

Gesellschaft für
Versuchstierkunde



Society for Laboratory
Animal Science

GV-SOLAS

Tierärztliche Vereinigung
für Tierschutz



TVT

Ausschuss für Tierschutzbeauftragte in der GV-SOLAS und Arbeitskreis 4 in der TVT

Empfehlung zur Blutentnahme bei Versuchstieren, insbesondere kleinen Versuchstieren

Die vorliegende Empfehlung wurde verfasst für Antragsteller, Tierschutzbeauftragte und Behörden und basiert auf dem von Dr. Werner Nicklas 1995 erstellten Merkblatt der TVT „Hinweise zur Blutentnahme bei kleinen Versuchstieren“. Sie soll eine **Orientierungshilfe** für tierschutzgerechtes Arbeiten sein und der Standardisierung der heute angewandten Verfahrensweisen dienen. **Die in den Tabellen angegebenen Werte stellen Empfehlungen dar, von denen bei entsprechender experimenteller Erfordernis abgewichen werden kann, sofern die Genehmigung dazu vorliegt.** Es liegt in der Verantwortung eines Jeden, sich kontinuierlich über das neueste Wissen zur optimalen Durchführung einer bestimmten Technik an einer bestimmten Spezies zu informieren.

Die Empfehlung gliedert sich in zwei Abschnitte. Der erste Abschnitt erörtert die grundsätzlichen und technischen Fragen der Blutentnahme, der zweite Abschnitt enthält Tabellen über geeignete Methoden der Blutentnahme sowie -volumina.

Stand: Mai 2009

Blutentnahme

1. Grundsätzliches

- Unter Zugrundelegung der Physiologie des Tieres darf nicht mehr und nicht häufiger Blut abgenommen werden, als zum Erreichen des Versuchsziels nötig ist.
- Die Entnahmestelle kann Einfluss auf die klinischen Blutwerte haben.
- Bei zu schneller Entnahme kann es zum Kollabieren des Gefäßes kommen.
- Je routinierter die Blutabnahme durchgeführt wird, desto besser wird die Qualität des entnommen Blutes sein (1) und umso geringer wird das Tier durch die Abnahme belastet.
- Von Bedeutung sind auch Durchmesser und Länge der Kanülen. Lange Kanülen können bereits in der Nadel zur Blutgerinnung führen und damit den Blutfluss stoppen. Der Durchmesser sollte so groß wie möglich sein, um einen schnellen Blutfluss zu gewährleisten. Der Einsatz von 20G Kanülen hat bei Maus und Ratte nicht zu deutlicheren Gewebeschäden geführt als die Verwendung von 25G Kanülen (2).
- Soll die Abnahme aus einem Blutgefäß erfolgen, aus dem die betreffende Person noch nie Blut abgenommen hat, ist es empfehlenswert, das Gefäß zunächst an einem toten Tier zu präparieren, um sich mit der Lokalisation vertraut zu machen. Die Blutabnahme am lebenden Tier muss anfänglich unter fachkompetenter Aufsicht erfolgen.
- Ein Nüchternsetzen vor der Blutentnahme von Nagern und Kaninchen ist im Gegensatz zu Katze, Hund und Schwein kontraproduktiv.

Das Vorgehen bei der Blutentnahme ist von verschiedenen Faktoren abhängig, die zuvor bedacht werden müssen:

a. *Gewünschte Qualität des Blutes?*

steril - unsteril

arteriell - venös - Mischblut

Verunreinigungen (Dekapitation, Kappen der Schwanzspitze, Punktion der Zungenvene)

Hämolyse

zeitlicher Abstand von der Futteraufnahme

(keine Nahrungskarenz bei Nagern und Kaninchen)

b. *Entnahmefrequenz?*

einmalig - mehrmalig

zeitliche Abstände zwischen Blutentnahmen

c. *Finale Blutentnahme?*

d. *Gewünschte Blutmenge?*

Die Vorgehensweise bei der Blutentnahme richtet sich nach den oben genannten Faktoren. Für jeden Einzelfall gibt es mehr oder weniger gut geeignete Verfahren.

Es ist sehr wichtig, dass die Tiere durch häufigen und behutsamen Umgang an die Hand gewöhnt und auf die Blutentnahme vorbereitet werden. Der Einsatz von Belohnungen kann dabei sehr hilfreich sein. Durch diese Maßnahmen kann der Grad der Beunruhigung und damit der Belastung der Tiere erheblich vermindert werden.

Grundsätzlich sollen Blutentnahmetechniken gewählt werden, die das Tier möglichst wenig belasten. Wenn diese Punkte beachtet werden, wirkt sich dies sowohl auf das Tier (geringerer Stress) als auch auf die Blutqualität (geringere Beeinflussung von Blutparametern durch Stress) positiv aus.

Narkosen sind bei einigen Entnahmetechniken aus Tierschutzgründen zwingend erforderlich und führen bei den Kontrolltieren ebenfalls zu entsprechenden Veränderungen.

Zu berücksichtigen ist, dass auch das Narkosemittel Kreislauf- und Blutparameter beeinflussen kann (z.B. führen Injektionsnarkosen häufig zu Vasokonstriktion).

2. Lokalisationen für Blutentnahmen (s. auch Tab. 2)

Punktion der Ohrvene

Beim Kaninchen (Ohrrandvene) und beim Meerschweinchen lassen sich durch Punktion meist nur kleine Blutvolumina gewinnen. Oft reicht eine Stauung des Gefäßes durch Fingerdruck aus. Bei anderen kleinen Versuchstieren spielen diese Blutgefäße keine Rolle für die Blutentnahme. Eine Narkose ist für die Punktion von Ohrvenen nicht notwendig. Ein Anschneiden der Vene ist nicht tierschutzgerecht.

