 209-215. DOI: 10.1016/1056-8719(93)90019-B.

Langer, F. und J. Fietz (2014):

Ways to measure body temperature in the field.

J Therm Biol 42: 46-51. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2014.03.002.

Lateef, D. M., G. Abreu-Vieira, C. Xiao und M. L. Reitman (2014):

Regulation of body temperature and brown adipose tissue thermogenesis by bombesin receptor subtype-3.

Am J Physiol Endocrinol Metab 306: E681-687. DOI: 10.1152/ajpendo.00615.2013.

Lee, S. J., P. T. Pfluger, J. Y. Kim, R. Nogueiras, A. Duran, G. Pages, J. Pouyssegur, M. H. Tschop, M. T. Diaz-Meco und J. Moscat (2010):

A functional role for the p62-ERK1 axis in the control of energy homeostasis and adipogenesis.

EMBO Rep 11: 226-232. DOI: 10.1038/embor.2010.7.

Leon, L. R. (2005):

The use of gene knockout mice in thermoregulation studies.

Journal of Thermal Biology 30: 273-288.

Leon, L. R., L. D. Walker, D. A. DuBose und L. A. Stephenson (2004):

Biotelemetry transmitter implantation in rodents: impact on growth and circadian rhythms.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 286: R967-974. DOI: 10.1152/ajpregu.00380.2003.

Levesque, D. L., J. Nowack und C. Stawski (2016):

Modelling mammalian energetics: the heterothermy problem.

Climate Change Responses 3: 7.

Liu, Z., Y. Xiao, Z. Zhou, X. Mao, J. Cai, L. Xiong, C. Liao, F. Huang, Z. Liu, M. S. A. Sheikh, J. Plutzky, H. Huang, T. Yang und Q. Duan (2016):

Extensive metabolic disorders are present in APCmin tumorigenesis mice.

Molecular and Cellular Endocrinology 427: 57-64.

Lo Martire, V., A. Silvani, S. Bastianini, C. Berteotti und G. Zoccoli (2012):

Effects of ambient temperature on sleep and cardiovascular regulation in mice: the role of hypocretin/orexin neurons.

PLoS One 7: e47032. DOI: 10.1371/journal.pone.0047032.

Loeffler, K. und G. Gäbel (2015):

Anatomie und Physiologie der Haustiere. UTB.

Löffler, G. (2013):

Basiswissen Biochemie: mit Pathobiochemie. Springer-Verlag.

Loughmiller, J. A., M. F. Spire, S. S. Dritz, B. W. Fenwick, M. H. Hosni und S. B. Hogge (2001):

Relationship between mean body surface temperature measured by use of infrared thermography and ambient temperature in clinically normal pigs and pigs inoculated with *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Am J Vet Res 62: 676-681. DOI: 10.2460/ajvr.2001.62.676.

Maher, R. L., S. M. Barbash, D. V. Lynch und S. J. Swoap (2015):

Group housing and nest building only slightly ameliorate the cold stress of typical housing in female C57BL/6J mice.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 308: R1070-1079. DOI: 10.1152/ajpregu.00407.2014.

