

## **Präambel zu den „SOPs im Tierversuchsbereich NRW“**

Sowohl in der biomedizinischen Grundlagenforschung als auch in der angewandten Forschung kann derzeit ohne Gefährdung des wissenschaftlichen Erkenntnisgewinns nicht auf Tierversuche verzichtet werden. In der tierexperimentellen Forschung besteht die zwingende Notwendigkeit, die wissenschaftliche Aussagekraft von Ergebnissen und zugleich einen tierschutzgerechten und verantwortungsvollen Umgang mit Versuchstieren zu gewährleisten. Hohe Tierschutzstandards stellen dabei eine unerlässliche Voraussetzung für qualitativ hochwertige Forschung und eine Vergleichbarkeit der Versuchsergebnisse dar; zudem sind Tierversuche auch aus ethischer Sicht nur zu rechtfertigen, wenn die Qualität der Forschung und damit die Aussagekraft von Forschungsergebnissen sichergestellt sind.

In Deutschland werden durch das Tierschutzgesetz (TierSchG) sowie die auf seiner Grundlage erlassene Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV) die Voraussetzungen für die Genehmigung und Anforderungen an die Durchführung von Tierversuchen festgelegt. Demnach ist bei der Planung und Durchführung von Tierversuchen das sog. 3R-Prinzip anzuwenden. Ziel des 3R-Prinzips ist es, -wann immer möglich- Tierversuche zu vermeiden (**R**eplacement) und die Zahl der Versuchstiere (**R**eduction) und deren Belastung (**R**efinement) auf das unerlässliche Maß zu beschränken. Neben dem Beitrag zum Tierschutz sind Maßnahmen im Sinne des 3R-Prinzips die Voraussetzung für eine exzellente Qualität in der tierexperimentellen Forschung. Die Umsetzung des 3R-Prinzips ist erklärtes Ziel des 3R-Kompetenznetzwerks NRW.

Im Sinne des 3R-Prinzips wurden zum Zweck des Refinements die hier vorliegenden Standard Arbeitsanweisungen (SOP = Standard operation procedure) durch die Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ formuliert. Der Arbeitsgruppe gehören Tierschutzbeauftragte von tierexperimentell tätigen Einrichtungen in NRW, verschiedene Vertreter/-innen der Kreisordnungsbehörden sowie Behördenvertreterinnen der Genehmigungsbehörde in Nordrhein-Westfalen (Landesamt für Natur-, Umwelt- und Verbraucherschutz) an.

Die Arbeitsanweisungen dienen Antragstellenden, Tierschutzbeauftragten und Behördenvertreter/-innen als Orientierungshilfe für tierschutzgerechtes Arbeiten; sie dienen zudem der Standardisierung von heute angewandten und allgemein anerkannten Verfahrensweisen und damit der Qualitätssicherung. Die Arbeitsanweisungen sind zur Verwendung im Rahmen der Antragstellung von Tierversuchsvorhaben bestimmt. Eine Verpflichtung der Verwendung besteht nicht, gleichzeitig entbinden diese SOPs nicht von der Pflicht zur Verbesserung der Methoden, die in Tierversuchen angewendet werden. Bei der Auswahl der Methode ist das 3R-Prinzip immer zu beachten und umzusetzen.

Das Vorliegen einer Arbeitsanweisung lässt keinen Rückschluss auf die Eignung des individuellen Eingriffs für das Versuchsvorhaben zu und ist im Antrag durch die antragstellende Person begründet darzulegen (Auswahl der sinnvollsten und schonendsten Methode für das Tier!). Die Wahl des Eingriffs bzw. deren Ausführung muss als Einzelfallentscheidung erfolgen - im Zweifelsfall immer für das Tier.

Bei der Verwendung von Arbeitsanweisungen im Rahmen der Antragstellung auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens ist die jeweilige Arbeitsanweisung dem Antrag in der jeweils aktuellsten Version als Anlage beizufügen und auf die entsprechende SOP-Nr. und Version unter dem Antragspunkt 1.2.4. zu verweisen. Hierdurch kann die Durchführungsbeschreibung des jeweiligen Eingriffs im Antrag verkürzt dargestellt werden. Abweichungen von den Vorgaben der Arbeitsanweisung sind im Antrag unter 1.2.4. anzugeben und gesondert zu begründen. Bei der Verwendung einer der vorliegenden Arbeitsanweisungen ist zu berücksichtigen, dass die Mindestangaben vollständig gemäß der „Checkliste für notwendige Angaben im Antrag“, welche in der jeweiligen Arbeitsanweisung zu

finden ist, in den Antrag integriert werden müssen. Dies bedeutet u.a. das Injektions- bzw. Blutentnahmevolumenta sowie die jeweiligen Zeitpunkte explizit im Antrag zu spezifizieren sind.