Punktion der zentralen Ohrarterie

Beim Kaninchen können - natürlich abhängig vom Körpergewicht - bis zu 30 ml Blut aus der Ohrarterie entnommen werden, ohne dass eine Narkose nötig ist und ohne dass es zu wesentlichen Belastungen für das Tier kommt. Hierfür ist das Tier so zu fixieren, dass es sich während der Entnahme nicht verletzen kann*. Eine leichte Hyperämie an der Ohrspitze (siehe unten) reicht bereits aus, um die Arterie so stark anschwellen zu lassen, dass sie mit einer Kanüle gut punktiert werden kann. Sinnvollerweise ist eine Butterflykanüle zu verwenden. Nachteil der Blutentnahme aus einer Arterie ist das hohe Risiko der Hämatombildung oder von Nachblutungen. Deshalb **muss** nach der Blutentnahme die punktierte Arterie an der Punktionsstelle oder proximal davon ausreichend lange (mitunter bis zu 5 Minuten) komprimiert werden, um die Blutung sicher zu stillen. Eine Kontrolle nach weiteren 5 bis 10 Minuten ist anzuraten.

* Die Fixierung sollte entweder tierschutzkonform von einer Hilfsperson durchgeführt werden (beide Unterarme auf dem Rücken des Kaninchens, Bauch der Hilfsperson drückt Becken des Kaninchens auf eine rutschfeste Unterlagen) oder mit einem abgeschnittenen Hosenbein mit Klettverschluss an einem Ende (Kaninchen gehen gern hinein, der Verschluss wird in der Halsregion so fixiert, dass der Kopf herausguckt und alle vier Gliedmaßen im Hosenbein sind, hinteren Teil des Beins dann umschlagen). Pyrogenboxen sind weniger geeignet, da hier Verletzungsgefahr bei plötzlicher Bewegung besteht.

Punktion des retrobulbären Venenplexus

Bei Maus, Hamster und Ratten können mit dieser Methode schnell größere Mengen Blut gewonnen werden. In kurzer Vollnarkose, z.B. mit Isofluran, staut man durch Nackengriff bei den kleinen Nagern die Halsvenen. Mit einer **nicht abgebrochenen** (mit Fingerkuppe überprüfen) **und in der Regel nicht heparinisierten** (Gefahr der Nachblutung) Kapillare geht man unter Druck und leicht drehenden Bewegungen im inneren Augenwinkel in Richtung gegenüberliegendes Kiefergelenk durch die Bindehaut und punktiert den Venenplexus.

Kommt nicht sofort Blut, die Kapillare minimal zurückziehen. Bei Maus und Hamster sollten Kapillaren von **0,8 mm Außendurchmesser** verwendet werden, bei Ratten sind auch solche mit 0,9 mm Außendurchmesser vertretbar. Eine Verdopplung des Durchmessers ergibt eine vierfach größere traumatisierte Fläche. Vor dem Entfernen der Kapillare den Nackengriff lockern, um Blutungen in das Gewebe so gering wie möglich zu halten. **Wiederholte Blutentnahme an einem Auge frühestens nach zwei Wochen!**

Einige Untersuchungen zur Auswirkung von Punktionen des retrobulbären Venenplexus bei der Ratte ergaben, dass bei sachgerechter Durchführung nennenswerte Beeinträchtigung des Wohlbefindens nicht auftreten (3, 4), obschon bei Ratten Aktivitätsänderungen innerhalb der ersten 20 Stunden nachgewiesen wurden (5).

Für **Ratten** wird diese Abnahmetechnik nur bis zu einem Alter von **maximal einem halben Jahr** empfohlen, da später das Fettgewebe im Bereich des Venenplexus die Kapillare verstopfen kann.

Punktion der Vena facialis (Unterkieferbereich)

Diese Methode ist **ausschließlich** bei Mäusen zu verwenden. Wie bei anderen Verfahren auch ist ein gutes Training erforderlich. Es wird kein Restraîner (Fixationsapparat) und auch keine Narkose benötigt. Es ist zu beachten, dass es stammspezifische Unterschiede für die Einstichstelle gibt. Mit einer 4 – 5,5 mm Lanzette wird 3 - 4 mm dorsokaudal des

Haarwirbels am Unterkiefer punktiert; so können – abhängig vom Körpergewicht – bis maximal 300 µl (bei großen Mäusen) Blut gewonnen werden. Anschließend für eine Minute die Einstichstelle komprimieren, um Hämatome zu vermeiden. Wichtig für den Erfolg bei der Anwendung dieser Methode sind die korrekte Fixation des Tieres (Stauung der Vene durch Zurückziehen der Gesichtshaut - „face lifting“) und die richtige Einstichtiefe (6), die bei Verwendung der o. g. Lanzetten gewährleistet ist. Nicht zu lange stauen, da stammspezifische Todesfälle auftreten können.

http://www.medipoint.com/html/directions_for_use1.html

Punktion der Vena sublingualis

Die ursprünglich beschriebene Technik (7) wurde verfeinert (8), ist aufwendiger, erfordert den Einsatz zweier Personen und **muss in Narkose** durchgeführt werden. Die Punktion kann bei Hamstern Meerschweinchen und Ratten angewendet werden. Das Tier wird von der ersten Person so im Nacken gegriffen, dass es zu einem leichten Stau des venösen Rückflusses aus dem Kopfbereich kommt und auf den Rücken gedreht. Die zweite Person fixiert die Zunge mit Daumen und Zeigefinger. Die beiden sublingualen Venen stellen sich neben der Medianlinie dar und können mit einer 23G-Nadel angestochen werden. Die Ratte wird wieder auf den Bauch gedreht und über ein Auffanggefäß gehalten, in das das Blut tropfen kann. Das Tier ist möglichst waagrecht zu halten, um eine versehentliche Aspiration von Blut zu vermeiden. Anschließend muss der Nackengriff gelockert werden und eine Blutstillung kann mit Eisenchloridlösung (20 – 30 %) und Wattestäbchen erfolgen. Sollte es in Ausnahmefällen zu einer Futterverweigerung von mehr als einem Tag kommen, ist das Tier einzuschläfern (9).

Punktion der Vena jugularis

Die Blutentnahme aus der Vena jugularis erfolgt bei den Versuchstierarten, bei denen die Vene frei präpariert werden muss (z. B. Hamster, Meerschweinchen, Frettchen), unter Narkose. Bei größeren Tierarten (z. B. Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Pferd, Hund, Katze) genügt eine Stauung und direkte Blutentnahme durch die Haut.