- Maurer, S. F., T. Fromme, L. I. Grossman, M. Hüttemann und M. Klingenspor (2015):
The brown and brite adipocyte marker Cox7a1 is not required for non-shivering thermogenesis in mice.
Scientific reports 5: 17704.
- Mei, J., N. Riedel, U. Grittner, M. Endres, S. Banneke und J. V. Emmrich (2018):
Body temperature measurement in mice during acute illness: implantable temperature transponder versus surface infrared thermometry.
Sci Rep 8: 3526. DOI: 10.1038/s41598-018-22020-6.
- Meyer, C. W., Y. Ootsuka und A. A. Romanovsky (2017):
Body Temperature Measurements for Metabolic Phenotyping in Mice.
Front Physiol 8: 520. DOI: 10.3389/fphys.2017.00520.
- Meyer, C. W., P. Reitmeir und M. H. Tschöp (2015):
Exploration of Energy Metabolism in the Mouse Using Indirect Calorimetry: measurement of daily energy expenditure (DEE) and basal metabolic rate (BMR).
Current protocols in mouse biology: 205-222.
- Minakami, K., T. Obara und C. Yamauchi (1986):
[The effects of fur on the thermal regulation of mice (*Mus musculus*)].
Jikken Dobutsu 35: 101-105. DOI: 10.1538/expanim1978.35.1_101.
- Mittag, J., D. J. Lyons, J. Sällström, M. Vujovic, S. Dudazy-Gralla, A. Warner, K. Wallis, A. Alkemade, K. Nordström und H. Monyer (2012):
Thyroid hormone is required for hypothalamic neurons regulating cardiovascular functions.
The Journal of clinical investigation 123.
- Miyata, K., T. Kuwaki und Y. Ootsuka (2016):
The integrated ultradian organization of behavior and physiology in mice and the contribution of orexin to the ultradian patterning.
Neuroscience 334: 119-133. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.07.041.
- Mohammed, M., Y. Ootsuka, M. Yanagisawa und W. Blessing (2014):
Reduced brown adipose tissue thermogenesis during environmental interactions in transgenic rats with ataxin-3-mediated ablation of hypothalamic orexin neurons.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 307: R978-989. DOI: 10.1152/ajpregu.00260.2014.
- Molins, C. R., M. J. Delorey, J. W. Young, B. M. Yockey, J. T. Belisle, M. E. Schriefer und J. M. Petersen (2012):
Use of temperature for standardizing the progression of *Francisella tularensis* in mice.
PLoS One 7: e45310. DOI: 10.1371/journal.pone.0045310.
- Mufford, J. T., M. J. Paetkau, N. J. Flood, G. Regev-Shoshani, C. C. Miller und J. S. Church (2016):
The development of a non-invasive behavioral model of thermal heat stress in laboratory mice (*Mus musculus*).
J Neurosci Methods 268: 189-195. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2015.12.011.
- N. R. Council (2011):
Guide for the care and use of laboratory animals
Washington, DC, 140

- Nedergaard, J., V. Golozoubova, A. Matthias, A. Asadi, A. Jacobsson und B. Cannon (2001):
UCP1: the only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency.
Biochim Biophys Acta 1504: 82-106. DOI: 10.1016/s0005-2728(00)00247-4.
- Nemzek, J. A., H. Y. Xiao, A. E. Minard, G. L. Bolgos und D. G. Remick (2004):
Humane endpoints in shock research.
Shock 21: 17-25. DOI: 10.1097/01.shk.0000101667.49265.fd.
- Newsom, D. M., G. L. Bolgos, L. Colby und J. A. Nemzek (2004):
Comparison of body surface temperature measurement and conventional methods for measuring temperature in the mouse.
Contemp Top Lab Anim Sci 43: 13-18.
- Nguyen, A. V., N. J. Cohen, H. Lipman, C. M. Brown, N. A. Molinari, W. L. Jackson, H. Kirking, P. Szymanowski, T. W. Wilson, B. A. Salhi, R. R. Roberts, D. W. Stryker und D. B. Fishbein (2010):
Comparison of 3 infrared thermal detection systems and self-report for mass fever screening.
Emerg Infect Dis 16: 1710-1717. DOI: 10.3201/eid1611.100703.
- Nicholls, D. G. und R. M. Locke (1984):
Thermogenic mechanisms in brown fat.
Physiol Rev 64: 1-64. DOI: 10.1152/physrev.1984.64.1.1.
- Nonomura, T., A. Tsuchida, M. Ono-Kishino, T. Nakagawa, M. Taiji und H. Noguchi (2001):
Brain-derived neurotrophic factor regulates energy expenditure through the central nervous system in obese diabetic mice.
Int J Exp Diabetes Res 2: 201-209. DOI: 10.1155/edr.2001.201.
- Oelkrug, R., G. Heldmaier und C. W. Meyer (2011):
Torpor patterns, arousal rates, and temporal organization of torpor entry in wildtype and UCP1-ablated mice.
J Comp Physiol B 181: 137-145. DOI: 10.1007/s00360-010-0503-9.
- Ohashi, N., T. Hori, S. Uemoto, S. Jermanus, F. Chen, A. Nakao und J. H. Nguyen (2013):
Hypothermia predicts hepatic failure after extensive hepatectomy in mice.
World J Hepatol 5: 170-181. DOI: 10.4254/wjh.v5.i4.170.
- Ootsuka, Y., R. C. de Menezes, D. V. Zaretsky, A. Alimoradian, J. Hunt, A. Stefanidis, B. J. Oldfield und W. W. Blessing (2009):
Brown adipose tissue thermogenesis heats brain and body as part of the brain-coordinated ultradian basic rest-activity cycle.
Neuroscience 164: 849-861. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.08.013.
- Paris, A., C. Ohlendorf, M. Marquardt, B. Bein, J. M. Sonner, J. Scholz und P. H. Tonner (2005):
The effect of meperidine on thermoregulation in mice: involvement of alpha2-adrenoceptors.
Anesth Analg 100: 102-106. DOI: 10.1213/01.ANE.0000139355.86522.D1.
- Paul, M. J., P. Indic und W. J. Schwartz (2015):
Social synchronization of circadian rhythmicity in female mice depends on the number of cohabiting animals.
Biol Lett 11: 20150204. DOI: 10.1098/rsbl.2015.0204.

