



TVT

Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V.

**Empfehlungen zur
Planung und Durchführung von Tierversuchen**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Versuchsplanung
3. Ethische Abwägung
4. Tiergerechte Haltung
5. Berücksichtigung des Sozialverhaltens
6. Gesundheitsstatus der Tiere und Hygienemaßnahmen
7. Adaptation der Versuchstiere
8. Einbeziehung der Tierpfleger/innen
9. Kleine Eingriffe
10. Vor- und Nachsorge bei Operationen
11. Kontrolle des Versuchsverlaufs und Schmerzlinderung durch Medikamente
12. Leidensbegrenzung durch rechtzeitige Tötung des Versuchstieres
13. Tierschutzgerechte Tötungsmethoden

Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V. TVT, 2004, TVT- Bramscher Allee 5, 49565 Bramsche.

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechts ist ohne Zustimmung der TVT unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen sowie die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Empfehlungen zur Planung und Durchführung von Tierversuchen

Merkblatt Nr. 76

Erarbeitet vom Arbeitskreis 4 (Tierversuche)

Verantwortlicher Bearbeiter: Prof. Dr. W. Scharmann

(Stand: Überarbeitete Fassung: Mai 2004)

1. Einleitung

Die vorliegende Empfehlung wurde verfasst für Antragsteller(innen) genehmigungs- und anzeigepflichtiger Tierversuche und deren Mitwirkende, verantwortliche Personen in zentralen und dezentralen Tierhaltungen, Tierschutzbeauftragte und zuständige Behörden. Sie soll eine Orientierungshilfe für tierschutzgerechtes Arbeiten sein und dazu beitragen, dass Tierexperimente so schonend wie möglich durchgeführt werden. Dies liegt auch im wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Interesse, da Belastungszustände die Untersuchungsparameter beeinflussen und zu unerwünschten Nebenwirkungen führen können. Bei der Forderung "Verminderung von Schmerzen und Leiden" denkt man oft nur an schmerzlindernde Mittel, doch können und sollten zur Belastungsverminderung noch eine Reihe anderer Maßnahmen berücksichtigt werden, wie sie heute unter der Bezeichnung "Refinement" (als eines der "3 R" replacement, reduction, refinement) zusammengefasst werden.

2. Versuchsplanung

Es ist empfehlenswert, ein Tierversuchsvorhaben vor der Planung mit dem/der Tierschutzbeauftragten zu besprechen. Die Anzahl der einzusetzenden Tiere wird durch den Versuchsaufbau (Zahl der Versuchsschritte, Anzahl der Gruppen pro Versuchsschritt einschl. Kontrollen und evt. Reservetiere) sowie das Versuchsmodell und/oder die Untersuchungsparameter (Anzahl Tiere pro Gruppe) bestimmt. Die Wahl der Tierart und des Geschlechts ist zu begründen. Die Hinzuziehung eines Biometrikers/einer Biometrikerin wird dringend empfohlen.

Zahlreiche physiologische Parameter unterliegen tageszeitlichen Schwankungen. Die Bestimmung derartiger Messwerte muss deshalb stets zur gleichen Tageszeit erfolgen. (siehe 6: Adaptation der Versuchstiere)

Durch rechtzeitige Absprache mit dem/der Tierschutzbeauftragten oder anderen Experimentatoren/Experimentatorinnen ist zu klären, ob Tiere nach Beendigung des Versuchs (z. B. unbehandelte Kontrolltiere) noch für einen anderen Zweck (z.B. Organgewinnung) genutzt oder in Privat-hand abgegeben werden können.

Die praktische Versuchsdurchführung muss bis ins Detail genau vorbereitet und fachgerecht ausgeführt werden. Wenn Eingriffe zu Schmerzen, Leiden oder Schäden führen können, ist zu begründen, warum keine schonendere Methode Anwendung findet. Derartige Fragen sind mit dem/der Tierschutzbeauftragten zu besprechen. Ganz allgemein gilt: Ersparnis von Arbeit, Zeit oder Kosten sind keine ethisch vertretbaren Gründe, um ein Tier vermeidbaren Belastungen auszusetzen (§ 9 (2) 3 des deutschen Tierschutzgesetzes).

Zum Einarbeiten in die statistische Planung werden aus der reichhaltigen Literatur z.B. folgende Titel empfohlen:

Literatur zur Einführung in statistische Methoden:

- Fahrmeir L, Hamerle A und Tutz G: Multivariate statistische Verfahren. De Gruyter:Berlin 1996

- Guggenmoos-Holzmann I und Wernecke KD: Medizinische Statistik. Blackwell Wissenschafts-Verlag: Berlin-Wien 1996
- Motulsky H: Intuitive Biostatistics. Oxford University Press 1995
- Beck-Bornholdt H P und Dubben H H: Der Hund, der Eier legt. Erkennen von Fehlinformation durch Querdenken. Rowohlt TB 2003

3. Ethische Abwägung

In seinem Versuchsantrag hat der Experimentator/die Experimentatorin u.a. wissenschaftlich begründet darzulegen, dass die möglicherweise zu erwartenden Schmerzen, Leiden oder Schäden im Hinblick auf den Versuchszweck ethisch vertretbar sind (§ 7 Abs. 3 TSchG, sog. "Güterabwägung"). § 7 (3) ist als Appell an den Experimentator zu verstehen, bei der Versuchsplanung sorgsam abzuwägen, ob das angestrebte Forschungsziel die möglichen Belastungen der Tiere ethisch zu rechtfertigen vermag. Die eigene Überzeugung, der zu erwartende Erkenntnisgewinn sei von irgendeinem Wert für den Menschen, reicht allerdings für die ethische Vertretbarkeit allein nicht aus. Vielmehr muß die Güterabwägung ergeben, daß der erwartete Nutzen des Versuchs so bedeutend ist, daß er die möglichen Beeinträchtigungen des Tieres aufzuwiegen vermag. Grundsätzlich gilt: die experimentelle Belastung eines Tieres wiegt um so schwerer, je gravierender sie für das betroffene Tier ist und je unerheblicher oder verzichtbarer das erwartete Ergebnis für den Menschen (oder anderes Leben) ist, bzw. umgekehrt. Das gilt gleichermaßen für die angewandte Forschung wie für die Grundlagenforschung, ohne die praxisorientierte Studien nicht möglich wären.

Wenn die Abwägung so objektiv und fair wie möglich vorgenommen wird, müsste sie auch zu dem Ergebnis führen können, dass auf einen Versuch aus ethischen Gründen verzichtet wird. Wegweisend hierfür sind die "Ethischen Grundsätze und Richtlinien der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften und Schweizerischen Akademie der Naturwissenschaften" (1994):

4.6 " Versuche die dem Tier schwere Leiden verursachen, müssen vermieden werden, indem durch Änderung der zu prüfenden Aussage andere Versuchsanordnungen gewählt werden oder indem auf den erhofften Erkenntnisgewinn verzichtet wird. Als schwere Leiden gelten Zustände, welche ohne lindernde Maßnahmen als unerträglich zu bezeichnen sind."

Weitere Hinweise für die Ethische Abwägung:

- Scharmann, W. und Teutsch, G.M.(1994) Zur ethischen Abwägung von Tierversuchen. *ALTEX* 17, 43-56
- "Codex veterinarius" der TVT
- Mand, U. (1995) Über die in § 7 Abs. 3 des TierSchG geforderte Abwägung ethischer Vertretbarkeit von Tierversuchen. *Der Tierschutzbeauftragte* 3/95, 229-234
- Porter, D.G. (1992) Ethical scores for animal experiments. *Nature*, 356, 101-102
- Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften und Schweizerische Naturforschende

Gesellschaft (1994) Ethische Grundsätze und Richtlinien für wissenschaftliche Tierversuche.

