

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).

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

| | |
|---|---|
| Standard Operating Procedure SOP | Seite 1 von 5 |
| <i>Narkoseüberwachung (Maus)</i> | SOP-Nr.: <input type="text" value="19"/> 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 Narkoseüberwachung bei Mäusen. |
| Spezies | Maus |
| 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: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10357-017-3212-2.pdf |
| Methode: | Narkoseüberwachung |
| Prinzip der Methode: | <p>Durch eine Narkose werden in Abhängigkeit von den verwendeten Anästhetika die Vitalparameter (Herz-, Kreislauf- und Atemparameter), die Muskelrelaxation sowie das Bewusstsein und die Schmerzempfindung beeinflusst. Um Änderungen der Vitalparameter (bspw. Herabsetzung von Atmung und Kreislauf) und der Narkosetiefe sowie etwaige Schmerzen oder Narkosezwischenfälle frühzeitig zu erkennen, ist eine stetige Überwachung der anästhesierten Maus unabdingbar. Besonderes Augenmerk bei der Erfassung der Vitalparametern bei der Maus ist auf die Atmung zu legen (visuell oder apparativ). Je nach Dauer und Art des Eingriffs wird empfohlen, dass zusätzlich die Körpertemperatur, Herzfrequenz und periphere Sauerstoffsättigung mittels entsprechender Messvorrichtungen erfasst werden. Zur Bestimmung der Narkosetiefe werden Reflexe herangezogen. Für die zuverlässige Bewertung der Narkosetiefe bzw. den Eintritt der sogenannten „chirurgischen Toleranz“ bei schmerzhaften Eingriffen bei der Maus ist der sog. Fußrückziehreflex (PWR = pedal withdrawal reflex) an der Hintergliedmaße am sensibelsten und aussagekräftigsten, da diese Reaktion als letzte erlischt aber auch als erste wieder eintritt. Der Fußrückziehreflex gilt als positiv, wenn das deutliche Zwicken in die Zwischenzehenhaut nach leichter Extension der Gliedmaße ein Zucken oder Zurückziehen der Extremität bewirkt (Arras et al, 2001).</p> |

| | |
|---|---|
| Standard Operating Procedure SOP | Seite 2 von 5 |
| <i>Narkoseüberwachung (Maus)</i> | SOP-Nr.: <input type="text" value="19"/> Version: <input type="text" value="1"/> |
| Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW | Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/> |

| | |
|-------------------------------|--|
| | <p>Im Gegensatz dazu wird ein Ausbleiben der Rückziehreflexion, also der Verlust der Fußrückziehreflex, als negativ gewertet. Der Fußrückziehreflex ist eine nozizeptive Reaktion über Reizung der Schmerzrezeptoren mit einer Weiterleitung zum Gehirn. Sie ist eng mit dem Zwischenzehnenreflex verbunden, der eine direkt über das Rückenmark verarbeitete motorische Reaktion ist (Frey & Löscher, 2005).</p> <p>Eine Erfassung weiterer Vitalparameter bspw. mittels EKG-, EEG-, Pulsoximetrie- und/oder Blutdruck-Messung erfolgt bei Mäusen standardmäßig nicht, kann aber in Abhängigkeit des potentiell geplanten chirurgischen Eingriffs erforderlich sein (Beschreibung der Durchführung ist nicht Bestandteil der SOP).</p> |
| Benötigte Materialien/Geräte: | - Ggf. anatomische Pinzette - Empfohlen: Temperaturmessvorrichtung (bei mittel- bis langfristigen Narkosen > 30min.) |
| Substanzen: | - |
| Min/Max Menge: | - |
| Methodenbeschreibung: | <p>Die Maus wird während der Einleitung, der gesamten Narkose und der Ausleitung genau beobachtet und gewärmt. Die Narkosetiefe wird unter Berücksichtigung von Vitalparametern und Reflexen überprüft:</p> <p>1. Vitalparameter:</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Atmung: Bei visueller Kontrolle wird die Atmung insbesondere im Hinblick auf das Atemmuster kontrolliert. Das Ziel ist eine ruhige, regelmäßige Brust-Bauchatmung (erkenntlich durch ein gleichmäßiges Heben und Senken des Brustkorbs mit leichter Beteiligung der Bauchmuskulatur). Eine flache, verlangsamte, stoßweise Bauchatmung spricht für eine zu tiefe Narkose (Schnappatmung), eine schnelle Brustatmung (Hecheln) bedeutet eine unzureichende Narkosetiefe. Alternativ kann die Überwachung der Atmung auch apparativ erfolgen (Beschreibung der Durchführung nicht Bestandteil der SOP). b. Herz und Kreislauf: Eine Kontrolle der Herz-/Kreislaufparameter erfolgt bei der Maus nicht standardmäßig. Eine gesteigerte Herzfrequenz deutet auf eine unzureichende Narkosetiefe hin. Apparative Messungen der Herzfrequenz, der peripheren Sauerstoffsättigung sowie des Blutdrucks (direkt oder indirekt) können in Abhängigkeit der Dauer und Art des Eingriffs zusätzlich bzw. alternativ |