Pereira, C. B., J. Kunczik, L. Zieglowski, R. Tolba, A. Abdelrahman, D. Zechner, B. Vollmar, H. Janssen, T. Thum und M. Czaplík (2018):
Remote Welfare Monitoring of Rodents Using Thermal Imaging.
Sensors (Basel) 18. DOI: 10.3390/s18113653.

Pflumm, W. und M. Pflumm-Eisbrenner (1989):
Biologie der Säugetiere. Parey.

Pieper, R. J. und A. Korpel (1983):
Image processing for extended depth of field.
Appl Opt 22: 1449. DOI: 10.1364/ao.22.001449.

Planck, M. (1887):
Das Princip der Erhaltung der Energie.
Leipzig, Teubner.

Quesenberry, K., J. Carpenter und R. Ferrets (2004):
Rodents: Clinical Medicine and Surgery. WB Saunders, St Louis, Missouri.

Quimby, J. M., F. Olea-Popelka und M. R. Lappin (2009):
Comparison of digital rectal and microchip transponder thermometry in cats.
J Am Assoc Lab Anim Sci 48: 402-404.

Ray, S. F. (2002):
Applied photographic optics: Lenses and optical systems for photography, film, video, electronic and digital imaging. Focal Press.

Refinetti, R. und M. Menaker (1992):
The circadian rhythm of body temperature.
Physiol Behav 51: 613-637. DOI: 10.1016/0031-9384(92)90188-8.

Ring, E. F. (2006):
The historical development of thermometry and thermal imaging in medicine.
J Med Eng Technol 30: 192-198. DOI: 10.1080/03091900600711332.

Ring, E. F. und K. Ammer (2012):
Infrared thermal imaging in medicine.
Physiol Meas 33: R33-46. DOI: 10.1088/0967-3334/33/3/R33.

Romanovsky, A. A. (2014):
Skin temperature: its role in thermoregulation.
Acta Physiol (Oxf) 210: 498-507. DOI: 10.1111/apha.12231.

Romanovsky, A. A., A. I. Ivanov und Y. P. Shimansky (2002):
Selected contribution: ambient temperature for experiments in rats: a new method for determining the zone of thermal neutrality.
J Appl Physiol (1985) 92: 2667-2679. DOI: 10.1152/jappphysiol.01173.2001.

Romanovsky, A. A., C. T. Simons und V. A. Kulchitsky (1998):
"Biphasic" fevers often consist of more than two phases.
American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology 275: R323-R331.

- Romanovsky, A. A., C. T. Simons, M. Szekely und V. A. Kulchitsky (1997):
The vagus nerve in the thermoregulatory response to systemic inflammation.
Am J Physiol 273: R407-413. DOI: 10.1152/ajpregu.1997.273.1.R407.
- Rothwell, N. J. und M. J. Stock (1979):
A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis.
Nature 281: 31-35. DOI: 10.1038/281031a0.
- Rudaya, A. Y., A. A. Steiner, J. R. Robbins, A. S. Dragic und A. A. Romanovsky (2005):
Thermoregulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 289: R1244-1252. DOI: 10.1152/ajpregu.00370.2005.
- Ruf, T. und G. Heldmaier (1987):
Computerized Body-Temperature Telemetry in Small Animals - Use of Simple Equipment and Advanced Noise Suppression.
Computers in Biology and Medicine 17: 331-340. DOI: 10.1016/0010-4825(87)90022-9.
- Russell, W. M. S. und R. L. Burch (1959):
The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Co. Ltd.
- Saegusa, Y. und H. Tabata (2003):
Usefulness of infrared thermometry in determining body temperature in mice.
J Vet Med Sci 65: 1365-1367. DOI: 10.1292/jvms.65.1365.
- Santoso, A., A. Kaiser und Y. Winter (2006):
Individually dosed oral drug administration to socially-living transponder-tagged mice by a water dispenser under RFID control.
J Neurosci Methods 153: 208-213. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2005.10.025.
- Schmidt-Nielsen, K. (1984):
Scaling. Why is animal size so important?
Cambridge, Cambridge University Press.
- Schulz, T. J., P. Huang, T. L. Huang, R. Xue, L. E. McDougall, K. L. Townsend, A. M. Cypess, Y. Mishina, E. Gussoni und Y. H. Tseng (2013):
Brown-fat paucity due to impaired BMP signalling induces compensatory browning of white fat.
Nature 495: 379-383. DOI: 10.1038/nature11943.
- Schuster, N. und V. G. Kolobrodov (2004):
Infrarotthermographie. John Wiley & Sons.
- Sessler, D. I. (2008):
Temperature monitoring and perioperative thermoregulation.
Anesthesiology 109: 318-338. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31817f6d76.
- Shelton, L. J., Jr., C. E. White und S. A. Felt (2006):
A comparison of non-contact, subcutaneous, and rectal temperatures in captive owl monkeys (*Aotus* sp.).
J Med Primatol 35: 346-351. DOI: 10.1111/j.1600-0684.2006.00159.x.
- Soerensen, D. D., S. Clausen, J. B. Mercer und L. J. Pedersen (2014):
Determining the emissivity of pig skin for accurate infrared thermography.
Computers and Electronics in Agriculture 109: 52-58. DOI: 10.1016/j.compag.2014.09.003.