Die Durchführung der Eingriffe erfolgt immer entsprechend der guten Laborpraxis und erfordert eine stressfreie Durchführung (u.a. stressfreie Umgebung, entsprechend eingewiesenes Personal zwecks Stressreduktion, vorbereitende Eingewöhnungs-/Trainingsmassnahmen). Potentielle Komplikationen sowie spezifische Abbruchkriterien bedingt durch die jeweiligen Eingriffe sind im Antrag zu benennen und im Rahmen des versuchsspezifischen Score Sheets für das Versuchsvorhaben zu berücksichtigen.

Die Belastungsbeschreibung und -bewertung des jeweiligen Eingriffs ist nicht Bestandteil der vorliegenden Arbeitsanweisungen. Diese sind individuell in Abhängigkeit von dem geplanten Versuchsvorhaben im Rahmen des Antrags auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens anzugeben. Bei der versuchsspezifischen Belastungseinschätzung sind beispielsweise auch die verwendeten Volumina sowie die zeitliche Komponente oder auch Kombinationen von verschiedenen Verfahren zu berücksichtigen.

Die SOPs können von der Homepage des 3R-Kompetenznetzwerk NRW heruntergeladen werden ([www.3r-netzwerk.nrw](http://www.3r-netzwerk.nrw)).

Die Gültigkeit der hier vorliegenden Arbeitsanweisungen beträgt 5 Jahre; danach erfolgt eine erneute Evaluierung. Sollte es innerhalb des Gültigkeitszeitraums wissenschaftliche oder behördliche Hinweise auf eine erforderliche Änderung der jeweiligen SOP geben, ist der verantwortliche Koordinator im 3R-Kompetenznetzwerk NRW zu informieren und veranlasst entsprechendes. Ausgedruckte Arbeitsanweisungen sind datiert, haben eine Gültigkeit von 24h und verlieren danach ihre Gültigkeit.

#### **Haftungsausschluss:**

Die Nutzung und Verwendung der Arbeitsanweisungen erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko der jeweiligen Nutzer/-innen oder Verwender/-innen.

Haftungsansprüche gegen das 3R-Kompetenznetzwerk NRW, die Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ sowie die Autoren/-innen für Schäden materieller oder ideeller Art oder Unfälle, die durch die Nutzung oder Nichtnutzung der Arbeitsanweisung bzw. durch die fehlerhafte Nutzung verursacht wurden, sind grundsätzlich ausgeschlossen. Schadenersatzansprüche gegen die zuvor genannten sind daher ausgeschlossen.

Die Arbeitsanweisungen inklusive aller Inhalte wurden mit größter Sorgfalt erarbeitet und Quellenangaben wurden nach bestem Wissen und Gewissen zitiert. Gleichwohl übernehmen das 3R-Kompetenznetzwerk NRW, die Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ sowie die Autoren/-innen keinerlei Gewähr und keine Haftung für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen, ebenso nicht für Druckfehler.

Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandene Folgen vom 3R-Kompetenznetzwerk NRW, der Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ sowie den Autoren/-innen übernommen werden.

Alle auf dieser Internetpräsenz verwendeten Texte, Fotos und grafischen Gestaltungen sind urheberrechtlich geschützt. Sollten Sie Teile hiervon verwenden wollen, wenden Sie sich bitte an den Seitenbetreiber. Er wird dann gegebenenfalls den Kontakt zum Urheber oder Nutzungsberechtigten herstellen

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite 1 von 4
<b><i>Isoflurannarkose (Ratte)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="18"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