Frettchen: <http://www.labanimal.com/laban/journal/v35/n9/pdf/laban1006-23.pdf>

Punktion des Venenwinkels

Maus, Ratte, Rennmaus oder Meerschweinchen werden **narkotisiert auf dem Tisch liegend** in Rückenlage verbracht, die Vorderbeine werden dabei am Körper entlang nach kaudal gestreckt und die Hinterbeine fixiert, um eine Veränderung der Lage während der Blutabnahme zu vermeiden. Der Venenwinkel, die Einmündung der Vena jugularis interna in die Vena jugularis externa, befindet sich in dieser Stellung unterhalb der Clavicula (Schlüsselbein). Im kranialen Halsbereich in Richtung gegenüberliegendes Knie und unter die Clavicula stechen. Kaudal des Schlüsselbeins kann auch der Venenwinkel durch senkrechten Einstich punktiert werden. Mit dieser Methode sind steril und zügig größtmögliche Blutmengen zu gewinnen. Bei **geübter** Vorgehensweise sind Hämatome und Lungenverletzungen weitgehend auszuschließen. **Ungeübte** Vorgehensweise hat Lungenverletzungen und Todesfälle zur Folge (10, 11, 12).

Punktion der Schwanzvene

Bei Mäusen und Ratten lassen sich aus den Schwanzvenen kleine Mengen Blut (einzelne Tropfen) durch Punktion mit einer Nadel gewinnen. Oft genügt eine leichte Stauung der Blutgefäße durch Fingerdruck am Schwanzansatz (13). Für die Abnahme größerer Volumina (200 µl Maus; 1 ml Ratte) sind die beiden Kollateralvenen rechts und links im mittleren Drittel des Schwanzes geeignet. Nach Fixierung in einem Restraîner sollte eine Hyperämisierung des Schwanzes (s. 3.) erfolgen. Das mittlere Drittel des Schwanzes wird über den Zeigefinger gelegt. Die Kanüle (22-23 G, Konus abgesägt) wird in der Krümmung in einem flachen Winkel (fast parallel) in die Vene in Richtung Schwanzwurzel platziert (14). Durch anschließendes Aufsetzen von Hämatokritröhrchen auf die Nadel kann man sich deren Kapillarwirkung zunutze machen, das Blut lässt sich aber ebenso in Gefäßen auffangen. Wesentlich für eine erfolgreiche Abnahme ist eine **ruhige Atmosphäre**, da Stress zu einer Vasokonstriktion führt.

Auch bei bestimmten Primaten (z. B. Marmosets), bei Frettchen oder bei Rindern ist die Schwanzvene gut für eine Blutentnahme geeignet.

Schwanzspitzenamputation und Inzision der Schwanzvene

Eine Amputation der Schwanzspitze bei Maus und Ratte von mehr als 5 mm ist nicht akzeptabel. Eine entsprechende Blutstillung ist vorzunehmen. Bei älteren Tieren soll diese Blutabnahmetechnik nicht angewendet werden.

Eine wiederholte Inzision der Schwanzvene sollte vermieden werden (15), da dies bei Ratten zur Granulombildung führen kann.

Punktion der Vena saphena

Die Blutentnahme aus der Vena saphena wurde erfolgreich bei Maus, Ratte, Hamster, Rennmaus, Meerschweinchen, Kaninchen, Nerz, Frettchen, Hund, Katze und Schwein angewandt (16, 17). Dem fixierten Tier sollte die Vene oberhalb des Kniegelenkes gestaut werden. Mäuse lassen sich gut in einem Falconröhrchen, dem für die Luftzufuhr die Spitze abgeschnitten wurde, fixieren.

Für das Meerschweinchen stellt es die Methode der Wahl dar, obwohl bei dieser Spezies die Vene auch im gestauten Zustand häufig nicht sicht- und tastbar ist. Bei einem Einstich direkt lateral der Achillessehne im mittleren Drittel des Unterschenkels in einem Winkel unter 45° sollte die Punktion zuverlässig gelingen.

Es können bis zu 5 % des Gesamtblutvolumens mit dieser Methode gewonnen werden. Die Vene stellt sich sichtbarer dar, wenn das Gebiet rasiert und mit Alkohol desinfiziert wird (18).

Maus: http://www.uib.no/vivariet/mou_blood/Blood_coll_mice_.html

Punktion von Aorta, Vena cava und anderen großen Blutgefäßen

Beim Schwein ist die Blutentnahme aus der V. cava cranialis bzw. V. brachiocephalica die Methode der Wahl, wenn größere Blutvolumina (> 5 ml) entnommen werden sollen. Bei Hund und Katze ist eine Blutentnahme aus der V. cephalica antibrachii oder der V. saphena gut möglich. Beim Hund eignet sich auch die Entnahme aus der V. jugularis.

Bei kleineren Tierarten kommt die Blutentnahme aus großen Blutgefäßen überwiegend bei finaler Blutentnahme in Betracht. Insbesondere bei kleinen Nagern, wie z. B. Ratte und Maus, ist ein Entbluten durch Punktion der Bauchaorta oder der Vena cava caudalis (am günstigsten auf Höhe der rechten Niere) sehr gut geeignet, um eine hohe Ausbeute zu erhalten. In tiefer Narkose wird die Bauchhöhle eröffnet und das Gefäß unter Sichtkontrolle punktiert (23G) oder eröffnet.

Eine Blutentnahme aus der Vena femoralis ist weniger gebräuchlich. Sie ist jedoch bei verschiedenen Tierarten (z. B. Ratte, Frettchen, Affe) möglich und erfolgt beim narkotisierten Tier in Rückenlage. Bei kleineren Tieren ist eine Punktion dieses Blutgefäßes nicht üblich.

