

## **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>Implantation osmotische Pumpe s.c. (Maus)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="31"/> 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 subkutane Implantation einer osmotischen Pumpe (z.B. Alzet®), durch die Lösungen über einen längeren Zeitraum appliziert werden können. Je nach Art der verwendeten Minipumpe für die subkutane Anwendung an Mäusen ist eine genau definierte Applikationsdosis (0,11-8 µl/h) und -dauer über 1 Tag bis 6 Wochen möglich.
Spezies	Maus
Durchführende Personen:	<input checked="" type="checkbox"/> Sachkunde gemäß TierSchVersV §16 i. V. m. Anl.1 Abschn.3 <input checked="" 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:	Subkutane (s.c.) Implantation einer osmotischen Pumpe
Prinzip der Methode:	Mittels der beschriebenen Implantationsmethode wird eine osmotische Pumpe subkutan eingebracht. Die osmotischen Pumpen arbeiten aufgrund einer osmotischen Druckdifferenz zwischen einem Kompartiment innerhalb der Pumpe, der so genannten osmotischen Schicht, und der Gewebeumgebung, in die die Pumpe implantiert wird (hier: subkutan). Die hohe Osmolalität der osmotischen Schicht bewirkt, dass Gewebsflüssigkeit durch eine semipermeable Membran, die die äußere Oberfläche der Pumpe bildet, in die Pumpe fließt. Wenn die Gewebsflüssigkeit in die osmotische Schicht eintritt, komprimiert es das flexible Reservoir und verdrängt die Testlösung mit einer kontrollierten, vorbestimmten Geschwindigkeit aus der Pumpe (in Abhängigkeit von der Modellwahl). Da der Druckbehälter nicht nachgefüllt werden kann, sind die Pumpen nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt Die Fördermenge einer osmotischen Pumpe wird durch die Wasserpermeabilität der äußeren, semipermeablen Membran der

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite 2 von 4
<b><i>Implantation osmotische Pumpe s.c. (Maus)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="31"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

	<p>Pumpe gesteuert und ist somit unabhängig von der verwendeten Lösung.</p> <p>In Abhängigkeit von der Modellwahl der osmotischen Pumpe, die für die subkutane Implantation in Mäusen vorgesehen sind, erfolgt die Applikation mit einer Dosis von 0,11-8 µl/h über eine Dauer von 1 Tag bis 6 Wochen.</p>
Benötigte Materialien/Geräte:	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Trockenrasierer/Schermaschine</li> <li>- Hautdesinfektionsmittel</li> <li>- Augensalbe bzw. Tränenersatzflüssigkeit</li> <li>- Operationsbesteck (steril)</li> <li>- osmotische Pumpe (z.B. Alzet®) in einer vom Hersteller angegebenen und für den Zweck angemessenen Größe unter Berücksichtigung des Gewichtes des Tieres (steril; das verwendete Modell ist im Tierversuchsantrag anzugeben)</li> <li>- sterile, 0,9%ige NaCl-Lösung</li> <li>- kleines Becherglas</li> <li>- Nahtmaterial (steril) oder Wundklammern</li> <li>- Heizkissen/-matte oder ähnliche Vorrichtung zur adäquaten Wärmezufuhr</li> <li>- Empfohlen: Temperaturmessvorrichtung (bei mittel- bis langfristigen Narkosen &gt; 30min.)</li> </ul>
Substanzen:	Die Pumpen werden nach Herstellerangaben mit den in der jeweiligen Versuchsgenehmigung genannten Substanzen, Konzentrationen und Lösungsmitteln befüllt.
Min/Max Menge:	-
Methodenbeschreibung:	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Der Käfig mit der Maus wird an den Versuchsort transferiert.</li> <li>2. Die Maus wird auf ihr Allgemeinbefinden untersucht, um die Narkosetauglichkeit festzustellen.</li> <li>3. Einleitung einer adäquaten Narkose (Injektions- oder Inhalationsnarkose gemäß entsprechender SOP) unter Berücksichtigung einer adäquaten Analgesie (postoperative Analgesie ist zu berücksichtigen). Beginn und Ende der Narkose sind zu dokumentieren. Die Narkoseüberwachung erfolgt gemäß der SOP-Nr. 19 (Narkoseüberwachung Maus).</li> <li>4. Platzierung des Tieres auf einer geeigneten Unterlage. Während der gesamten Operation ist das Tier zu wärmen und eine Körpertemperatur des Tieres von 37,0-38,0°C sicherzustellen. Eine Hypo- bzw. Hyperthermie ist durch entsprechende Maßnahmen zu vermeiden.</li> <li>5. Scheren, reinigen und desinfizieren des Operationsfeldes sowie Applikation von Augensalbe bzw. Benetzung der Augen mittels</li> </ol>