SOP	<input checked="" type="checkbox"/> Neuerstellung <input type="checkbox"/> Änderung der SOP-Nr. Gründe für Änderung:
Revisionshistorie:	
Ziel der SOP:	Dieses Protokoll beschreibt die Durchführung einer Inhalationsnarkose mittels Isofluran bei Ratten.
Spezies	Ratte
Durchführende Personen:	<input type="checkbox"/> Sachkunde gemäß TierSchVersV §16 i. V. m. Anl.1 Abschn.3 <input type="checkbox"/> operativer Eingriff <input type="checkbox"/> nicht-operativer Eingriff <input type="checkbox"/> Sachkunde gemäß TierSchVersV §2 i. V. m. Anl.1 Abschn.2 <input checked="" type="checkbox"/> Sachkunde gemäß TierSchVersV §17(2) Information des Nationalen Ausschusses: <a href="https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10357-017-3212-2.pdf">https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10357-017-3212-2.pdf</a>
Methode:	Inhalationsnarkose
Prinzip der Methode:	<p>Isofluran ist ein flüchtiges Inhalationsanästhetikum mit hypnotischer und muskelrelaxierender Wirkung. Es besitzt keine analgetische Wirkung. Isofluran wird nach Inhalation rasch resorbiert und schnell über das Blut in andere Gewebe verteilt. Es eignet sich zur Einleitung und Aufrechterhaltung einer Narkose. Die Resorption und Verteilung von inhaliertem Isofluran sowie die Ausscheidung von nicht metabolisiertem Isofluran über die Lunge geschehen sehr schnell. Diese pharmakokinetischen Eigenschaften ermöglichen eine rasche Narkoseeinleitung und -ausleitung und erlauben eine leichte und schnelle Veränderung der Narkosetiefe. Isofluran sollte mit Hilfe eines genau kalibrierten Verdampfers in einem geeigneten Narkosekreislauf angewendet werden, da sich die Tiefe der Narkose schnell und leicht ändern kann. Isofluran kann mit Sauerstoff oder Sauerstoff-/Lachgasgemischen als Trägergas verabreicht werden. Lachgas wirkt beim Tier, wenn überhaupt, nur sehr gering analgetisch.</p> <p>Die Ausleitung einer Narkose mit Isofluran verläuft in der Regel reibungslos und schnell. Da Isofluran nur eine geringe analgetische Wirkung besitzt, muss bei operativen Eingriffen der Analgesiebedarf, den Angaben in der Versuchsgenehmigung entsprechend, bereits vor dem Eingriff berücksichtigt werden.</p>

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite 2 von 4
<b><i>Isoflurannarkose (Ratte)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="18"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

Benötigte Materialien/Geräte:	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Narkosegerät inkl. Isofluranverdampfer sowie die notwendigen Gaszu- und -ableitungsschläuche, Narkosefilter wird empfohlen.</li> <li>- einsehbare Kammer für die Narkoseeinleitung (in einer für das Tier angemessenen Größe)</li> <li>- Atemmaske bzw. Tubus (bei kontinuierliche Fortsetzung der Inhalationsnarkose)</li> <li>- Augensalbe bzw. Tränenersatzflüssigkeit.</li> <li>- Heizkissen/-matte oder ähnliche Vorrichtung zur adäquaten Wärmezufuhr</li> <li>- Empfohlen: Temperaturmessvorrichtung (bei mittel- bis langfristigen Narkosen &gt; 30min.)</li> </ul>
Substanzen:	Tränergase (Druckluft bzw. Sauerstoff), Isofluran
Min/Max Menge:	-
Methodenbeschreibung:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Die Funktionsfähigkeit der Narkoseanlage inkl. Anschlüsse sowie der adäquate Füllstand von Isofluran im Verdampfer wurde überprüft.</li> <li>2. Der Käfig mit der Ratte wird an den Versuchsort transferiert.</li> <li>3. Die Ratte wird auf ihr Allgemeinbefinden untersucht, um die Narkosetauglichkeit festzustellen.</li> <li>4. Beginn und Ende der Narkose sind zu protokollieren.</li> <li>5. Die Ratte wird in die nicht vorgeflutete Kammer zur Narkoseeinleitung transferiert.</li> <li>6. Isofluran (4-5 Vol-%) wird mittels Tränergas (Flussrate 0,6-1l/min) in die Kammer eingeleitet.</li> <li>7. Die Ratte wird während der Einleitung, der gesamten Narkose und Ausleitung genau beobachtet (Monitoring).</li> <li>8. Sobald eine ausreichende Tiefe der Inhalationsnarkose erreicht ist (nach ca. 2-5 Minuten), wird die Konzentration von Isofluran in Abhängigkeit von der Invasivität des Eingriffs auf 1,5-2,5 Vol-% reduziert und im weiteren Verlauf der Anästhesie bedarfsgerecht gesteuert. Die Flussrate ist ebenfalls bedarfsgerecht zu steuern.</li> <li>9. Die Ratte wird dann aus der Induktionskammer auf eine adäquate Unterlage verbracht, wo die weiteren Eingriffe durchgeführt werden.</li> <li>10. Die Ratte ist zu wärmen (Wärmekissen/-platte oder ähnlich) und ggf. die Temperatur zu kontrollieren. Applikation von Augensalbe bzw. Benetzung der Augen mittels Tränenersatzflüssigkeit in angemessenen Zeitintervallen, die ein Austrocknen der Cornea während der Narkose zu verhindern.</li> <li>11. Die Aufrechterhaltung der Isoflurannarkose erfolgt im Bedarfsfall im weiteren Verlauf über eine adäquate</li> </ol>