- Soldan, S. (2014):
Sensordatenfusionsansätze in der Thermografie zur Verbesserung der Messergebnisse. kassel university press GmbH.
- Solymár, M., E. Pétervári, M. Balaskó und Z. Szelényi (2015):
The onset of daily torpor is regulated by the same low body mass in lean mice and in mice with diet-induced obesity.
Temperature 2: 129-134.
- Song, C., V. Appleyard, K. Murray, T. Frank, W. Sibbett, A. Cuschieri und A. Thompson (2007):
Thermographic assessment of tumor growth in mouse xenografts.
Int J Cancer 121: 1055-1058. DOI: 10.1002/ijc.22808.
- Sonnenberg, H. (2011):
Untersuchungen der Körpertemperatur an Versuchsschweinen, ermittelt mit der Transpondertechnik an verschiedenen Implantationsorten im Vergleich zur rektal gemessenen Körpertemperatur.
Dr. vet.med. Inaugural- Dissertation, Freie Universität Berlin.
- Soothill, J. S., D. B. Morton und A. Ahmad (1992):
The HID50 (hypothermia-inducing dose 50): an alternative to the LD50 for measurement of bacterial virulence.
Int J Exp Pathol 73: 95-98.
- Sorensen, N. L. (2015):
Gestational hypothermia in mice is not proportional to foetal mass or affected by maternal thermal environment, but pups grow faster at temperatures below thermoneutrality.
Master of Science, University of Western Australia.
- Speakman, J. R. und J. Keijer (2012):
Not so hot: Optimal housing temperatures for mice to mimic the thermal environment of humans.
Mol Metab 2: 5-9. DOI: 10.1016/j.molmet.2012.10.002.
- Stamp, J. A. und J. Herbert (1999):
Multiple immediate-early gene expression during physiological and endocrine adaptation to repeated stress.
Neuroscience 94: 1313-1322. DOI: 10.1016/s0306-4522(99)00368-1.
- Stephan, E. und R. Redecker (1970):
Rolle der Haut bei der Thermoregulation von Haustieren.
Deut Tierarztl Wochensh 77: 628-631.
- Stephens Devalle, J. M. (2005):
Comparison of tympanic, transponder, and noncontact infrared laser thermometry with rectal thermometry in strain 13 guinea pigs (*Cavia porcellus*).
Contemp Top Lab Anim Sci 44: 35-38.
- Su, Y., E. Foppen, E. Fliers und A. Kalsbeek (2016):
Effects of Intracerebroventricular Administration of Neuropeptide Y on Metabolic Gene Expression and Energy Metabolism in Male Rats.
Endocrinology 157: 3070-3085. DOI: 10.1210/en.2016-1083.
- Suckow, M. A., P. Danneman und C. Brayton (2001):
The laboratory mouse. CRC Press Inc.

Sugimoto, S., H. Nakajima, K. Kodo, J. Mori, K. Matsuo, K. Kosaka, W. Aoi, K. Yoshimoto, H. Ikegaya und H. Hosoi (2014):

Miglitol increases energy expenditure by upregulating uncoupling protein 1 of brown adipose tissue and reduces obesity in dietary-induced obese mice.

Nutr Metab (Lond) 11: 14. DOI: 10.1186/1743-7075-11-14.

Tajino, K., K. Matsumura, K. Kosada, T. Shibakusa, K. Inoue, T. Fushiki, H. Hosokawa und S. Kobayashi (2007):

Application of menthol to the skin of whole trunk in mice induces autonomic and behavioral heat-gain responses.

Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 293: R2128-2135. DOI: 10.1152/ajpregu.00377.2007.

Talan, M. I., S. A. Kirov und N. A. Kosheleva (1996):

Nonshivering thermogenesis in adult and aged C57BL/6J mice housed at 22 degrees C and at 29 degrees C.

Exp Gerontol 31: 687-698. DOI: 10.1016/s0531-5565(96)00095-2.

Tannenbaum, J. und B. T. Bennett (2015):

Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose.

J Am Assoc Lab Anim Sci 54: 120-132.

Taylor, N. A., M. J. Tipton und G. P. Kenny (2014):

Considerations for the measurement of core, skin and mean body temperatures.

J Therm Biol 46: 72-101. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2014.10.006.

Tepper, M. und I. Gannot (2015):

Monitoring tumor state from thermal images in animal and human models.

Med Phys 42: 1297-1306. DOI: 10.1118/1.4907967.

Tepper, M., A. Shoval, O. Hoffer, H. Confino, M. Schmidt, I. Kelson, Y. Keisari und I. Gannot (2013):

Thermographic investigation of tumor size, and its correlation to tumor relative temperature, in mice with transplantable solid breast carcinoma.

J Biomed Opt 18: 111410. DOI: 10.1117/1.JBO.18.11.111410.

Toth, L. A. (2000):

Defining the moribund condition as an experimental endpoint for animal research.

ILAR J 41: 72-79. DOI: 10.1093/ilar.41.2.72.

Trammell, R. A. und L. A. Toth (2011):

Markers for predicting death as an outcome for mice used in infectious disease research.

Comp Med 61: 492-498.

Vianna, D. M. und P. Carrive (2005):

Changes in cutaneous and body temperature during and after conditioned fear to context in the rat.

Eur J Neurosci 21: 2505-2512. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2005.04073.x.

Villasenor-Mora, C., F. J. Sanchez-Marin und S. Calixto-Carrera (2009):

An indirect skin emissivity measurement in the infrared thermal range through reflection of a CO₂ laser beam.

Revista Mexicana De Fisica 55: 387-392.

- Vlach, K. D., J. W. Boles und B. G. Stiles (2000):
Telemetric evaluation of body temperature and physical activity as predictors of mortality in a murine model of staphylococcal enterotoxic shock.
Comp Med 50: 160-166.
- Vogel, B., H. Wagner, J. Gmoser, A. Worner, A. Loschberger, L. Peters, A. Frey, U. Hofmann und S. Frantz (2016):
Touch-free measurement of body temperature using close-up thermography of the ocular surface.
MethodsX 3: 407-416. DOI: 10.1016/j.mex.2016.05.002.
- Wacker, C. B., A. D. Rojas und F. Geiser (2012):
The use of small subcutaneous transponders for quantifying thermal biology and torpor in small mammals.
Journal of Thermal Biology 37: 250-254. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2011.11.007.
- Wang, L. C. H. und M. W. Wolowyk (1988):
Torpor in Mammals and Birds.
Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie 66: 133-137. DOI: 10.1139/z88-017.
- Wang, Y., K. Kimura, K. Inokuma, M. Saito, Y. Kontani, Y. Kobayashi, N. Mori und H. Yamashita (2006):
Potential contribution of vasoconstriction to suppression of heat loss and homeothermic regulation in UCP1-deficient mice.
Pflugers Arch 452: 363-369. DOI: 10.1007/s00424-005-0036-3.
- Wanner, S. P., A. Garami, E. Pakai, D. L. Oliveira, N. R. Gavva, C. C. Coimbra und A. A. Romanovsky (2012):
Aging reverses the role of the transient receptor potential vanilloid-1 channel in systemic inflammation from anti-inflammatory to proinflammatory.
Cell Cycle 11: 343-349. DOI: 10.4161/cc.11.2.18772.
- Wanner, S. P., K. Yoshida, V. A. Kulchitsky, A. I. Ivanov, K. Kanosue und A. A. Romanovsky (2013):
Lipopolysaccharide-induced neuronal activation in the paraventricular and dorsomedial hypothalamus depends on ambient temperature.
PLoS One 8: e75733. DOI: 10.1371/journal.pone.0075733.
- Warn, P. A., M. W. Brampton, A. Sharp, G. Morrissey, N. Steel, D. W. Denning und T. Priest (2003):
Infrared body temperature measurement of mice as an early predictor of death in experimental fungal infections.
Lab Anim 37: 126-131. DOI: 10.1258/00236770360563769.
- Warner, A., A. Rahman, P. Solsjo, K. Gottschling, B. Davis, B. Vennstrom, A. Arner und J. Mittag (2013):
Inappropriate heat dissipation ignites brown fat thermogenesis in mice with a mutant thyroid hormone receptor alpha1.
Proc Natl Acad Sci U S A 110: 16241-16246. DOI: 10.1073/pnas.1310300110.
- Wartzek, T., J. Mühlsteff und M. Imhoff (2011):
Temperaturmessung: Messung und Überwachung der Körpertemperatur DGBMT-Fachausschuss Methodik der Patientenüberwachung. Frankfurt am Main, BRD, Verband der Elektrotechnik Elektronik Informationstechnik eV.