Schweizerische Ärztezeitung 75, 1255-1259 oder: www.samw.ch/

- Bundesamt für Veterinärwesen der Schweiz (1994) Einteilung von Tierversuchen nach

Schweregraden vor Versuchsbeginn. www.bvet.admin.ch/

4. Tiergerechte Haltung

Die Haltungsbedingungen der Versuchstiere sind ein wesentlicher Einflussfaktor für die Erzielung eines gültigen Versuchsergebnisses. Das gilt nicht nur für die Haltung während des Experiments, sondern ebenso für die Aufzucht und die Zeit vor dem Versuch. Auch bei Tieren, die aus landwirtschaftlichen Betrieben stammen, ist darauf zu achten, daß sie aus möglichst artgerechter Haltung stammen, keine Gesundheitsschäden aufweisen und an den Umgang mit Menschen gewöhnt sind.

Die Haltung der Versuchstiere ist durch das Gesetz zum Europäischen Übereinkommen vom 18. März 1986 sowie die EU-Richtlinien 86/609 EWG geregelt (neue Richtlinien sind in Vorbereitung), doch da die darin aufgeführten Mindesthaltungsbedingungen nur teilweise den Anspruch an eine "artgerechte" oder "tiergerechte" Haltung erfüllen, wird hierfür auf die weitergehenden Empfehlungen der TVT und der GV-SOLAS verwiesen.

Mäuse und Ratten können unter Standardbedingungen bestimmte Verhaltensweisen, für die sie eine hohe Motivation besitzen, nicht oder nur ungenügend ausführen (z.B. Exploration, Spiel, Nestbau, Rückzug, Futtersuche). Selbst so anpassungsfähige Arten wie Ratten und Mäuse brauchen ein Minimum an artspezifischer Stimulation, damit sie sich normal entwickeln und belastende Situationen im Labor bewältigen können. Nur dann ist gewährleistet, dass sie auch in Versuchen „normale“ Reaktionen zeigen (Würbel 2001). Für die Haltung von Mäusen werden der Typ 3- und von Ratten der Typ 4-Standardkäfig empfohlen. (Käfigtyp 2-long entspricht in seiner Grundfläche dem Typ 3, wird aber von Seiten der Verhaltensforschung nicht empfohlen.) Diese Käfiggrößen erscheinen im Hinblick auf das Bewegungsbedürfnis der Nager und für die "Anreicherung" der reizarmen und restriktiven Haltungsbedingungen erforderlich. "Anreicherung", d.h. die Schaffung einer komplexen Käfigumwelt durch z.B. Nistmaterial oder Unterschlupfe regt die Aktivität der Tiere an und bietet ihnen u.a. die Möglichkeit, zwischen mehreren Temperaturbereichen wählen zu können oder dominanten Käfiggenossen aus dem Weg zu gehen. Auch unter streng definierten Versuchsbedingungen wie z.B. in der Toxikologie ist „environmental enrichment“ möglich und geboten (Dean 1999).

Gegen die Anreicherung der Käfige wird vorgebracht, dass hierdurch die Variabilität der Versuchsergebnisse erhöht werde. Dies trifft allenfalls auf bestimmte Variable und Tierstämme zu sowie auf die Gruppenhaltung geschlechtsreifer männlicher Mäuse (Tsai et al. 2003). Gegen die These, dass die Streuung von Versuchsergebnissen durch strikte Umweltstandardisierung verringert werden kann, sprechen allerdings die Befunde von Crabbe et al. (1999). Es besteht sogar die Möglichkeit, dass der durch die restriktive Standardhaltung ausgeübte Stress die individuelle Variabilität eher noch erhöht (Würbel 2002).

Weiterhin gilt grundsätzlich für die Haltung von Versuchstieren:

Geräusche können ein wichtiger Störfaktor im Tierlaboratorium sein. Tiere haben einen Hörbereich, der oft weit über den des Menschen hinausgeht. Sie können hohe Frequenzen (z.B. Nagetiere 20-60 KHz, neugeborene Mäuse und Hamster kommunizieren mit dem Muttertier bis 150 kHz) auch bei geringen Lautstärken noch gut wahrnehmen. Ultraschall kann im üblichen Laborbetrieb verursacht werden z.B. durch tropfende Wasserhähne, Räder von Laborwagen oder Computer-Monitore (Sales et al. 1999). In jedem Falle sollen Tierhaltungen und Experimentierräume vor starken Geräuschquellen aus dem hörbaren und dem höher frequenten Bereich (Telefonklingeln, Alarmsirenen, Klimaanlage, Käfigwaschmaschinen, Leuchtstoffröhren u.ä.) abgeschirmt sein, um Störungen des physiologischen Verhaltens der Tiere zu vermeiden. Lärm verursacht Schreckreaktionen, deshalb sollte das Hantieren von Käfigen mit Umsicht erfolgen. Gedämpfte Musik kann diesen Effekt vermindern, lautes Radio ist zu vermeiden.

Da auch der Geruchssinn der meisten Versuchstierarten besser ausgebildet ist als beim Menschen, sollten stark riechende Reinigungs- und Desinfektionsmittel nicht eingesetzt werden.

Üblicherweise erfolgt die Haltung der meisten Versuchstierarten bei künstlicher Beleuchtung, wobei über Zeitschaltssysteme ein bestimmter Hell-Dunkelrhythmus vorgegeben wird. Für die dämmerungs- und nachtaktiven Labornagetiere hat sich ein Helldunkel-Rhythmus von 12:12 (z.B. Hellphase von 7 –19 Uhr) bewährt. Auf die Beleuchtungsstärke ist besonders bei albinotischen Tieren zu achten, da diese unpigmentierte Augen besitzen und bei starker Beleuchtung Netzhautschäden erleiden können. Alle Käfige sollten daher einen schattigen Bereich aufweisen. Sofern zu helles Licht (> 60 lux) direkt in die oberste Käfigreihe fällt, muss diese eine Abdeckung erhalten. Auf flimmerfreie Beleuchtung ist besonders bei Hühnern zu achten. Sofern die Erfordernisse der Standardisierung es zulassen, sollte natürliches Tageslicht genutzt werden. Dabei ist allerdings direkte Sonneneinstrahlung zu vermeiden. Empfehlenswert sind auch Leuchtstoffröhren mit Tageslicht-Qualität.

Tagaktive Tierarten (z.B. Hühner, Affen) können sich in völlig dunklen Räumen nicht orientieren. Deshalb sollte vor allem bei diesen, möglichst aber allen Versuchstieren das Licht über Dämmerungsphasen ein- und ausgeschaltet werden.

Die Unterbringung von Tieren, die einem belastenden Experiment ausgesetzt sind, sollte mit besonderer Sorgfalt gestaltet werden. Sie sollten vor direkter Geräuscheinwirkung und Lichteinfall geschützt werden. Der Zugang zu Futter und Wasser muss ggf. durch eine zusätzliche Flasche im Käfig selbst und durch Zugabe von Futterpellets in die Einstreu erleichtert werden.