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite <b>3</b> von <b>4</b>
<b><i>Implantation osmotische Pumpe s.c. (Maus)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="31"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

	<p>Tränenersatzflüssigkeit in angemessenen Zeitintervallen, die ein Austrocknen der Cornea während der Narkose zu verhindern.</p> <p>6. Nach dem Eintritt des chirurgischen Toleranzstadiums (siehe SOP-Nr. 19 (Narkoseüberwachung Maus)) erfolgt ein geeigneter Schnitt (quer zum Körper) mittels Schere oder Skalpell (max. 1 cm) an der gewählten Stelle im Nackenbereich (oberhalb der Schulterblätter) oder seitliche Brustwand.</p> <p>7. Die Klemme (alternativ: Nadelhalter, stumpfe Schere) wird in den Einschnitt gesetzt und durch Öffnen und Schließen der Backen der Klemme wird das subkutane Gewebe nach kaudal gespreizt, um so eine Tasche für die Pumpe zu bilden. Die Tasche sollte groß genug sein, um etwas freie Bewegung der Pumpe zu ermöglichen, aber nicht zu groß, so dass die Pumpe sich drehen oder abwandern könnte.</p> <p>8. Die Pumpe sollte mit steriler, 0,9%iger NaCl-Lösung zunächst befeuchtet und dann soweit in die Tasche eingeschoben werden, dass sie nicht direkt unterhalb des Einschnitts zum Liegen kommt, da dies den Heilungsprozess oder Operationsnaht beeinträchtigt.</p> <p>9. Danach wird der Einschnitt in Abhängigkeit von der Länge des Schnitts mit mehreren Einzelknopfheften vernäht (bspw. 5/0 Nadel-Faden-Kombination) oder mit Wundklammern verschlossen.</p> <p>10. Während der Aufwachphase wird das Tier überwacht und ggf. gewärmt (in Einzelkäfig/Heimatkäfig (nur bei Einzelhaltung) / Aufwachbox oder ähnlichem).</p> <p>11. Nach vollständigem Erwachen wird die Maus –falls noch nicht erfolgt- wieder zurück in den Heimatkäfig gesetzt.</p> <p>12. Die postoperative Analgesie erfolgt entsprechend den in der jeweiligen Versuchsgenehmigung gemachten Angaben.</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:	<p><a href="https://www.alzet.com/guide-to-use/implementation_and_explanation/">https://www.alzet.com/guide-to-use/implementation_and_explanation/</a>  <a href="https://vimeo.com/channels/alzet/139614384">https://vimeo.com/channels/alzet/139614384</a></p>
Varianten:	-

<b>Standard Operating Procedure SOP</b>	Seite 4 von 4
<b><i>Implantation osmotische Pumpe s.c. (Maus)</i></b>	SOP-Nr.: <input type="text" value="31"/> Version: <input type="text" value="1"/>
Autor*in: Arbeitsgruppe „SOPs im Tierversuchsbereich“ NRW	Datum: <input type="text" value="14.04.2023"/>

Sonstiges:	<p>Lässt sich das Versuchsziel nicht mit der Lebensdauer der osmotischen Pumpen erreichen, ist ein operatives Entfernen der leeren Pumpe und das Einsetzen einer neuen Pumpe entsprechend den in der jeweiligen Versuchsgenehmigung gemachten Angaben möglich.</p> <p>Eine Temperaturmessvorrichtung wird empfohlen, bei kurzzeitigen Narkosen (&lt; 30min.) kann darauf verzichtet werden.</p>
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>- Zeitpunkt(e) der Durchführung</li> <li>- Begründung für die Wahl der Methode und Lokalisationsort</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>- Verwendete Anästhesie (ggf. mit Verweis auf die SOP) sowie die intra- und postoperative Analgesie</li> <li>- Verwendetes Pumpenmodell</li> <li>- Die für die Pumpenfüllung verwendete Substanz inkl. Konzentration und Lösungsmittel (inkl. pH, isoton)</li> <li>- Reimplantationen von Pumpen unter Angabe des Zeitpunktes</li> <li>- Die Entfernung der Pumpe ist im Bedarfsfall zu erläutern.</li> <li>- Bei der Verwendung von nicht-resorbierbarem Nahtmaterial oder Wundklammern ist die Entfernung dieser unter Angabe des Zeitpunktes zu erläutern</li> </ul>