Herzpunktion (nur final)

Die Versuchstiere werden dazu narkotisiert und in Rücken- oder Seitenlage fixiert. Die Kanüle wird senkrecht zur Körperoberfläche von lateral oder ventral neben dem Sternum durch die Haut gestochen, bis man die Pulsation des Herzens spürt und Blut durch die Kanüle austritt. Eine günstige Punktionsstelle ist der Bereich, in dem der Herzspitzenstoß am deutlichsten fühlbar ist. Ähnlich gut ist auch die Punktion in der Medianlinie hinter dem Xiphoid (in Rückenlage). Es ist wichtig, die Blutabnahme langsam durchzuführen, da ein zu hoher negativer Druck zum Herzkollaps führen wird, der eine weitere Abnahme nicht zulässt. Da die Herzpunktion nur bei finalen Experimenten durchgeführt werden soll (19), kann das Herz auch am eröffneten Brustkorb punktiert werden (insbesondere bei Nagetieren).

3. Erzeugung einer Hyperämie bzw. einer Dilatation von Blutgefäßen

Bei der Blutentnahme aus Blutgefäßen des Ohres (bes. bei Blutentnahme aus der Ohrarterie) oder der Schwanzvene (bei Maus und Ratte) ist vor der Punktion des Gefäßes meist eine Vasodilatation hilfreich. Bei Kaninchen oder Schweinen reicht oft ein leichtes Klopfen auf das Ohr mit den Fingerspitzen aus, bei Kaninchen lässt sich auch durch Auszupfen von Haaren über der Einstichstelle eine gute Hyperämie erzeugen. Derselbe Effekt kann auch durch leichtes Erwärmen des Ohres, z. B. mit einer Wärmelampe, erzielt werden. Auch für die Dilatation der Schwanzvenen bei Nagern ist lokale Wärmeanwendung gut geeignet (kurzfristiges Eintauchen des Schwanzes in Wasser von ca. 45 °C; dabei die Schwanzspitze aus dem Wasser heraus zu halten, da sie besonders empfindlich ist). Die in manchen Publikationen empfohlene Erwärmung des gesamten Körpers (Infrarotlampe) ist vorsichtig vorzunehmen, da es zum Anstieg der Körperkerntemperatur auf über 42 °C kommen kann.

Die Verwendung von Xylol und ähnlichen Stoffen, die durch eine Reizung der Haut (Hautnekrosen) eine Hyperämie bewirken, ist aus Tierschutzgründen zu untersagen. Auch von hyperämisierenden Salben ist abzuraten, da sie die Haut austrocknen und durch die Fellpflege oral aufgenommen werden können.

4. Entnahme kleiner Blutmengen (s. Tabellenangaben) (einige Tropfen, wenige ml bei größeren Tieren)

Kleinere Volumina erhält man bei Ratte und Maus durch Punktion der Schwanzvene (wenige Tropfen), bei Kaninchen und Meerschweinchen durch Punktion der Ohrrendvene, bzw. der V. saphena. Dabei kann die Verwendung von kleinlumigen Flügelkanülen beim Kaninchen vorteilhaft sein, da sie eine größere Flexibilität gegenüber unbeabsichtigten Bewegungen bieten. Bei Hühnern kann aus dem Kamm oder aus der Flügelvene eine kleine Menge Blut entnommen werden.

5. Einmalige Entnahme größerer Blutmengen

Größere Blutmengen werden bei Tieren bis etwa Kaninchengröße durch Herzpunktion (nur final), bei größeren Tierarten meist durch Punktion von großen Blutgefäßen (z.B. Vena jugularis, Ohrvene, bei Kaninchen auch Ohrarterie) gewonnen. Wenn ein Tier überleben soll, darf zur Vermeidung von Belastungen die maximal empfohlene Blutentnahmemenge nicht überschritten werden. Diese Blutmenge hängt von vielen Faktoren wie Tierart, Rasse, Gewicht, Geschlecht, Alter, Ernährungs- und Gesundheitszustand ab. Bei größeren Tieren einer Art ist das Blutvolumen, bezogen auf das Körpergewicht, kleiner als bei kleineren Tieren derselben Spezies. Eine exakte Bestimmung des Blutvolumens ist schwierig durchzuführen, so dass meist grobe Schätzungen vorgenommen werden. Anhaltspunkte zur Schätzung des Blutvolumens sind für einige Tierarten in der Tabelle 1 zusammengestellt.

Die Entnahme von bis zu 10 % des Blutvolumens wird in der Regel ohne erkennbare Nebenwirkungen vertragen. Ab einer Entnahmemenge von 10 % werden allerdings bereits Kompensationsmechanismen in Gang gesetzt (15). Um Nebenwirkungen zu vermeiden (Blutdruckabfall, Nekrosen der Magenschleimhaut, Erhöhung der Spiegel von Nebennieren- oder Hypophysenhormonen als Indikatoren für Stress, Reduzierung des Hämoglobingehaltes im Blut) (20), ist das entnommene Blutvolumen durch körperwarmer sterile isotone Kochsalzlösung zu substituieren.

HINWEIS: Unter Praxisbedingungen wird häufig die **nicht korrekte** Regel angewandt, das Blutvolumen mit 10 % des Körpergewichtes anzusetzen und 10 % dieses Volumens zu entziehen. Die sich daraus ergebende maximale Entnahmemenge von 1 % des

Körpergewichtes ergibt zu hohe Werte, da das reale Blutvolumen bei Säugern ca. 6 – 8 % des Körpergewichtes beträgt.

6. Wiederholte Blutentnahmen

Bei wiederholter Blutentnahme, insbesondere bei der Entnahme kleiner Volumina in sehr kurzen Zeitabständen, sind ein Verweilkatheter oder vollständig implantierbare Kathetersysteme sinnvoll und für die Tiere weniger belastend als eine wiederholte Gefäßpunktion (Details bei 4, 15, 21, 22). Zu beachten ist, dass trotz Verwendung solcher Systeme der Corticoidspiegel bei häufigen Entnahmen deutlich höher liegt als bei weniger Entnahmen im gleichen Zeitraum (23). Eine alternative Methode für pharmakokinetische Untersuchungen stellt die peritoneale Mikrodialyse dar (24).