Für die Haltung in Stoffwechselkäfigen gilt: Die Käfige und Boxen müssen so groß sein, dass die Tiere arttypisch stehen, abliegen, ruhen, aufstehen und sich umdrehen können. Die Tiere sind zuvor an die neuen Versuchsbedingungen zu gewöhnen und bedürfen besonderer Betreuung. Häufigere, aber kürzere Aufenthalte in Stoffwechselkäfigen sind längeren Aufenthalten grundsätzlich vorzuziehen. Bei Einzelhaltung einer sozial lebenden Art ist auf akustischen, olfaktorischen und optischen Kontakt zu Artgenossen zu achten (Bundesamt für Veterinärwesen)

Hinweise für tiergerechte Haltung von Versuchstieren geben

die TVT-Empfehlungen Nr. 18: Ratte, Maus und Hamster, Nr. 30 Schwein, Nr. 31: Legehennen,
Nr. 36: Wasser- und Krallenfrösche, Nr. 38: Meerschweinchen, Nr. 42: Schaf und Ziege, Nr. 55: Kaninchen, Nr. 60: Rhesusaffen. Neue Empfehlungen (2204): Haltung von Versuchshunden; Haltung von Versuchskatzen

Weitere Literatur:

- Crabbe, JC et al (1999) Genetics of mouse behaviour: reasons, recommendations, and reality.
Science 284, 1670-1672
- Bundesamt für Veterinärwesen (1994) Richtlinien über das Halten von Versuchstieren in
Stoffwechselkäfigen und Stoffwechselboxen. www.bvet.admin.ch/
- Dean, SW (1999) Environmental enrichment of laboratory animals used in regulatory toxicology
studies. Laboratory Animals 33, 309-327
- Gesetz zu dem Europäischen Übereinkommen vom 18. März 1986 zum Schutz der für Versuche und
andere wissenschaftliche Zwecke verwendeten Wirbeltiere. Bundesgesetzblatt Teil II Nr. 46 (1990)
S. 1486
- GV-SOLAS (1995) Positionspapier: Tierschutz in der Versuchstierhaltung. www.mh-hannover.de/institut/tierlabor/gv-solas/schutz.htm
- Militzer, K (1986) Wege zur Beurteilung tiergerechter Haltung bei Labor-, Zoo- und Haustieren.
Schriftenreihe Versuchstierkunde 12, Parey-Verlag
- O'Donoghue (ed.) The accommodation of laboratory animals in accordance with animal welfare
requirements. Proceedings of an International Workshop held at the Bundesgesundheitsamt Berlin,
May 1993. Erhältlich von der Pressestelle des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft
und Forsten, Bonn
- Olsson, IAS, Dahlborn K (2002) Improving housing conditions for laboratory mice: a review of
'environmental enrichment'. Laboratory Animals 36, 243-270
- Rodent Refinement Working Party (1998) Refining rodent husbandry: The mouse. Laboratory
Animals 32, 233-259
- Sales, GD et al. (1999) Sources of sound in the laboratory animal environment: A survey of sounds
produced by procedures and equipment. Animal Welfare 8, 97-115
- Tsai et al. (2003) Are the effects of different enrichment designs of the physiology and behaviour of
DBA/2 mice consistent? Laboratory Animals 37, 314-327

- Uni Zürich: Umgang mit Versuchstieren. www.unizh.ch/labtier/einf.htm
- Würbel, H (2001) Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behaviour. Trends Neuroscience 24, 207-211
- Würbel, H (2002) Behavioural phenotyping enhanced – beyond (environmental) standardization. Genes Brain Behaviour 1, 3-8

Die neuen, in Vorbereitung befindlichen Haltungsrichtlinien des Europarats sind einzusehen unter www.europa.eu.int/abc/doc/off/bull/

5. Berücksichtigung des Sozialverhaltens der Tiere

Die am häufigsten verwendeten Versuchstierarten leben in der Regel in Sozialverbänden (Ausnahme Hamster). Hieraus folgt, dass Einzelhaltung nur aus zwingenden Gründen zulässig ist, da sie vor allem für junge Tiere stark belastend ist. Auch in der Toxikologie kann durch einen modifizierten Versuchsansatz die eigentlich erforderliche Einzelhaltung vermieden und durch Gruppenhaltung ersetzt werden. Einzelhaltung ist allerdings bei geschlechtsreifen männlichen Kaninchen wegen des häufig ausgeprägten Aggressionsverhaltens und der hierdurch bedingten Verletzungsgefahr meist nicht zu umgehen. Bei geschlechtsreifen männlichen Mäusen lässt sich (abhängig vom Stamm) aggressives Verhalten vermindern, wenn die Gruppengröße auf 3 Tiere pro Käfig reduziert wird und beim Käfigwechsel Nistmaterial vom alten in den neuen Käfig übertragen wird (van Loo et al. 2003). Einzeln gehaltene Tiere sollten Sicht-, Geruchs- und Hörkontakt zu Artgenossen haben. Vor allem Primaten, Hunde und Katzen in Einzelhaltung bedürfen der besonderen Zuwendung durch den Tierpfleger/die Tierpflegerin.

Tiergruppen sollen möglichst früh zusammengesetzt und dann - wenn möglich - nicht mehr verändert werden, denn jeder Wechsel kann Auseinandersetzungen der Gruppenmitglieder zur Folge haben, die sich auf das Experiment nachteilig auswirken können. Tiere, die für längere Zeit zu Versuchszwecken aus der Gruppe entfernt wurden, dürfen nicht ohne weiteres zurückgesetzt werden, sondern müssen vorsichtig wieder integriert werden (z.B. durch Haltung in einem separaten Käfig, der jedoch Geruchs- und Hörkontakte zur bisherigen Gruppe zulässt). Eine stabile Sozialordnung erhält man nur bei nicht zu großen Gruppen. Nach Poole & Morgan (1973) liegt die optimale Gruppengröße bei Mäusen zwischen 4 und 8 Tieren. Abhängig auch von der Käfiggröße kann es bei größeren Gruppen zum sog. "crowding"-Effekt mit Beeinträchtigung der Immunkompetenz sowie Beeinflussung anderer physiologischer Parameter kommen.

Ausgewählte Literatur zum Sozialverhalten

- Clausing, P. et al. (1993/94): Social isolation modifies the response of mice to experimental Mengo Virus Infection. *Journal of Experimental Animal Science* 36, 37-54
- Hurst, J.L. (1998) Housing and welfare in laboratory rats: The welfare implications of social isolation and social contact among females. *Animal Welfare* 7, 121-136
- Pérez, C. et al. (1997): Individual housing influences certain biochemical parameters in the rat. *Laboratory Animals* 31, 357-361
- Poole, T. and Morgan, H.D.R. (1973): Differences in aggressive behaviour between male mice in colonies of different sizes. *Animal Behaviour* 21, 788-795
- Sachser, N.: Sozialphysiologische Untersuchungen an Hausmeerschweinchen. Parey: Berlin und Hamburg 1992
- Schuhr, B. (1987) Social structure and plasma corticosterone level in female albino mice.