Willershäuser, M. (2013):

Metabolische Phänotypisierung von Mausmutantenlinien mit einer Störung in der Körpertemperatur- und Gewichtsregulation.

Dissertation, München, Technische Universität München, Diss., 2013.

Willershäuser, M., N. Ehrhardt, R. Elvert, E. K. Wirth, U. Schweizer, V. Gailus-Durner, H. Fuchs, M. Hrabě de Angelis, J. Rozman und M. Klingenspor (2012):

Systematic Screening for Mutant Mouse Lines with Defects in Body Temperature Regulation.

Living in a Seasonal World. T. Ruf, C. Bieber, W. Arnold und E. Millesi. Berlin, Heidelberg, Springer: 459-469.

Williamson, E. D., V. L. Savage, B. Lingard, P. Russell und E. A. Scott (2007):

A biocompatible microdevice for core body temperature monitoring in the early diagnosis of infectious disease.

Biomed Microdevices 9: 51-60. DOI: 10.1007/s10544-006-9007-5.

Wither, R. G., S. Colic, C. Wu, B. L. Bardakjian, L. Zhang und J. H. Eubanks (2012):

Daily rhythmic behaviors and thermoregulatory patterns are disrupted in adult female MeCP2-deficient mice.

PLoS One 7: e35396. DOI: 10.1371/journal.pone.0035396.

Wolfe, W. L. und G. J. Zissis (1989):

The infrared handbook.

Arlington: Office of Naval Research, Department of the Navy, 1978, edited by Wolfe, William L.; Zissis, George J. Ann Arbor, Mich., DTIC Document. 1: Getr. Zählung : Ill., graph. Darst.

Wong, B. J., J. Lee, G. T. Hashisaki, M. W. Berns und J. Neev (1997a):

Thermal imaging of the temporal bone in CO₂ laser surgery: an experimental model.

Otolaryngol Head Neck Surg 117: 610-615. DOI: 10.1016/s0194-5998(97)70041-x.

Wong, J. P., E. G. Saravolac, J. G. Clement und L. P. Nagata (1997b):

Development of a murine hypothermia model for study of respiratory tract influenza virus infection.

Lab Anim Sci 47: 143-147.

Yamakage, M. und A. Namiki (2004):

[Intravenous fluid administration and management of body temperature].

Masui 53: 10-22.

Yoon, J. A., D. H. Han, J. Y. Noh, M. H. Kim, G. H. Son, K. Kim, C. J. Kim, Y. K. Pak und S. Cho (2012):

Meal time shift disturbs circadian rhythmicity along with metabolic and behavioral alterations in mice.

PLoS One 7: e44053. DOI: 10.1371/journal.pone.0044053.

Zethof, T. J., J. A. Van der Heyden, J. T. Tolboom und B. Olivier (1994):

Stress-induced hyperthermia in mice: a methodological study.

Physiol Behav 55: 109-115. DOI: 10.1016/0031-9384(94)90017-5.

Zhang, Z., E. Foppen, Y. Su, P. H. Bisschop, A. Kalsbeek, E. Fliers und A. Boelen (2016a):

Metabolic Effects of Chronic T3 Administration in the Hypothalamic Paraventricular and Ventromedial Nucleus in Male Rats.

Endocrinology 157: 4076-4085. DOI: 10.1210/en.2016-1397.

Zhang, Z., Y. Mao, D. Li, Y. Zhang, W. Li, H. Jia, J. Zheng, L. Li und Y. Lu (2016b):
High-level expression and characterization of two serine protease inhibitors from *Trichinella spiralis*.
Vet Parasitol 219: 34-39. DOI: 10.1016/j.vetpar.2016.02.003.

Zimmermann, T. und M. Zimmermann (2012):
Lehrbuch der Infrarotthermografie: allgemeine Grundlagen der Thermodynamik, Grundlagen der
Strahlungsphysik, Infrarot-Geräte-Technologie (für normative Stufe 1 und 2). Fraunhofer-IRB-Verlag.