Die Erholungsphase nach einer Blutentnahme richtet sich nach der entnommenen Blutmenge. Bei dem maximal akzeptablen Entzug von 10 % des geschätzten Blutvolumens ist eine Erholungsphase von grundsätzlich mindestens 2 Wochen notwendig. Bei häufigerer Blutentnahme sollte die wöchentlich entnommene Menge 7,5 % des Blutvolumens nicht überschreiten. Als Faustzahl gilt, dass einem Versuchstier pro Tag maximal 1 % des Blutvolumens entnommen werden darf. Im Regelfall (gesundes, erwachsenes, normal ernährtes Tier) entspricht dies ungefähr 0,6 ml/kg KG/Tag.

7. Entbluten

Zum Entbluten muss ein Tier **grundsätzlich betäubt** werden. Es verstirbt in der Narkose durch Blutentzug (insbesondere bei nicht eröffneten Tieren muss der Eintritt des Todes kontrolliert werden!). Ausnahme: tierschutzgerechte Dekapitation von Ratte und Maus.

Kleinere Tiere bis etwa Rattengröße lassen sich auch gut durch Punktion der großen Bauchartern oder des Herzens am eröffneten Tier entbluten. Größere Tierarten wie etwa Kaninchen, Hund und Katze werden üblicherweise durch Herzpunktion oder aus einer freigelegten Carotis entblutet.

8. Aufarbeitung des Blutes

Aus Tierschutzgründen ist eine unnötige, wiederholte Blutabnahme zu vermeiden. Daher ist vor der Blutabnahme sicherzustellen, dass die weitere Aufarbeitung des Blutes lege artis erfolgt.

9. Belastungen durch Blutentnahmen

Bei Einhaltung der empfohlenen Maximalmengen und Mindestabstände zwischen Blutentnahmen ist im Regelfall von einer geringen bis mäßigen Belastung (Dauer < 1 Tag) als Folge des Blutentzuges auszugehen. Wenn aus der Sicht des Tierschutzes die Belastung für ein Tier bei Kinetikstudien zu groß ist, kann der Einsatz von Dauerkathetern die Belastung minimieren.

Die gesamte Problematik von biologischen Effekten durch Blutverluste, bedingt durch einzelne oder wiederholte Blutentnahmen, ist ausführlich bei Mc Guill & Rowan (1989) beschrieben (20). Die Autoren diskutieren auch die Eignung unterschiedlicher Entnahmetechniken bei Ratte, Maus und Kaninchen. Techniken der Blutentnahme werden ausführlich von Grice (1964), Herbert & Kristensen (1986) sowie von Iwarsson et al. (1994) beschrieben (25 – 27).

Tab. 1: Durchschnittliches Blutvolumen bei verschiedenen Tierarten¹

Spezies	Gesamtvolumen		Hämatokrit (%)	Geschätztes absolutes Blutvolumen bei angegebenem Gewicht (ml)	Anwendungsbeispiel Blutentnahme ² (ml) bei angegebenem Körpergewicht		
	ml/kg KGW	% KGW			einmalig ³ (max. 10 %)	täglich ⁴ (1 %)	final ⁵
Maus (25 g)	74 (70 - 80)	6,6	42 (33 - 50)	1,7	0,17	0,02	0,7 – 1,0
Ratte (300 g)	64 (50 - 70)	6,4	46 (40 - 61)	19	1,9	0,2	10
Meerschweinchen (400 g)	75 (65 - 90)	7,5	44 (37 - 50)	30	3,0	0,3	15
Goldhamster (100 g)	78 (65 - 80)	7,8	51 (39 - 59)	7,8	0,7	0,07	3,5
Mongolische Rennmaus (100 g)	67 (60 - 85)	6,7	48 (40 - 52)	6,7	0,7	0,07	3,3
Frettchen (800 g)	75 (60 - 80)	7,5	45 (38 - 54)	60	6,0	0,6	30
Kaninchen (3,2 kg)	56 (45 - 70)	5,6	41 (31 - 50)	180	18	1,8	90
Hund (15 kg)	86 (79 - 90)	7,5	50 (42 - 58)	1130	113	11,3	565
Katze (3 kg)	56 (47 - 66)	5,6	38 (30 - 45)	168	17	1,7	84
Huhn (1,1 kg)	65 (60 - 90)	6,5	34 (25 - 45)	71	7,1	0,7	36
Marmoset (350 g)	70 (58 - 82)	7,1	45 (37 - 52)	25	2,5	0,25	12
Rhesusaffe (9 kg)	54 (44 - 67)	5,4	41 (33 - 50)	480	48	4,8	240
Minipig (20 kg)	65 (61 - 68)	6,5	39 (30 - 50)	1300	130	13	650
Schaf (50 kg)	66 (55 - 80)	6,6	32 (26 - 37)	3300	330	33	1650
Ziege (40 kg)	70 (57 - 90)	7,0	33 (26 - 37)	2800	280	28	1400
Rind (400 kg)	57 (52 - 61)	5,7	40 (33 - 50)	22800	2280	228	11400
Pferd (300 kg)	75 (56 - 118)	7,5	33 (26 - 42)	22500	2250	225	11250

¹ Unterschiede bezüglich Rasse, Stamm und Alter sind möglich; der prozentuale Anteil ist bei fettleibigen Tieren geringer als bei normalgewichtigen.

² Diese Abnahmemengen gelten für gesunde, erwachsene Tiere. Möglicherweise tolerieren Tiere nach experimentellen Manipulationen oder kranke, alte oder gestresste Tiere nicht die gleichen Blutentnahmemengen.