Physiology and Behavior 40, 689-693

- TVT- Haltungsempfehlungen (siehe unter Punkt 3)
- van Loo PLP et al. (2003) Male management: coping with aggression problems in male laboratory mice. *Laboratory Animals* 37, 300-313

6. Gesundheitsstatus der Tiere und Hygienemaßnahmen

Der Leiter/die Leiterin des Tierlabors bzw. die für den Tiereinkauf zuständige Person muss bereits vor Erwerb der Versuchstiere ein Gesundheitszeugnis vom Züchter anfordern, aus dem der Hygienestatus der Tiere hervorgeht; sie sollten frei von Infektionserregern sein. Das gilt nach Möglichkeit auch für Tiere aus landwirtschaftlichen Beständen. Da viele Infektionen ohne klinische Symptome verlaufen (doch gleichwohl die Versuchsergebnisse beeinflussen können), genügt der Augenschein nicht, dass die Tiere "gesund" sind. Die Verwendung mikrobiologisch standardisierter Tiere ist deshalb eine Voraussetzung für die vom Tierschutzgesetz geforderte Beschränkung auf das „unerlässliche Maß“. Zumindest in Zweifelsfällen sind die Tiere in der Eingewöhnungszeit nach dem Transport in Quarantäne (z.B. bei Mäusen und Ratten mindestens 3 Wochen: in Käfigen mit Filterdeckeln bzw. in einzeln belüfteten Käfigen – IVC, evt. zusammen mit Sentinel-Tieren) zu halten und während und nach dieser Zeit einer regelmäßigen mikrobiologischen Kontrolle zu unterziehen.

Literatur:

- FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guineapig and rabbit experimental units (1996) *Laboratory Animals* 30, 193-208
- FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs (1998) *Laboratory Animals* 32, 1-17
- Laboratory animal health monitoring. *Laboratory Animals* 33, Supplement 1 (1999)
- FELASA recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units (2002) *Laboratory Animals* 36, 20-42

Auch wenn die Tierräume nicht durch Barrieren vor unerwünschten Einflüssen aus der Außenwelt geschützt sind, muss der Zugang zum Tierbereich kontrolliert werden und jegliches Infektionsrisiko für die Tiere so gering wie möglich gehalten werden, z.B. durch strikte Einhaltung von Regularien wie z.B. Wechseln der Oberbekleidung, Anlegen von Überschuhen bzw. sauberen (OP-) Schuhen, Anlegen von Handschuhen, Haarhaube und Mundschutz, Handwäsche). In diesem Zusammenhang hat sich die Aufstellung eines Hygiene- und Hygienekontrollplans als sehr zweckmäßig erwiesen.

7. Adaptation der Versuchstiere

Je geringer das Tier durch das Experiment belastet wird, desto zuverlässiger sind auch die Versuchsergebnisse. Deshalb kommt eine sorgfältige Vorbereitung auf die Versuchsbedingungen nicht nur dem Tier zugute, sondern auch der Forschung.

Wenn Tiere angeliefert werden, muß sichergestellt sein, dass sie bei ihrem Eintreffen sogleich aus den Transportkäfigen entnommen und versorgt werden. Beim Absender ist darauf zu dringen, daß der Ankunftsstermin so genau wie möglich angegeben wird. Dies gilt besonders für Lufttransporte, bei denen Versuchstiere oft mehrere Tage unterwegs sind. Ihr Versand sollte so erfolgen, dass sie nicht am Wochenende das Ziel erreichen.

Nach der Ankunft müssen die Tiere Gelegenheit erhalten, sich zu erholen. Der Transport und die veränderte Umgebung wirken sich auf die Tiere belastend aus. Die Adaptationszeit, die der tierische Organismus benötigt, um sich an neue Bedingungen anzugleichen, hängt vor allem von den zu untersuchenden Parametern ab und beträgt in den meisten Fällen etwa 7 Tage (van Ruiven et al. 1996), kann aber auch für spezifische Untersuchungen auf der zellulären und subzellulären Ebene mehr als 100 Tage ausmachen (Gärtner & Stoll 1972). Tiere, deren Transport mehrere Zeitzonen überschreitet, benötigen für die Resynchronisation circadianer Funktionen gegebenenfalls mehrere Wochen: sie ist in der Regel nach etwa 4 Wochen im Licht-Dunkel-Wechsel des Zielortes abgeschlossen. Durch gezielte Lichtexposition kann die Anpassungsphase verkürzt werden (Humlova und Illnerova 1992). Bei Transporten innerhalb der Forschungseinrichtung sollte die Ruhephase etwa 24 Stunden betragen.

Diese Anpassungsphase sollte auch dazu genutzt werden, die Tiere auf die spätere Versuchssituation vorzubereiten. Bereits das Öffnen eines Käfigdeckels wird von Nagern als Störung ihres sozialen Umfelds empfunden. Jede Beeinträchtigung der Bewegungsfreiheit wie Fassen, Nehmen und Fixieren wirkt sich bei Tieren, die nicht daran gewöhnt sind, als Belastung aus. Wie sich ein Tier im Versuch verhält, hängt in erheblichem Maße vom Grad der Gewöhnung an den Menschen ab. Mit etwas Geduld lässt sich ein gewisses Vertrauensverhältnis entwickeln. Belohnungen in Form von "Leckerbissen" können zur "Kooperation" des Tieres beitragen, allerdings darf dieses nicht mit Versuchsfragestellungen interferieren.

Die den Versuch durchführenden Personen werden vom Tier an der Stimme und am Geruch erkannt, dies kann die Tiere und damit auch die Resultate des Experiments beeinflussen (Crabbe et al. 1999).

Das möglichst frühzeitige, geduldige "handling" der Tiere (z.B. bei Hunden, Katzen und Primaten beginnend schon in der Sozialisierungsphase und möglichst durch immer die gleichen Personen, am besten durch den Versuchsdurchführer) dient aber nicht nur dem Abbau der natürlichen Scheu und Angst, sondern bietet auch Gelegenheit Tiere herauszufinden, die wegen ihrer Tendenz zu Verhaltensabweichungen für die vorgesehenen Fragestellungen absehbar nicht geeignet sind. Generelles Ziel muß es sein, schmerzfreie Manipulationen soweit wie möglich ohne Anwendung von Zwangsmaßnahmen und ohne Narkose durchzuführen. "Eine Ratte, die zappelt und beißt, ist kein geeignetes Versuchstier."

Versuchstiere sollten nicht nur vom Versuchsdurchführenden an die vorgesehenen Manipulationen, sondern rechtzeitig auch an das entsprechende Umfeld (Geräusche, Gerüche, Helligkeit) gewöhnt werden. Findet der Versuch in einem Stoffwechsellkäfig statt, sollte das Tier bereits einige Tage vor Versuchsbeginn mehrmals für kurze Zeit in diesen gesetzt und so an die neue Situation gewöhnt werden.

Belastung (z.B. Angst) beeinflusst die Reizschwelle für Schmerzempfindlichkeit, so dass Eingriffe, die von menschlichen Patienten als relativ geringfügig empfunden werden wie z.B. Injektionen, auf Tiere eine bedrohliche Wirkung ausüben. Praktische Erfahrungen haben jedoch gezeigt, dass viele Tiere häufige Injektionen und Blutentnahmen ohne negative Reaktionen hinnehmen, wenn sie sich sicher fühlen. Manchmal kann auch eine geeignete Belohnung die Kooperationsbereitschaft (positive Konditionierung) begünstigen.

