

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 3
CO₂-Tötung (Maus)	SOP-Nr.: <input type="text" value="24"/> 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 Tötung bei Mäusen mittels CO ₂ .
Spezies	Maus
Durchführende Personen:	<input checked="" type="checkbox"/> Sachkunde gemäß TierSchVersV §16 i. V. m. Anl.1 Abschn.3 <input type="checkbox"/> operativer Eingriff <input checked="" type="checkbox"/> nicht-operativer Eingriff <input checked="" 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:	Tötung mittels CO ₂
Prinzip der Methode:	<p>CO₂ ist ein Atemstimulans und verursacht eine respiratorische Azidose bzw. ein reversibles Anästhesiestadium durch schnelles Absenken des intrazellulären pH-Wertes, wodurch eine Dyspnoe bzw. Kurzatmigkeit hervorgerufen wird. Wenn CO₂ mit Flüssigkeiten, wie sie auf den Nasen-, Mund- und Augenschleimhäuten zu finden sind, reagiert, wird es in Kohlensäure umgewandelt. Durch die Säure werden die polymodalen Nozizeptoren aktiviert, wodurch Unwohlsein/Schmerzen bzw. Verätzungen auftreten können. Aus diesem Grund ist die Tötung mittels CO₂ ausschließlich an bereits bewusstlosen Tieren angewendet werden. Dies kann erreicht werden durch einen langsamen Anstieg der CO₂-Konzentration, da schon bei relativ geringen Konzentrationen von 30-40 % eine narkotische Wirkung eintritt, so dass potentielle Schmerzen durch Reizungen der Schleimhäute minimiert werden. Bei Konzentrationen > 60 % tritt ein Bewusstseinsverlust ein bzw. >90 % Atemnot mit Todesfolge.</p> <p>Folgende Kriterien werden im Rahmen der in der SOP beschriebenen Tötung mit CO₂ uneingeschränkt bzw. unabhängig von der verwendeten Methode umgesetzt:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Grundsätzlich werden in dem Käfig / Behältnis nur Tiere einer sozialen Gruppe getötet. 2. Die Tötung erfolgt nicht im Tierhaltungsraum.

Standard Operating Procedure SOP	Seite 2 von 3
CO₂-Tötung (Maus)	SOP-Nr.: <input type="text" value="24"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

	<p>3. Die Tiere sollten zur Vermeidung von zusätzlichem Stress in ihrem eigenen Käfig getötet werden. Wenn dies nicht möglich ist, wird sichergestellt, dass sich eventuell im für die Tötung vorgesehenen Behältnis kein Rest-CO₂ mehr im Käfig / Behältnis befindet und dass der Käfig / Behältnis gesäubert wurde.</p> <p>4. Die Größe des Behältnisses wird so gewählt, dass für jedes Tier eine physiologische Körperhaltung/-bewegung möglich ist. Die Besatzdichte sollte die geltende Haltungsdichte nicht überschreiten.</p> <p>5. Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress erfolgt die Einleitung von CO₂ geräuschlos.</p> <p>6. Es werden reines gasförmiges CO₂ sowie ein Messgerät zur Bestimmung der exakten Flussrate in die Kammer verwendet.</p> <p>7. Die konstante Kammerfüllungsgeschwindigkeit/Einflussrate von 100 % CO₂ beträgt mind. 30 % - max. 70% des Kammervolumens/Minute.</p> <p>8. Vorgaben/Auflagen der lokalen Veterinärbehörde werden berücksichtigt.</p>
Benötigte Materialien/Geräte:	<p>- automatisierte bzw. benutzerunabhängige CO₂-Tötungsanlage, die die o.a. Kriterien erfüllt oder</p> <p>- manuelle CO₂-Anlage mit Regelventil sowie Messgerät zur Bestimmung der exakten Flussrate, die die o.a. Kriterien erfüllt</p> <p>- Heimatkäfig bzw. adäquates Behältnis</p>
Substanzen:	Reines, gasförmiges CO ₂ (die Verwendung von Trockeneis oder anderen CO ₂ emittierenden Substanzen ist nicht erlaubt!)
Min/Max Menge:	-
Methodenbeschreibung:	<p>1. Der Käfig mit der Maus wird zur CO₂-Anlage transferiert.</p> <p>2. Die Funktionsfähigkeit der CO₂-Anlage inkl. Anschlüsse sowie der adäquate Füllstand von CO₂ wurde überprüft.</p> <p>3. a. Verwendung automatisierter CO₂-Anlagen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Entsprechend der Benutzeranweisung der individuellen CO₂-Anlage wird der Käfig in die jeweilige Anlage eingesetzt und diese eingeschaltet bzw. der Prozess gestartet. • Die Mäuse werden während der CO₂-Exposition genau beobachtet. • Nach Beendigung des automatisierten Prozesses ist durch Sichtkontrolle zu überprüfen, dass Atemstillstand des Tieres eingetreten ist, so dass der Käfig aus der Anlage entnommen werden kann. Nach Feststellung des Atemstillstands müssen die Tiere noch mind. 1 Minute der CO₂-Exposition ausgesetzt bleiben.

Standard Operating Procedure SOP	Seite 3 von 3
CO₂-Tötung (Maus)	SOP-Nr.: <input type="text" value="24"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

	<p>b. Verwendung einer manuellen CO₂-Anlage:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Der Käfig/das Behältnis mit aufgesetztem Deckel wird an die jeweilige CO₂-Anlage adäquat angeschlossen. • Die Durchflussrate von CO₂ wird auf die Größe des Käfigs/Behältnisses entsprechend angepasst, so dass die Kammerfüllungsgeschwindigkeit/Einflussrate mind. 30 % - max. 70% Kammervolumen/Minute beträgt (bspw. Typ II lang Gesamtvolumen von 12,45 Litern: Einflussrate 3,7 – 8,7 l/Minute). • Die Mäuse werden während der CO₂-Exposition genau beobachtet. • Durch Sichtkontrolle ist zu überprüfen, dass Atemstillstand des Tieres eingetreten ist, bevor die CO₂-Zufuhr beendet wird. Nach Feststellung des Atemstillstands müssen die Tiere noch mind. 1 Minute der CO₂-Exposition ausgesetzt bleiben. <p>4. Im Anschluss ist der Tod der Mäuse sicherzustellen bzw. die Tötung entsprechend der EU-Richtlinie 2010/63EG Anhang 4, Punkt 2 abzuschließen.</p>
Kontrollen/Dokumentation:	Die Tötung ist entsprechend der jeweiligen Versuchsgenehmigung zu protokollieren. Die Dokumentation ist bis 5 Jahre nach Versuchsende aufzubewahren.
Literatur:	AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition
Varianten:	-
Sonstiges:	Eine CO ₂ -Begasung von Föten, Neugeborenen oder Tieren mit Atemwegserkrankungen ist kontraindiziert, da diese besonders resistent gegen Hypoxie sind, was zu langen und unsicheren Begasungszeiten führt und einen vermeidbaren Stress für die Tiere darstellt.
Checkliste für notwendige Angaben im Antrag:	<ul style="list-style-type: none"> - Namentliche Nennung der Methode - Angabe der SOP-Nr. - Zeitpunkt(e) der Durchführung - Darlegung, dass alle schonenderen Tötungsmethoden nicht verwendet werden können, um das Versuchsziel zu erreichen.