³ sich anschließende Erholungsphase von mindestens 2 – 3 Wochen

⁴ tägliche Blutabnahmemenge über max. 2 Wochen, anschließende Erholungsphase von mindestens 2 – 3 Wochen

⁵ in Narkose; ca. 50 % der Blutmenge (empirischer Wert)

Tab. 2: Lokalisationen für Blutentnahmen

	Maus	Ratte	Hamster	Renn- maus	Meer- schwein- chen	Kanin- chen	Hund, Katze	Huhn	Schwein	Schaf, Ziege	Rind, Pferd
Ohrvene					K	K			K		
Ohrarterie						G					
Retrobulbärer Venenplexus ¹	G	(G)	G	K							
V. facialis	G										
Kamm (Huhn)								K			
V. jugularis			G		(E) ¹	(E) ¹	G		K, G	K, G	K, G
Venenwinkel	G ¹	G ¹	G ¹	G	G ¹						
V. cephalica antebrachii							K, G				
V. saphena	K	K	K	K	K	K	K, G		K, G		
Schwanzvene	K, G	K, G		K							K (Rind)
V. cava ²	E	E	E		E	E			K ³ , G ³		
V. sublingualis		K	K		K						
Flügelvene (V. ulnaris)								K			
Aorta, große Baucharterien ⁴	E	E	E		E	E					
Herz ⁵	E	E	E		E	E	E	E	E	E	E

Legende:

K = geeignet für kleine Blutmengen; G = geeignet für größere Blutmengen; () = bedingt geeignet; E = geeignet zum Entbluten

¹ nur in Narkose; ² in Narkose bei eröffneter Bauchhöhle bzw. eröffnetem Brustkorb (außer beim Schwein), ³ V. cava cranialis bzw. V. brachiocephalica;

⁴ in Narkose bei eröffneter Bauchhöhle bzw. eröffnetem Brustkorb, ⁵ nur final in Narkose

Tab. 3: Maus

Entnahmemenge und -häufigkeit	Entnahmeort	Besondere Erfordernisse	Geschätzter Belastungsgrad und Dauer
<p>1. Kleine Blutmenge (0,02 - 0,04 ml)</p>	<p>a) Schwanzvene b) Amputation der Schwanzspitze c) Retrobulbär d) V. facialis e) V. saphena</p>	<p>b) ausschließlich bis zum Absetzalter c) Narkose, (z.B. Isofluran), Glaskapillare mit 0,8 mm Außendurchmesser, Heparinisierung unnötig)</p>	<p>a, gering, < 1 Tag b-e) gering – mäßig, < 1 Tag</p>
<p>2. Einmalige maximale Blutmenge (s. Tab. 1) Erholungsphase: 2 Wochen</p>	<p>a) Retrobulbär b) Schwanzvene c) Venenwinkel d) V. facialis</p>	<p>a) wie unter 1c) beschrieben b) Kanüle: 24 - 26 G c) Narkose; Kanüle: 23 - 25 G</p>	<p>gering - mäßig, <1 Tag</p>
<p>3. Wiederholte Entnahme (s. Tab. 1) Bei Erreichen der maximal zu entnehmenden Gesamtblutmenge Erholungsphase: 2 Wochen</p>	<p>Mehrfachabnahme innerhalb von 24 h: Schwanzvenen Tägliche bzw. wöchentliche Abnahme: a) Schwanzvenen b) V. facialis c) V. saphena d) Retrobulbär</p>	<p>Bei allen Entnahmearten alternierende Entnahmestellen wählen. d) Narkose, pro Auge maximal zwei Abnahmen im Abstand von 14 Tagen</p>	<p>gering - mäßig, < 1 Tag</p>
<p>4. Finale Entnahme (Entbluten)</p>	<p>a) Kardial b) Aorta, V. cava c) Dekapitation</p>	<p>a, b) Narkose c) auch ohne Narkose möglich</p>	<p>a - c) gering</p>

Tab. 4: Hamster und Mongolische Rennmaus

Besonders beim Goldhamster ist bei wiederholten Manipulationen auf möglichst belastungsarmes Handling zu achten, da die Tiere sonst zunehmend aggressiv werden. Bei kleineren Hamsterarten (z.B. Chinesischer Zwerghamster) sind nur wenige der angegebenen Methoden zur Blutentnahme geeignet. Beim Gerbil/ Mongolische Rennmaus (*Meriones unguiculatus*), sind **alle** Manipulationen am Schwanz besonders vorsichtig vorzunehmen, da sonst Hautdefekte auftreten. Soweit nichts anderes aufgeführt, gelten die im Folgenden angegebenen Verfahren für beide Spezies (Kanülengröße s. Maus).

Entnahmemenge und -häufigkeit	Entnahmeort	Besondere Erfordernisse	Geschätzter Belastungsgrad und Dauer
1. Kleine Blutmenge 0,02 - 0,04 ml	a) V. saphena b) Schwanzvene bei Rennmaus	Narkose (z.B. Isofluran)	gering, < 1Tag
2. Einmalige maximale Blutmenge (s. Tab. 1) Erholungsphase: 2 Wochen	a) Retrobulbär b) V. saphena c) Schwanzvene bei Rennmaus d) Punktion des Venenwinkels	a, d) Narkose (z. B. Isofluran) a) Kapillare mit 0,8 mm Außendurchmesser	gering - mäßig, < 1Tag
3. Wiederholte Entnahme (s. Tab. 1) Bei Erreichen der maximal zu entnehmenden Gesamtblutmenge Erholungsphase: 2 Wochen	a) Venenverweilkatheter in der V. jugularis b) Kanülierung der lateralen Schwanzvene bei Rennmaus	a) geschützte Katheterausführung: Polyethylen, Durchmesser 0,2 mm b) Fixierrohre verwenden	a) gering - mäßig; je nach Dauer und Häufigkeit b) gering, < 1 Tag
4. Finale Entnahme (Entbluten)	a) Kardial b) V. cava c) Aorta	Narkose	gering

Tab. 5: Ratte

Entnahmemenge und -häufigkeit	Entnahmeort	Besondere Erfordernisse	Geschätzter Belastungsgrad und Dauer
1. Kleine Blutmenge (0,02 - 0,05 ml)	a) Schwanzvenen b) Amputation der Schwanzspitze c) V. saphena	a) Kanüle: 23 G - 26 G b) ausschließlich bis zum Absetzalter	a) gering, < 1 Tag b - c) gering - mäßig, < 1 Tag
2. Einmalige maximale Blutmenge (s. Tab. 1) Erholungsphase: 2 Wochen	a) Schwanzvenen b) Retrobulbär c) Venenwinkel	a) Kanüle: 23 G - 26 G b) Narkose (z.B: Isofluran), Kapillare bis 0,9 mm Außendurchmesser) c) Narkose; Kanüle: 21 - 25 G	a) gering b - c) gering - mäßig, < 1 Tag
3. Wiederholte Entnahme (s. Tab. 1) Bei Erreichen der maximal zu entnehmenden Gesamtblutmenge Erholungsphase: 2 Wochen	a) Schwanzvenen b) Verweilkatheter in V. jugularis c) Retrobulbär d) V. saphena	b) Narkose, Polyethylenkatheter, Außendurchmesser ca. 0,61 mm, Portsystem c) Narkose, pro Auge maximal zwei Abnahmen im Abstand von 14 Tagen	a, b, c, d) gering - mäßig
4. Finale Entnahme (Entbluten)	a) Kardial b) Aorta c) V. cava d) Dekapitation	Narkose a) Kanüle: 20 - 21 G d) auch ohne Narkose möglich	a - d) gering