Literatur

- Crabbe, J.C. et al. (1999) Genetics of mouse behavior: Interactions with laboratory environment. *Science* 284, 1670-72
- Gärtner, K. und Stoll L. (1972): Zur Akklimatisation von Laboratoriumsratten nach Ortswechsel unter besonderer Berücksichtigung der β - und γ -Globuline und der adrenalen Cortikosteronkonzentrationen. *Research in experimental Medicine* 158, 180-193
- Humlova, M. and Illnerova, H. (1992) Resetting of the rat circadian clock after a shift in the light/dark cycle depends on the photoperiod. *Neuroscience Research* 13, 147-153
- van Ruiven, R. et al (1996): Adaptation period of laboratory animals after transport: a review. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 23, 185-190

8. Einbeziehung der Tierpfleger/innen

Gut ausgebildete und motivierte Tierpfleger(innen) tragen erheblich zu einer schonenden Versuchsdurchführung bei. Hierzu gehören ein ruhiger, zugewandter und sicherer Umgang mit den Tieren, das Vermeiden von plötzlichen, lauten Geräuschen und grellem Licht, sachkundiges Fassen und Fixieren der Tiere sowie besondere Zuwendung zu einzeln gehaltenen Tieren. Ganz allgemein gilt, dass Tiere so häufig wie möglich gehandelt werden sollen (Joint Working Group, s. Literatur zu 8).

Lautstarkes Hantieren mit den Käfigen, Klirren der Metalldeckel und z.B. laute Radiomusik können die Tiere belasten. Da die Tierpfleger(innen) täglich mit den Tieren umgehen, kennen sie ihr Normalverhalten meist am besten. In der Regel werden sie Verhaltensänderungen bei den Tieren als erste feststellen und dem Versuchsleiter/der Versuchsleiterin bzw. dem Versuchsdurchführer melden. Es kommt aber nicht nur darauf an, die Tierpfleger(innen) regelmäßig fort- und weiterzubilden, (z.B. müssen sie Schmerzzustände erkennen können), sondern sie sollten auch immer wieder zu verantwortungsvoller Arbeit motiviert werden. Deshalb sollten sie mit Sinn und Ziel des Experiments vertraut gemacht, bei der Planung für die Versuchsdurchführung gehört und zu Lagebesprechungen hinzugezogen werden.

9. Kleine Eingriffe

Die durch Zwangsmaßnahmen erzeugten Belastungen können durch Vorbehandlung mit Sedativa verringert werden. Hierbei ist abzuwägen, ob die physiologischen Parameter stärker durch den Eingriff oder das Mittel beeinflusst werden.

Injektionen

Bei Injektionen ist die am wenigsten belastende Applikationsart zu wählen. Intramuskuläre Injektionen können für die Versuchstiere mit Schmerzen verbunden sein, deshalb sollte nach Möglichkeit der subkutane Applikationsweg gewählt werden. Injektionen in die Fußsohle sind besonders belastend und müssen zwingend begründet werden.

Ausführliche Hinweise über Applikationsmethoden, -wege und -orte gibt die „Joint Working Group on Refinement“ (2001) in *Laboratory Animals* 35, 1-41

Weitere Hinweise zu diesem Thema sind der GV-SOLAS/TVT-Empfehlung: „Maximale Injektionsvolumina bei Versuchstieren“ zu entnehmen.

Immunisierung

Als Faustregel gilt bei der Antikörpergewinnung, dass ölhaltige Adjuvantien zwar bessere Immunantworten als wasserlösliche Adjuvantien ergeben, aber auch stärkere unerwünschte Nebenwirkungen hervorrufen (Zwinger et al. 1998). Leider ist das schonende, wasserlösliche Adjuvans CpG-DNA nicht mehr einfach erhältlich.

Wegen seiner starken immunstimulierenden Wirkung wird häufig noch das ölhaltige komplette Freund's Adjuvans verwendet, obwohl es eine erhebliche Belastung der Tiere wie z.B. schmerzhafte Entzündungen, manchmal auch Abszesse, Nekrosen und Granulome zur Folge haben kann. In den meisten Fällen reichen inkomplette Freund'sche Adjuvantien wie Specol aus. Bei einer meist befriedigenden Immunantwort wird die Belastung der Tiere erheblich vermindert.

Wenn wegen der schwachen Immunogenität eines Antigens auf die Verwendung von Kpl. Freund's Adjuvans bei der Erstimmunisierung nicht verzichtet werden kann, dürfen die Injektionen nur subkutan oder intradermal in kleinen Dosen erfolgen (z.B. bei Kaninchen maximal 150 µl Emulgat pro Injektionsstelle in Abständen von 2-3 cm in die rasierte Rückenhaut). Die Booster-Injektion sollte aber nur noch mit inkomplettem Freund's Adjuvans bzw. einem der schonenderen Adjuvantien erfolgen (bzw. auf das Adjuvans ganz verzichten).

In den letzten Jahren hat sich auch die Gewinnung von Antikörpern aus den Eiern immunisierter Hühner immer mehr durchgesetzt. Diese Methode hat den Vorteil, daß auf einfache Weise große Mengen von Antikörpern erhalten werden können, ohne die Tiere durch die Blutentnahme zu belasten.

Weitere Informationen zu diesem Thema sind den TVT-Empfehlungen Nr. 4 „Tierschutzaspekte bei der Immunisierung von Versuchstieren“ und Nr. 9 „Gewinnung von Antikörpern aus dem Hühnerei“ zu entnehmen sowie der GV-SOLAS/TVT-Empfehlung: Maximale Injektionsvolumina bei Versuchstieren. Weitere Hinweise enthält folgende Literatur:

- Bennett et al. (1992) A comparison of commercially available adjuvants for use in research.

Journal of Immunological Methods 153, 31-40

- Bundesamt für Veterinärwesen (1999) Fachgerechte und tierschutzkonforme Antikörperproduktion

in Kaninchen, Hühnern und Labornagetieren. www.bvet.admin.ch/

- Erhard MH et al (2000) Evaluation of various immunisation procedures in laying hens to induce high

- amounts of specific egg yolk antibodies. ATLA 28, 63-80
- Ferber et al (1999) The generation of monoclonal antibodies in mice: influence of adjuvants on the immune response, fusion efficiency and distress. Laboratory Animals 33, 334-350
 - Hartinger, J (1997) Steckbriefe immunologischer Adjuvantien - Teil I. Der Tierschutzbeauftragte 3/97, 218-221
 - Hlinak, A, Schade, R, Marx, U (1994) Das Hühnerei – ein universelles biologisches System für die Entwicklung von Alternativen zum Tierversuch – Herstellung polyklonaler und monoklonaler Antikörper. Der Tierschutzbeauftragte 1/94, 26-28
 - Leenaars et al.(1999) The production of polyclonal antibodies in laboratory animals. ATLA 27, 79-96
 - Nicklas, W (1993) Grundgedanken zum Immunisieren von Versuchstieren. Tierärztliche Umschau 48 166-171
 - Zwerger et al. (1998) Vergleich kommerziell erhältlicher Adjuvantien bei BALB/c-Mäusen... ALTEX 15, Suppl. 83-86

Blutentnahme

Unsachgemäßes Vorgehen bei der Blutentnahme kann unmittelbar in die Versuchsergebnisse eingehen, da Angst und Stress innerhalb von Sekunden wichtige Blutparameter verändern können (Weiß et al. 1995). Die Blutmenge, die einem Tier ohne Beeinträchtigung entzogen werden kann, hängt von seinem Blutvolumen ab. Das gesamte Blutvolumen eines Tieres beträgt 6 - 8 % seines Körpergewichtes. Die Obergrenze für die Entnahme einmaliger Blutproben sollte 10 % des Blutvolumens nicht überschreiten, da sonst Nebenwirkungen auftreten, die das Tier schwer belasten können. Bei wiederholter Blutentnahme dürfen nicht mehr als 7,5 % des Blutvolumens pro Woche entnommen werden.