| | |
|---|---|
| Standard Operating Procedure SOP | Seite 3 von 5 |
| <i>Narkoseüberwachung (Maus)</i> | SOP-Nr.: <input type="text" value="19"/> Version: <input type="text" value="1"/> |
| Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW | Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/> |

| | <p>zwecks Narkoseüberwachung herangezogen werden (Beschreibung der Durchführung nicht Bestandteil der SOP).</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Körpertemperatur: Eine kontinuierliche Überwachung der Körpertemperatur wird empfohlen. 3. Muskelrelaxation: Die Prüfung der vorhandenen Muskelrelaxation in regelmäßigen Abständen wird empfohlen. Eine schlechte Muskelrelaxation deutet auf eine unzureichende Narkosetiefe hin. 4. Fußrückziehreflex: Die Narkosetiefe wird mittels Fußrückziehreflex überprüft (mind. alle 5 Minuten sowie unmittelbar vor Beginn eines schmerzhaften Eingriffs intermittierend an den beiden Hintergliedmaßen). Hierfür wird die jeweilige Hintergliedmaße des Tieres leicht gestreckt und der Zwischenzehenbereich (Zwischenzehenhaut) zwischen den Fingerspitzen/-nägeln von Daumen und Zeigefinger fest eingeklemmt. Sollte eine manuelle Reflexprüfung nicht adäquat möglich sein, wird die Verwendung einer anatomischen Pinzette empfohlen, bei der das vollständige Schließen durch einen Sicherungsstift oder einem ähnlichen Sicherungsmechanismus verhindert wird. Dies garantiert, dass die Stärke des Reizes kontrolliert und Hautverletzungen (bspw. Quetschungen) vermieden werden. Ein deutliches Zucken oder Zurückziehen der Gliedmaße ist als positive Reaktion zu werten und bedeutet eine unzureichende Narkose. <p>Sollte eine unzureichende Narkosetiefe vorliegen, muss der laufende schmerzhaft Eingriff unterbrochen werden bzw. darf der geplante Eingriff noch nicht begonnen werden. Eine Nachdosierung der Narkose (siehe SOP Inhalations- oder Injektionsnarkose) ist unverzüglich durchzuführen. Ggf. ist ein Abbruch der Narkose abzuwägen.</p> <p>Bei einer zu tiefen Narkose ist bei einer Inhalationsnarkose die Narkosezufuhr zu unterbrechen. Bei einer vollständig antagonisierbaren Anästhesie (VAA) ist die Antagonisierung einzuleiten bzw. bei einer Infusion die Narkosezufuhr zu unterbrechen. Das Tier ist in allen Fällen zusätzlich mit Sauerstoff zu versorgen. Bei unzureichender Narkosetiefe ist entsprechend der jeweiligen Narkose-SOP eine Nachdosierung durchzuführen.</p> <p>Übersicht der Narkosestadien:</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Narkosestadium</th> <th style="width: 50%;">Reaktionen der Maus</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="height: 20px;"></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Narkosestadium | Reaktionen der Maus | | |
|----------------|--|----------------|---------------------|--|--|
| Narkosestadium | Reaktionen der Maus | | | | |
| | | | | | |

| | |
|---|---|
| Standard Operating Procedure SOP | Seite 4 von 5 |
| <i>Narkoseüberwachung (Maus)</i> | SOP-Nr.: <input type="text" value="19"/> Version: <input type="text" value="1"/> |
| Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW | Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/> |

| | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|----------------------|--|-------------------------|--|-------------------------|---|---------------------------------------|--|-----------------------------|--|----------------------|---|
| | <table border="1"> <tr> <td>I. Analgesie-Stadium</td> <td>Reduzierte Spontanmotorik, keine Muskelrelaxation, keine Analgesie bzw. keine Schmerzfreiheit!</td> </tr> <tr> <td>II. Exzitations-Stadium</td> <td>Ruderbewegungen, Zittern der Barthaare, ggf. Urinabsatz, keine Muskelrelaxation, keine Analgesie!</td> </tr> <tr> <td>III. a. Hypnose-Stadium</td> <td>Atem-/Kreislaufreaktion auf Schmerzreiz, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex positiv, keine Analgesie!</td> </tr> <tr> <td>III. b. Chirurgisches Toleranzstadium</td> <td>ruhige, regelmäßige Atmung, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex negativ, keine Reaktion auf Schmerzreiz, Analgesie!</td> </tr> <tr> <td>III. c. Depressions-Stadium</td> <td>Atmung flach und uneffektiv, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex negativ, starker Exophthalmus, keine Reaktion auf Schmerzreiz, Analgesie!</td> </tr> <tr> <td>IV. Asphyxie-Stadium</td> <td>Schnappatmung bis hin zu Atemstillstand, Muskelrelaxation, Reflexlosigkeit, Pupillen max. weit und keine Reaktion auf Licht</td> </tr> </table> | I. Analgesie-Stadium | Reduzierte Spontanmotorik, keine Muskelrelaxation, keine Analgesie bzw. keine Schmerzfreiheit! | II. Exzitations-Stadium | Ruderbewegungen, Zittern der Barthaare, ggf. Urinabsatz, keine Muskelrelaxation, keine Analgesie! | III. a. Hypnose-Stadium | Atem-/Kreislaufreaktion auf Schmerzreiz, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex positiv, keine Analgesie! | III. b. Chirurgisches Toleranzstadium | ruhige, regelmäßige Atmung, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex negativ , keine Reaktion auf Schmerzreiz, Analgesie! | III. c. Depressions-Stadium | Atmung flach und uneffektiv, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex negativ, starker Exophthalmus, keine Reaktion auf Schmerzreiz, Analgesie! | IV. Asphyxie-Stadium | Schnappatmung bis hin zu Atemstillstand, Muskelrelaxation, Reflexlosigkeit, Pupillen max. weit und keine Reaktion auf Licht |
| I. Analgesie-Stadium | Reduzierte Spontanmotorik, keine Muskelrelaxation, keine Analgesie bzw. keine Schmerzfreiheit! | | | | | | | | | | | | |
| II. Exzitations-Stadium | Ruderbewegungen, Zittern der Barthaare, ggf. Urinabsatz, keine Muskelrelaxation, keine Analgesie! | | | | | | | | | | | | |
| III. a. Hypnose-Stadium | Atem-/Kreislaufreaktion auf Schmerzreiz, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex positiv, keine Analgesie! | | | | | | | | | | | | |
| III. b. Chirurgisches Toleranzstadium | ruhige, regelmäßige Atmung, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex negativ , keine Reaktion auf Schmerzreiz, Analgesie! | | | | | | | | | | | | |
| III. c. Depressions-Stadium | Atmung flach und uneffektiv, Muskelrelaxation, Fußrückziehreflex negativ, starker Exophthalmus, keine Reaktion auf Schmerzreiz, Analgesie! | | | | | | | | | | | | |
| IV. Asphyxie-Stadium | Schnappatmung bis hin zu Atemstillstand, Muskelrelaxation, Reflexlosigkeit, Pupillen max. weit und keine Reaktion auf Licht | | | | | | | | | | | | |
| Kontrollen/Dokumentation: | Das Score Sheet ist anzuwenden. Das Experiment ist entsprechend der jeweiligen Versuchsgenehmigung zu protokollieren (inkl. Scoring der Tiere). Die Dokumentation ist bis 5 Jahre nach Versuchsende aufzubewahren. | | | | | | | | | | | | |
| Literatur: | Arras M, Autenried P, Rettich A, Spaeni D, Rülcke T. Optimization of intraperitoneal injection anesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anesthesia depth. Comp Med. 2001 Oct;51(5):443-56 Henke J, Erhardt W. Nager. In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J, Baumgartner C, Tacke S, Hrsg. Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen. 2. Aufl. Stuttgart: Schattauer | | | | | | | | | | | | |
| Varianten: | - Eine Temperaturmessvorrichtung wird empfohlen, bei kurzzeitigen Narkosen (< 30min.) kann darauf verzichtet werden. | | | | | | | | | | | | |
| Sonstiges: | - | | | | | | | | | | | | |
| Checkliste für notwendige Angaben im Antrag: | - Namentliche Nennung der Methode - Angabe der SOP-Nr. | | | | | | | | | | | | |

| | |
|---|---|
| Standard Operating Procedure SOP | Seite 5 von 5 |
| <i>Narkoseüberwachung (Maus)</i> | SOP-Nr.: <input type="text" value="19"/> Version: <input type="text" value="1"/> |
| Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW | Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/> |

| | |
|--|---|
| | - Ggfs. detaillierte Beschreibung der Methode(n) der apparativen Narkoseüberwachung im Tierversuchsantrag |
|--|---|