Tab. 6: Meerschweinchen

Entnahmemenge und -häufigkeit	Entnahmeort	Besondere Erfordernisse	Geschätzter Belastungsgrad und Dauer
1. Kleine Blutmenge bis 0,2 ml	a) Ohrvene b) V. saphena		gering, < 1 Tag
2. Einmalige maximale Blutmenge (s. Tab. 1) Erholungsphase: 2 Wochen	a) V. jugularis b) Venenwinkel	a) Narkose; Gefäß muss präpariert werden; Kanüle: 21 – 22 G b) Narkose	gering - mäßig, < 1 Tag
3. Wiederholte Entnahme (s. Tab. 1) Bei Erreichen der maximal zu entnehmenden Gesamtblutmenge Erholungsphase: 2 Wochen	a) Verweilkatheter in der V. jugularis b) Ohrvene c) V. saphena	a) Narkose; Polyethylenkatheter oder subkutaner Port, Außendurchmesser 0,6 mm	a) gering - mäßig, je nach Dauer b) gering, < 1 Tag
4. Finale Entnahme (Entbluten)	a) Kardial b) Aorta c) V. cava	Narkose	gering

Tab. 7: Kaninchen

Entnahmemenge und -häufigkeit	Entnahmeort	Besondere Erfordernisse	Geschätzter Belastungsgrad und Dauer
1. Kleine Blutmenge (1 - 3 ml)	Ohrtrandvene, V. saphena	Kanüle: 20 – 22 G	gering, <1 Tag
2. Einmalige maximale Blutmenge (s. Tab. 1) Erholungsphase: 2 Wochen	Zentrale Ohrarterie	Butterfly: 20 – 22 G Pyrogenbox; Komprimierung der Punktionsstelle (bis zu 5 min.)	gering, <1 Tag
3. Wiederholte Entnahme (s. Tab. 1) Bei Erreichen der maximal zu entnehmenden Gesamtblutmenge Erholungsphase: 2 Wochen	a) Verweilkatheter in der V. jugularis b) Ohrtrandvene c) Zentrale Ohrarterie	a) Narkose; Verweilkatheter b) Kanüle 21 – 22 G c) Butterfly: 21 – 22 G Pyrogenbox; Komprimierung der Punktionsstelle (bis zu 5 min.)	a) gering - mäßig, <1 Tag b) - c) gering, <1 Tag
4. Finale Entnahme (Entbluten)	a) Kardial b) Aorta c) V. cava	Narkose; Kanüle: 20 G	gering

Übersichts- und Vergleichstabelle für die Farbkodierungen, Maße und Größen von Kanülen

Paravaz-System (Gr.)											1	2	12	14	15	16	17	18	20	21	22				23				
Länge nach Paravaz											38	35	32	30	26	26	26	23	22	20	20				20				
Größe in Gauge (G)	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22			23	24	25	26	27	28	29	30						
Farbe nach ISO 6009 bzw. DIN 13095	braun/oliv	gelb-grün	weiß-blau	purpurn	weiß-grün	blau-grau	weiß	rot-violett	rosa	creme	gelb	dunkel-grün	schwarz	blau*	*	dunkel-blau	mittel-purpurn	orange	braun	mittel-grau	blau-grün	rot	gelb	*	*	*	*	*	
Außendurchmesser (mm) nach ISO/DIN 9626	3,4	3,0	2,7	2,4	2,1	1,8	1,6	1,4	1,2	1,1	0,9	0,8	0,7	0,65*	0,65*	0,6	0,55	0,5	0,45	0,4	0,36	0,33	0,3	0,28*	0,26*	0,25			
Gebräuchliche Längen (mm)				80				40	40 50 70		38	30 35 40 50 120	16 30 32	30	26	16 26 30	26	16 24 26	10 16 23	6,8,10,12,20,22									

*Die DIN/ISO-Vorschriften ordnen den Größenangaben in Gauge den Außendurchmesser und die Farbe zu. Sobald keine Maßzahl in Gauge angegeben ist, sind die Angaben nicht der DIN/ISO-Norm entnommen aber der Übersicht halber enthalten