Wenn wiederholte Blutentnahmen innerhalb von Stunden oder wenigen Tagen nötig sind, ist die Implantation eines Katheters schonender als häufige Gefäßpunktionen. Bei länger liegenden Kathetern besteht allerdings die Gefahr einer Infektion oder Thrombosierung. Neuerdings wird für mehrfach aufeinander folgende Blutentnahmen bei Ratten der Schwanzschnitt empfohlen (Fluttert et al 2000).

Eine häufig verwendete Methode der Blutentnahme bei Ratten und Mäusen ist die umstrittene Punktion des retrobulbären Venengeflechts. Auch wenn bei sachgerechter Durchführung der Punktion das Auge nicht beschädigt wird, können Verletzungen am Periorbitalgewebe auftreten, die vom Tier als Fremdkörper empfunden werden. Zumindest sollte diese Methode nicht zur wiederholten Blutentnahme verwendet und in jedem Fall unter sachgerechter Narkose durchgeführt werden. Auch die Herzpunktion muss unter Narkose erfolgen. Sie sollte der terminalen Blutentnahme (Ausnahme Meerschweinchen) vorbehalten sein.

Als schonende Methode der Blutentnahme bei kleinen Nagern, Frettchen und Nerz wird die Punktion der V. saphena genannt (Hem et al 1998)

Das Nüchternsetzen vor der Blutentnahme sollte 6 Stunden nicht überschreiten. Bei kleinen Nagern wird anstelle des Futterentzugs die Gabe von Saccharose-Lösung empfohlen (Levine and Saltzman 2000).

- Fluttert M et al (2000) A refined method for sequential blood sampling by tail incision in rats.

Laboratory Animals 34, 372-378

- Hem A, Smith AJ and Solberg P (1998) Saphenous vein puncture for blood sampling of mouse, rat,

hamster, gerbil, guineapig, ferret and mink. Laboratory Animals 32, 364-368

- Levine S and Saltzman A. (2000) Feeding sugar overnight maintains metabolic homeostasis in rats

and is preferable to overnight starvation. Laboratory Animals 34, 301-306

- Weiß, J., Maeß, J., Nebendahl, K., Rossbach, W. (Hrsg.)(1995) Haus- und Versuchstierpflege,

Stuttgart, Jena, New York : Gustav Fischer Verlag

Weitere ausführlichere Angaben zum Thema Blutentnahme sind der gemeinsamen GV-SOLAS/TVT-Empfehlung "Hinweise zur Blutentnahme bei kleinen Versuchstieren" zu entnehmen.

Kontrolle von transgenen Mäusen

Zur schonenden Kontrolle gentechnisch veränderter Mäuse wird die Analyse der Haarwurzel-DNA empfohlen (Schmitteckert et al 1999). Auch die Schwanzbiopsie ist eine häufig verwendete Methode. Hierbei ist auf Nachblutung und sorgfältige Blutstillung zu achten. Wenn bei den Tieren auch eine Kennzeichnung durch Ohrlochung oder Transponder (und evt. auch Blutentnahme) vorgenommen werden muß, ist es sinnvoll, diese Maßnahmen zusammenzufassen und unter kurzer Narkose (z.B. mit Isofluran) durchzuführen. Für eine kurzfristige Kenntlichmachung im Versuch kommen auch schonendere Methoden in Frage (z.B. Haarfarbe oder ungiftige Filzstifte).

- Schmitteckert et al (1999) DNA detection in hair of transgenic mice - a simple technique minimizing the distress on the animals. *Laboratory Animals* 33, 385-389

Literatur über Kennzeichnung von Versuchstieren:
GV-SOLAS/TVT-Empfehlung (2000) Kennzeichnung von Versuchstieren

10. Vor- und Nachsorge bei Operationen

Kleine Versuchstiere

Vorsorge:

Der Entzug von Wasser und Futter ist in der Regel nicht erforderlich und wegen der damit verbundenen Energie- und Wasserverluste für das Tier nachteilig (Ausnahme: Abdominal-chirurgische Eingriffe beim Kaninchen). Bewährt hat sich stattdessen die Gabe von Saccharose-Lösung (Levine and Saltzman 2000)

Eine ausreichende Adaptationszeit ist einzuhalten (siehe Punkt 6). Bei chronischen Versuchen ist ein ausreichendes Handling wünschenswert. Länger andauernde Operationen erfordern die Kontrolle der vitalen Kreislaufparameter sowie Kontrolle und ggf. Regulierung des Flüssigkeits- und Energiehaushalts. Operative Eingriffe müssen unter aseptischen Bedingungen erfolgen. Die Augen sind vor starker Hel-
ligkeit zu schützen. Gegen die Austrocknung der Hornhaut muss Augensalbe (z.B. Bepanthen-Augensalbe) aufgetragen werden.

Nachsorge:

Der Erhalt der Körperwärme ist unerlässlich. Dafür können Wärmematten während des Eingriffs und postoperativ spezielle Inkubatoren oder Wärmematten (thermostategesteuerte Heizkissen), die unter einen Teil des Käfigs geschoben werden, verwendet werden. Bei kleinen Nagern hat es sich auch als zweckmäßig erwiesen, den Rumpf nach der Operation mit sterilisiertem Zellstoff und Alufolie zu umhüllen.

Am ersten postoperativen Tag und - falls erforderlich, auch an den darauffolgenden Tagen - ist eine mehrmalige klinische Kontrolle erforderlich. Sehr empfehlenswert ist eine regelmäßige Temperaturkontrolle, hierfür stehen neuerdings spezielle Mikrochips zur Verfügung. Bei schmerzhaften Eingriffen ist eine analgetische Behand-

lung unerlässlich (s. unter 10.). Einzelne gehaltene Tiere sollten Geruchs-, Hör- und Sichtkontakt zu Artgenossen haben. So können selbst Makrolonkäfige durch mobile Trenngitter unterteilt werden.

Große Versuchstiere

Vorsorge:

Eine ausreichende Adaptationszeit ist einzuhalten (siehe Punkt 6). Um die Tiere nicht unnötig zu belasten, sollte die vor der Operation notwendige Ausnüchterungsphase genau definiert werden. Bei der Planung ist darauf zu achten, dass zusätzliche Sedierungen und Narkosen vermieden werden und möglichst nichtinvasive Methoden und vollimplantierbare Kathetersysteme Anwendung finden. Auch bei kurzen Narkosen ist ein intravenöser Zugang generell erforderlich, um im Bedarfsfall schnell applizieren zu können.

Weiterhin ist auf Angstvermeidung durch geeignete Prämedikation und auf sorgfältige, druckfreie Lagerung und Fixierung besonders bei länger dauernden Eingriffen zu achten. Augensalbe verhindert das Austrocknen der Kornea.

Narkose und chirurgische Eingriffe sind nur von fachkundigen Personen durchzuführen.

Nachsorge:

Operierte Tiere müssen möglichst in Gegenwart von Artgenossen, jedoch auch sicher vor Artgenossen untergebracht werden. Boxen können z.B. durch mobile Trenngitter unterteilt werden.

An den ersten drei postoperativen Tagen ist eine mehrmalige klinische Kontrolle (ggf. auch nachts) erforderlich. Zumindest nach größeren Eingriffen, die mit der Eröffnung großer Körperhöhlen verbunden sind, muss ein postoperatives Protokoll geführt werden und im Tierraum einsehbar sein. Flüssigkeitsverluste sind ggf. auch an den postoperativen Tagen auszugleichen. Zur lückenlosen Schmerztherapie sind geeignete Systeme zu nutzen.