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite <b>3</b> von <b>4</b>
<b><i>Isoflurannarkose (Ratte)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="18"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

	<p>Nasenmaske oder Tubus. Die Narkoseüberwachung erfolgt kontinuierlich gemäß SOP-Nr. 20 (Narkoseüberwachung Ratte). Bei schmerzhaften Eingriffen ist eine prä- und perioperative Analgesie vorzunehmen und die notwendige Narkosetiefe entsprechend der SOP-Nr. 20 (Narkoseüberwachung Ratte) zu prüfen.</p> <p>12. Bei einer unzureichenden Narkosetiefe oder zu tiefen Narkose (siehe SOP-Nr. 20 Narkoseüberwachung Ratte)) ist die Isoflurankonzentration entsprechen anzupassen.</p> <p>13. Für die Ausleitung der Narkose ist die Isoflurankonzentration auf 0 Vol-% zu reduzieren.</p> <p>14. Während der Aufwachphase wird das Tier überwacht und ggf. gewärmt (nur in Einzelhaltung in Einzelkäfig/Heimatkäfig oder Aufwachbox oder ähnlichem).</p> <p>15. Nach vollständigem Erwachen wird die Maus –falls noch nicht erfolgt- wieder zurück in den Heimatkäfig gesetzt.</p> <p><u>Anmerkung:</u> Eine intra- bzw. postinterventionelle Analgesie ist in Abhängigkeit von der durchzuführenden Intervention zu verwenden (siehe Versuchsgenehmigung).</p>
Kontrollen/Dokumentation:	<p>Kontrollen erfolgen gemäß versuchsspezifischem Score Sheet der Versuchsgenehmigung bzw. den Angaben im Tierversuchsantrag. Das Score Sheet ist anzuwenden.</p> <p>Das Experiment ist entsprechend der jeweiligen Versuchsgenehmigung zu protokollieren (inkl. Scoring der Tiere). Die Dokumentation ist bis 5 Jahre nach Versuchsende aufzubewahren.</p>
Literatur:	Small Animal Imaging Basics and Practical Guide 2011 (2te Auflage 2016), Herausgeber: Kiessling, Fabian, Pichler, Bernd J. (Eds.)
Varianten:	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Isoflurannarkose zur Immobilisierung z.B. nicht-invasive Untersuchungen zu diagnostischen Zwecken: Hierbei kann auf die Erreichung des Stadiums der chirurgischen Toleranz verzichtet werden</li> <li>- Isoflurannarkose für kurzzeitige finale Eingriffe: Hierbei kann Punkt 10 der Durchführung entfallen.</li> <li>- Eine Temperaturmessvorrichtung wird empfohlen, bei kurzzeitigen Narkosen (&lt; 30min.) kann darauf verzichtet werden.</li> </ul>
Sonstiges:	-
Checkliste für notwendige Angaben im Antrag:	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Namentliche Nennung der Methode</li> <li>- Angabe der SOP-Nr.</li> <li>- Begründung für die Wahl der Narkose</li> <li>- Zeitpunkt(e) der Durchführung</li> </ul>

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite <b>4</b> von <b>4</b>
<b><i>Isoflurannarkose (Ratte)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="18"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bei der Verwendung eines Tubus ist das entsprechende Vorgehen zu beschreiben sowie die verwendete Größe des Tubus anzugeben</li> <li>- Methodenspezifische Kriterien sind im Score Sheet zu berücksichtigen</li> <li>- Im Bedarfsfall (bspw. bei länger andauernden Narkosen): Applikationsintervall von Augensalbe bzw. der Tränenersatzflüssigkeit</li> <li>- In Verbindung mit einem schmerzhaften Eingriff: intra- bzw. postinterventionelle Analgesie in Abhängigkeit von der durchzuführenden Intervention</li> <li>- Berücksichtigung der SOP-Nr. 20 (Narkoseüberwachung Ratte)</li> </ul>
--	--