Literatur

- 1) van Herck H, Baumans V, Brandt CJW, Hesp APM, Sturkenboom JH, van Lith HA, van Tintelen G, Beynen AC (1998) Orbital sinus blood sampling in rats as performed by different animal technicians: the influence of technique and expertise. *Lab Anim* 32: 377 - 386
- 2) Barclay RJ, Herbert WJ, Poole TB (1988) Disturbance index method for assessing severity of procedures on rodents, 36 pp. UFAW, 8 Hamilton Close, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3 QD
- 3) Beynen, AC et al. (1988) Assessment of discomfort induced by orbital puncture in rats. In: Beynen, AC, Solloved HA (eds.), *New developments in biosciences: Their implications for laboratory animal science*, pp 431-436, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht
- 4) Van Herck H, Baumans V, van der Craats NR, Hesp AP, Meijer GW, van Tintelen G, Walvoort HC, Beynen AC (1992) Histological changes in the orbital region of rats after orbital puncture, *Lab Anim* 26: 53 – 58
- 5) Van Herck H, Baumans V, Boere HA, Hesp APM, van Lith HA, Beynen AC (1999) Orbital sinus blood sampling in rats: effects upon selected behavioural variables. *Lab Anim* 34: 10 - 19
- 6) Golde, WT, Gollobin, P, Rodriguez, LT (2005) A rapid, simple, and humane method for submandibular bleeding of mice using a lancet. *Lab Animal Europe* 5 (9): 29 - 34
- 7) Graievskaya, BM et al. (1986) The tongue vein as a source of blood in the golden hamster, *Z Versuchstierk* 28: 41 - 43
- 8) Zeller W, Weber H, Panoussis B, Bürge T, Bergmann R (1998) Refinement of blood sampling from the sublingual vein of rats. *Lab Anim* 32: 369 - 376
- 9) Bundesamt für Veterinärwesen. Blutentnahme bei Labornagetieren und Kaninchen zu Versuchszwecken. Information Tierschutz 3.02
- 10) Müller, B. Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus, den Schwanzvenen und dem jugularen Venenwinkel bei Ratte und Maus - vergleichende hämatologisch/biochemische und klinische Untersuchungen. Diss. med. vet. Gießen 1999
- 11) Meyer-Eilers Vergleichende histologische Untersuchung nach wiederholter Blutentnahme aus dem jugularen Venenwinkel bei Mäusen und Ratten. Diss. med. vet. München 2000
- 12) Fitzner Toft, M., et al., The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. *Lab Anim*, 2006. **40**(3): p. 261-274.
- 13) Wolfensohn S, Lloyd M (1994) Procedural data. In: *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, Wolfensohn S, Lloyd M (eds.) Oxford University Press, pp 143 - 154
- 14) Furuhashi, K, Onodera, T (1983) A simple technique for repeated blood collection from the tail vein of the rat. *J Toxicol Sci* 8 (2): 161-163
- 15) First Report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement (1993) Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Lab Anim* 27: 1 – 22
- 16) Hem, A, Smith, AJ., Solberg, P (1998) Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig, ferret and mink. *Lab Anim* 32: 364 – 368
- 17) Nau, R, Schunk, O (1993) Cannulation of the lateral saphenous vein - a rapid method to gain access to the venous circulation in anaesthetized guinea pigs. *Lab Anim* 27: 23 – 25
- 18) Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal JM, van de Vorstenbosch C (2001) A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol* 21: 15 – 23
- 19) Svendsen, P, Hau, J (eds.) (1994) *Handbook of Laboratory Animal Science*, Vol I CRC Press, pp 256 - 265
- 20) McGuill MW, Rowan AN (1989) Biological effects of blood loss: Implications for sampling volumes and techniques. *ILAR News* 31 (4): 5 - 20

- 21) Desjardins, D (1986) Indwelling vascular cannulas for remote blood sampling, infusion, and long-term instrumentation of small laboratory animals. In: *Methods of Animal Experimentation*, Vol. VII Part A, pp 143-194, Academic Press Inc., Orlando
- 22) Gunaratna PC, Kissinger PT, Kissinger CB, Gitzen JF (2004) An automated blood sampler for simultaneous sampling of systemic blood and brain microdialysates for drug absorption, distribution, metabolism, and elimination studies. *J Pharmacol Toxicol Methods* 49: 57 - 64
- 23) Abelson KS, Adem B, Royo F, Carlsson HE, Hau J (2005) High plasma corticosterone levels persist during frequent automatic blood sampling in rats. *In Vivo* 19 (5): 815 – 819
- 24) Bier H, Kaiser K, Langhans M, Malmendier K, Sluijsmans I, Weiher J (2007) Peritoneal microdialysis in freely moving rodents: An alternative to blood sampling for pharmacokinetic studies in the rat and the mouse. *Eur J Pharmaceut Sci* 30: 75 - 83
- 25) Grice, HC (1964) Methods for obtaining blood and for intravenous injections in laboratory animals. *Lab Anim Care* 14: 483 – 493
- 26) Herbert, WJ, Kristensen, F (1986) Laboratory animal techniques for immunology. In: Weir, DM (ed), *Handbook of experimental immunology* 4th Ed., Vol 4: Applications of immunological methods in biomedical sciences, pp 133.1 - 133.36, Blackwell Scientific Publ, Oxford
- 27) Iwarsson, K, Lindberg, L, Waller, T (1994) Common non-surgical techniques and procedures. In: Svendsen, P. and J. Hau (eds), *Handbook of laboratory animal science*, Vol 1, pp 229 - 272, CRC Press Inc., Boston

Literatur ohne Hinweis im Text

- Fifth Report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement (2001) Laboratory birds: refinements in husbandry and procedures. *Lab Anim* 35 (Suppl 1): 43 - 44
- Hawk , S, Laery, SL (1995) *Formulary for laboratory animals*, Iowa State University Press
- Harkness, JE & Wagner, JE (1995) *The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*. Williams & Wilkins, 4th ed., pp 130 – 136
- Hoff, J (2000) Methods of blood collection in the mouse. *Lab Animal* Vol. 29 (10), 47 - 53
- Hoffmann, RA et al. (1968) *The Golden Hamster*, University Press, Ames
- Horber, PJ et al. (1974) Topographisch-anatomische Untersuchungen am Kopf des Chinesischen Zwerghamsters mit besonderer Berücksichtigung der Blutentnahme, *Z Versuchstierk* 16: 214 – 238
- Poole, TB, Robinson, R (Eds.) (1987) *The UFAW Handbook*, 6th ed., Longman, Harlow
- Timm, KI (1989) Orbital Venous Anatomy of the Mongolian Gerbil, *Lab Anim Sci* 39: 262 - 264
- Tuffery, AA (ed.) (1987) *Laboratory Animals: An Introduction For New Experimenters*. Wiley, pp 246 - 254
- Van Hoosier, GL McPherson, CW (eds.) (1987) *Laboratory Hamsters*, Academic Press, Orlando
- Weiss, J, Maeß, J, Nebendahl, W (eds.) (2003) *Haus- und Versuchstierpflege*, 2. Auflage Enke-Verlag
- Van Zutphen, LFM, Baumans, V Beynen, AC (eds.) (1995) *Versuchstierkunde*, Gustav Fischer, pp 274 - 277
- <http://www.nc3rs.org.uk/bloodsamplingmicrosite>
<http://eslav.org/86html>