Literatur über Anästhesie:

- Flecknell, P.A. (2002) Laboratory Animal Anaesthesia. Academic Press:London
- Henke J. et al (1995) General anaesthesia in several mammal species. Der Tier-schutzbeauftragte
2/95, 171-1
- Kohler, I. et al. (1999) Is carbon dioxide (CO₂) a useful short acting anaesthetic for small laboratory
animals? Laboratory Animals 33, 155-161
- Kohn, D.F., Wixson, S.K., White, W.J., Benson, G.J. (eds) (1997) Anaesthesia and Analgesia in
Laboratory Animals. Academic Press:San Diego
- Levine S and Saltzman A (2000) Laboratory Animals 34, 301-306

- Paddleford R.R., Erhardt W. (Hrsg.) Anästhesie bei Kleintieren. Schattauer:Stuttgart-New York

1992

- Waynforth, H.B., Flecknell, P.A. (1992) Experimental and Surgical Technique in the Rat.

Academic Press:London

11. Kontrolle des Versuchsverlaufs und Schmerzlinderung durch Medikamente

Alle am Experiment beteiligten Personen müssen in der Lage sein, Schmerzen bei ihren Versuchstieren zu erkennen.

Die am einfachsten feststellbaren und zugleich deutlichsten Hinweise auf Belastungszustände sind: unnatürliche Körperhaltung, verminderte oder eingestellte Bewegungsaktivität, verringerte Futter- und Wasseraufnahme, Abnahme des Körpergewichts.

Wenn ein Wirbeltier erkennen läßt, daß es während oder nach einem chirurgischen Eingriff Schmerzen hat oder aus Erfahrung (z. B. ähnliche Eingriffe beim Menschen oder Haustieren) bekannt ist, daß ein Eingriff Schmerzen verursacht, müssen Analgetika eingesetzt werden, sofern nicht zwingende Gründe dagegen sprechen (§ 1 TierSchG). Die Gabe von Schmerzmitteln wird oft mit dem Hinweis auf ihre Nebenwirkungen und die damit verbundenen Nachteile für Tier und Experiment abgelehnt. Doch bei Wahl geeigneter Mittel, genauer Kenntnis ihrer Nebenwirkungen und Einhaltung der Dosierungsempfehlung sind die Risiken eher gering. Wichtige Hinweise auf die Nebenwirkung bestimmter Analgetika enthält die Broschüre „Schmerztherapie bei Versuchstieren“ (GV-SOLAS).

Außerdem ist zu bedenken, daß jeder größere Eingriff auch pathophysiologische Reaktionen (z. B. Veränderungen im Stoffwechsel und hormonellen Gleichgewicht) auslöst und das für Tage. Demgegenüber fällt eine ein- bis zweitägige Analgesie meist geringer ins Gewicht. Ferner ist zu berücksichtigen, daß bei einem Tier, das wegen starker Schmerzen kein Futter und Wasser aufnimmt, die Versuchsaussage ebenfalls beeinflusst wird.

Ein anderer Einwand gegen die Gabe von Schmerzmitteln, der jedoch nicht stichhaltig ist, lautet, Analgesie nach Operationen würde den Heilungsprozeß verlangsamen, weil das Tier bei Wegfall der „Schutzfunktion des Schmerzes“ den empfindlichen Körperteil nicht mehr schone. Doch durch Sedativa und Tranquilizer kann die Bewegungsaktivität des Patienten reguliert werden, soweit nicht durch die Analgetika selbst schon eine sedierende Wirkung erzielt wird. Die „Schutzfunktion“ von postoperativen Schmerzen zu nutzen ist allenfalls bei geringgradiger Belastung vertretbar. Andererseits muß berücksichtigt werden, daß ein an Schmerz leidendes Tier der Ruhe bedarf und die Applikation von Schmerzmitteln als Störung und zusätzliche Belastung empfunden wird. Daher wird die Applikation eines langwirkenden Schmerzmittels (z. B. Buprenorphin = TemgesicR) noch während der Anästhe-

sie empfohlen. Hierdurch wäre auch die unmittelbar postoperative Zeit analgetisch abgedeckt. Die Nebenwirkungen von Buprenorphin sind zu beachten (Jacobson 2000). Als Alternative zum betäubungsmittelpflichtigen Buprenorphin bietet sich bei kleinen Eingriffen auch Metamizol (Novalgin) an; es ist ebenfalls während der Anästhesie zu verabfolgen.

Literatur zum Erkennen von Belastungszuständen:

- Bundesamt für Veterinärwesen der Schweiz (1994) Retrospektive Einteilung von Tierversuchen
nach Schweregraden (Belastungskategorien). www.bvet.admin.ch/
- FELASA/GV-SOLAS (1995) Schmerz und Distress bei Labornagern und Kaninchen. Gelbe Hefte
der GV-SOLAS bzw.: Laboratory Animals (1994) 28, 97-112
- LASA Working Party (1990) The assessment and control of the severity of scientific procedures on
laboratory animals. Laboratory Animals 24, 97-139
Deutsche Fassung: Gärtner K und Militzer K (1993) Zur Bewertung von Schmerzen, Leiden und
Schäden bei Versuchstieren. Schriftenreihe Versuchstierkunde 14. Parey: Berlin und Hamburg
- Morton D B (1997) A scheme for the recognition and assessment of adverse effects in animals.
In: van Zutphen LFM and Balls M (eds.) Animal Alternatives, Welfare and Ethics. Elsevier: Amsterdam
- TVT-Empfehlung Nr. 32 Schmerz beim Versuchstier

Hinweise zur Schmerztherapie sowie Angaben zur Dosierung:

- Flecknell P A (1994) Refinement of animal use - assessment and alleviation of pain and distress.
Laboratory Animals 28, 222-231
- Flecknell et. al. (1999) Use of oral buprenorphine (jello) for postoperative analgesia in rats - a
clinical trial. Laboratory Animals 33, 169-174
- GV-SOLAS (2002) Schmerztherapie bei Versuchstieren. Gelbe Hefte der GV-SOLAS
- Jacobson C (2000) Adverse effects on growth rates in rats caused by buprenorphine administration.
Laboratory Animals 34, 202-206

- GV-SOLAS (2002) Schmerztherapie bei Versuchstieren
- TVT-Empfehlungen Nr. 52 "Zur Schmerzbehandlung beim Versuchstier"

12. Leidensbegrenzung durch rechtzeitige Tötung des Versuchstieres

Gemäß §1 des deutschen Tierschutzgesetzes darf niemand "einem Tier ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen". Für Versuche, bei denen die Tiere zunehmend schweren Belastungen ausgesetzt sind, in deren Folge sie absehbar sterben werden, sind daher bereits im Versuchsplan des Tierversuchsantrags konkrete Abbruchkriterien festzulegen, bei deren Auftreten die Tiere ohne Verzögerung schmerzlos getötet werden. In §9 (3) ist hierzu vorgeschrieben, dass "bei Tierversuchen zur Ermittlung der tödlichen Dosis oder tödlichen Konzentration eines Stoffes...das Tier schmerzlos zu töten ist, sobald erkennbar ist, das es infolge der Wirkung des Stoffes stirbt".

Für die British Veterinary Association (1983) gilt folgender Grundsatz:

"Alle Genehmigungen (von Tierversuchen) sollten Bestimmungen enthalten, die dafür sorgen, daß ein Tier, das unter schweren Schmerzen oder schwerem Distress leidet, die nicht gelindert werden können, getötet wird, selbst wenn das Versuchsziel nicht erreicht wurde".