Publikationsverzeichnis

Als Erstautor wurden Teilergebnisse dieser Dissertation im Journal of the American Association for Laboratory Animal Science (JAALAS; Vol. 57 No. 6) im November 2018 unter dem Titel „**Evaluation of infrared Thermography for temperature measurement in adult male NMRI nude Mice**“ bereits veröffentlicht (Fiebig et al. 2018).

Von der BAYER Pharma AG erhielt die Arbeit intern den zweiten Platz des jährlichen Tierschutz - Preises (3R - Award) in der Kategorie „Wissenschaftliche Innovation, die zum 3R Prinzip beiträgt“ und „Beiträge zur Tierhaltung und zum Tierschutz, welche die Versuchstiere direkt betreffen“. Die Verleihung des 3R - Award erfolgte in einem Bayer Pharma AG internen Rahmen am 06.12.2017 im Forschungszentrum Wuppertal, welche per Livestream im Intranet der Bayer Pharma AG übertragen wurde.

Posterpräsentationen:

2017:

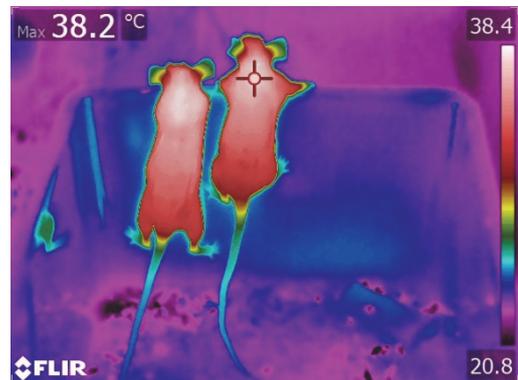
- 55. Wissenschaftlichen Tagung der GV - SOLAS und 17. Fortbildungsveranstaltung der IGTP vom 11. bis 13. September 2017 in Köln: „**Kontrolle von Nacktmäusen mittels Infrarotkamera als Refinement**“
Kerstin Fiebig^{1,2}, Thomas Jourdan¹, Martin Kock¹, Christa Thöne - Reineke²
¹ Animal Management - Animal Care¹, Bayer AG, Berlin, Deutschland; ² Institut für Tierschutz, Tierverhalten und Versuchstierkunde, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Deutschland

2018:

- 24. Internationale DVG - Fachtagung zum Thema Tierschutz vom 15. Bis 17. März 2018 im München: „**Kontrolle von Nacktmäusen mittels Infrarotkamera als angewendetes Refinement**“
Kerstin Fiebig^{1,2}, Dr. Thomas Jourdan¹, Dr. Martin Kock¹, Prof. Dr. Christa Thöne – Reineke²
¹ Animal Management - Animal Care¹, Bayer AG, Berlin; ² Institut für Tierschutz, Tierverhalten und Versuchstierkunde, Freie Universität Berlin
- 56. Wissenschaftliche Tagung der Gesellschaft für Versuchstierkunde GV - SOLAS und 18. Fortbildungsveranstaltung der IGTP vom 12. bis 14. September 2018 in München: „**Temperaturmessmethoden im Vergleich: Wärmebildkamera als Refinement**“
Kerstin Fiebig^{1,3}, Roswitha Merle², Thomas Jourdan¹, Martin Kock¹, Christa Thöne - Reineke³
¹ Animal Management Animal Care 1, Bayer AG, Berlin, Deutschland; ² Institut für Veterinär Epidemiologie und Biometrie und ³ Institut für Tierschutz, Tierverhalten und Versuchstierkunde, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin, Deutschland
- Kick - off Symposium of the 3R Centre JLU Giessen von 18. Bis 19. October 2018 in Gießen: „**Evaluation of Infrared Thermography for Temperature Measurement in Adult Male NMRI Nude Mice**“
Kerstin Fiebig^{1,3}, Thomas Jourdan¹, Martin Kock¹, Roswitha Merle², Christa Thöne - Reineke³
¹ Animal Management–Animal Care, Bayer AG, Berlin, Germany; and ²Institute of Veterinary Epidemiology and Biostatistics and ³Department of Veterinary Medicine, Institute of Animal Welfare, Animal Behavior and Laboratory Animal Science, Free University of Berlin, Berlin, Germany

Danksagung

Diese Doktorarbeit wurde an der Bayer Pharma AG in Berlin angefertigt. Ich bedanke mich insbesondere bei **Dr. Martin Kock** für die Möglichkeit dieses Projekt zu verwirklichen und dafür, dass er stets selbstständiges Arbeiten gefordert und unterstützt hat. Ich danke Ihm weiterhin dafür, dass er mich für die Methode der Thermografie begeistert hat.



Gleichsam möchte ich mich bei **Dr. Thomas Jourdan** (Bayer Pharma AG) recht herzlich bedanken für die Überlassung des Themas und die Mentoren Schafft, sowie die offenen Diskussionen jeglicher wissenschaftlichen Fragestellung.

Mein Dank geht an allen Mitarbeitern der Bayer Pharma AG innerhalb der Gruppe von Animal Care 1, insbesondere bei Sven Kirstein, Anke Reinhardt, Marina Zumpe und Jens Sandau für die mentale Unterstützung. Weiterer Dank gilt dem gesamten Team der Tierpfleger, welche mir stets geduldig selbst die grundlegendsten Dinge zum Umgang mit den Tieren und zur Tierhaltung, sowie Projektumsetzung beibrachte. Für die labortechnische Assistenz bedanke ich mich bei Natascha Manovski, Petra Maulwurf, Kathleen Busch und Oliver Schmücker, sowie Geert Bodewitz. Und für die Betreuung meiner EDV und Softwareprogrammierung möchte ich mich bei Sebastian Kuna bedanken, der mir zu jeder Zeit hilfreich zur Seite stand.

Für die Bereitstellung der Laufräder bedanke ich mich bei der Arbeitsgruppe von Professor Dr. Regitz-Zagrosek (CCR- Charité Berlin). Für die Beratung und Einweisung in die Thermografie Technik und Software der Firma FLIR bedanke ich mich bei der Firma PK Elektonik vertreten durch Herrn Pagel. Dank geht an Monique Beyer (UNO Roestvastaala BV) für die Hilfe mit der Software zur Programmierung der Datenlogger.

Die vorliegende Dissertation wäre nicht zustande gekommen, wenn ich nicht meine Promotion bei **Prof. Dr. Christa Thöne-Reineke** an Ihrem Institut am Fachbereich Veterinärmedizin durchführen durfte. Danke an Christa, für die sehr gute Betreuung. Durch dich hatte ich die Möglichkeiten bei wissenschaftlichen Fragestellungen weitere kreative Ansätze zu finden und das notwendige Durchhaltevermögen aufzubringen. Ein großes Dankeschön auch für die Geduld und Unterstützung. Herzlichst gedankt sei insbesondere **Dr. Roswitha Merle** für die Übernahme und Betreuung meiner thematischen Fragestellung.

Ich möchte mich auch für die Begutachtung der Arbeit bei Prof. Dr. Marcus Fulde bedanken.

Finanzierungsquellen

Ich habe keine entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar entgeltliche Leistungen für Arbeiten erhalten, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen.

Die Dissertationsarbeit wurde materiell und finanziell in Form einer Dissertationsstelle durch die Bayer Pharma AG unterstützt.

Wissenschaftliche Beratung wurde durch die Institute Statistischen Beratungseinheit (fu:stat), Wirtschaftswissenschaftliche Bibliothek und Veterinärmedizinische Bibliothek der FU Berlin in Anspruch genommen.

Unterstützung findet diese Arbeit durch das Programm der Dahlem Research School Biomedical Sciences (DRS) in Form des Graduiertenkollege, sowie durch die Berlin - Brandenburger Forschungsplattform BB3R für Entwicklung, Vernetzung und Verstetigung von 3R - Methoden im BB3R - Graduiertenkollege.

Zudem fand dieses Projekt Unterstützung durch ein Stipendium zu einer Kongressreise zur Vorstellung des Forschungsprojektes, welches sowohl die Ansichten auf Basis des Tierschutzes vertritt als auch einen Beitrag zur Tiergesundheit darstellt, durch die Tierseuchenforschungsstiftung der FU Berlin.

Es besteht kein Interessenskonflikt durch finanzielle Unterstützung der Arbeit.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Dissertation „Temperaturmessung mittels Wärmebildkamera, als Refinement an der Nacktmaus“ selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen Anspruch genommen habe. Die statistische Auswertung der Temperaturwerte erfolgte unter Anleitung und mit Hilfe von Frau Dr. med. vet. habil. Roswitha Merle aus dem Institut für Veterinär - Epidemiologie und Biometrie der FU Berlin.

Dingolshausen, den 07.05.2021

Kerstin Fiebig



9 783967 291131

mbvberlin mensch und buch verlag

59,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-113-1