Die rechtzeitige Tötung des Versuchstieres liegt auch im Interesse des Experimentators und der Experimentatorin, wenn die Organe des Tieres histologisch oder mikrobiologisch untersucht werden sollen. Ferner ist - abhängig vom Versuchsziel - zu überlegen, ob von einem schwer leidenden Tier überhaupt verwertbare Daten gewonnen werden können. Ist der Tod als Endpunkt des Experiments vorgesehen, so muß hierfür eine zwingende Begründung angegeben werden.

Einige charakteristische Anzeichen für den Zustand moribunder Tiere gibt Tabelle 1 wieder.

Tabelle 1: Ausgewählte Kriterien für die Tötung moribunder Tiere im Experiment (nach Montgomery, 1987)

- Rascher Gewichtsverlust (15% bis 20% innerhalb weniger Tage)
- Länger anhaltender Gewichtsverlust bis hin zur völligen Abmagerung
- Zunehmender Haarausfall (krankheitsbedingt)
- Struppiges Fell, kauernde Körperhaltung, geblähtes Abdomen und Lethargie, besonders

- infolge Schwäche oder andauernd (3 Tage)
- Durchfall, besonders wenn schwächend oder andauernd (3 Tage)
- Husten, Keuchen, Lungengeräusche, Nasenausfluß
- Ausgeprägter Ikterus und/oder Anämie
- ZNS-Zeichen wie Schiefhalten des Kopfes, Zittern, Zucken, Krämpfe, Kreisbewegungen
oder Parese, besonders in Verbindung mit Inappetenz
- Lähmung
- Blutung aus einer Körperöffnung
- Deutlich verfärbter Urin, Polyurie oder Anurie
- Anhaltende Selbstverstümmelung
- Verletzungen, die Nahrungsaufnahme verhindern oder erschweren
- Klinische Zeichen einer vermutlichen Infektionskrankheit, die zwecks Diagnose eine Sektion erfordern

Eine wertvolle Hilfe für die schonende Versuchsdurchführung und zur Ermittlung des recht-zeitigen Zeitpunkts für den evt. Abbruch des Versuch sind Checklisten, die jedes belastende Experiment begleiten sollten, und in denen laufend der Gesundheitszustand der Tiere protokolliert wird. Die Checkliste wird zusammen mit dem Versuchsplan erstellt und führt sowohl objektiv messbare Parameter (z.B. Körpertemperatur) und möglichst eindeutige klinische Symptome (z.B. Dyspnoe) auf, wie auch spezifische Veränderungen, die für den klinischen Verlauf des jeweiligen Experiments charakteristisch sind. Die tägliche (evt. auch häufigere) Verwendung der Liste erleichtert die sorgfältige Beobachtung und relativ objektive Bewertung des Gesundheitszustandes auch durch das Laborpersonal und die Tierpfleger(in), so dass der Versuchsleiter/ die Versuchsleiterin rechtzeitig darüber unterrichtet werden kann, wann ein Tier zu behandeln bzw. zu töten ist.

Literatur

- Morton, D.B.: Humane endpoints in animal experimentation for biomedical research: ethical, legal

and practical aspects. In: Hendriksen, CFM and Morton, DB (eds.) Humane Endpoints in Animal

Experiments for Biomedical Research. Proceedings of the International Conference, 22-25

November 1998, Zeist, NL. Royal Society of Medicine Press, London, 1999

- British Veterinary Society (1983): Policy on Animal Experimentation ILAR NEWS 27, 17-20

- GV-SOLAS/TVT-Empfehlung (1999): Kriterien zur vorzeitigen Tötung von tumor-tragenden Mäusen

und Ratten im Versuch

- Montgomery, C.A. (1987): Control of animal pain and distress in cancer and toxicological research. *Journal of the*

American Veterinary Medical Association 191, 1277-1281

Wie ein für das Experiment spezifisches Belastungsprotokoll gestaltet werden kann, ist den Tabellen 2 und 3 (im Anhang) zu entnehmen:

13. Tierschutzgerechte Tötungsmethoden

Vor der Tötung sind längere Transporte zu vermeiden, da die Belastung geringer ist, wenn Tiere in ihrer vertrauten Umgebung getötet werden. Auch soll das Töten nicht in Gegenwart von Artgenossen vorgenommen werden, da z.B. gestresste Ratten durch Ultraschallrufe und Absonderung von Geruchsstoffen ihre Artgenossen beunruhigen können. Wegen der Kontaminierung von Tötungsgeräten durch Geruchsstoffe sind diese jedes mal zu reinigen.

Die Tötung darf nur durch Personal vorgenommen werden, Erfahrung und Eignung besitzt (§ 4 TierSchG) und mit den evt. erforderlichen Geräten sicher umgehen kann. Da Töten für viele Menschen eine psychische Belastung bedeutet, sollte der Wissenschaftler /die Wissenschaftlerin diese Aufgabe nicht an das Laborpersonal delegieren, sondern selbst vornehmen.

Als Beispiel für eine schonende Methode für die Tötung von kleinen Nagetieren wird die CO₂-Euthanasie genannt. Hierbei können die Tiere in ihrem Käfig verbleiben, in den das Gas langsam (ohne Zischen) eingeleitet wird. Diese Abfolge verursacht wahrscheinlich eine geringere Exzitation als das Verbringen der Tiere in eine bereits mit CO₂ vorgefüllte Kammer (Coenen et al 1994). Als noch schonender wird die Einleitung der Euthanasie durch Carbogen (40% O₂/60% CO₂ bzw. 30% O₂/70% CO₂), gefolgt von reinem CO₂ beschrieben (Coenen et al. 1994). In jedem Fall ist sicherzustellen, dass der Tod auch tatsächlich eingetreten ist (ausbleibender Cornealreflex, Abwarten der Totenstarre, Dekapitation). Morton (2003) hält CO₂ für die Euthanasie für nicht geeignet und empfiehlt für das Töten von Ratten und Mäusen Argon.

Ausführlichere Hinweise zu diesem Thema, insbesondere für das unterschiedliche Vorgehen gemäß Tierart, Geschlecht und Alter sind folgenden Publikationen zu entnehmen:

- Bundesamt für Veterinärwesen (1993) Richtlinien für das fachgerechte und tierschutzkonforme Töten
von Versuchstieren

- Coenen AML et. al. (1994) Carbon dioxide euthanasia in rats: oxygen supplementation minimizes

signs of agitation and asphyxia. *Laboratory Animals* 29, 262-268

- Hackbarth et al. (2000) Euthanasia of rats with carbon dioxide – animal welfare aspects.

Laboratory Animals 34, 91-96

- Morton D (2003) zit. in: *ALTEX* 20, 110

- Recommendations for euthanasia of experimental animals (EU working party)

Laboratory Animals 30, 293-316 (1996) und 31, 1-32 (1997)

- Schatzmann u. Mitarb. (1992) Bewertung der gebräuchlichsten Tötungsmethoden. *Tierlaboratorium*

15, 95-98

Anhang

Tabelle 2: Beispiel für eine Checkliste (Belastungsprotokoll): Versuch mit einem Schaf, bei dem eine Stenose der A. femoralis angelegt wurde (nach Morton)

Operationsdatum

Gewicht vor der Operation:

Tag:

Stunde:

Dauer der Operation:

| Datum/Uhrzeit |
|----------------------------------|
| Verhalten aus der Distanz |
| Isoliert |
| Zähneknirschen |
| Respirationsrate |
| |
| Handling |
| Gewicht (kg) |
| Gewichtsunterschied (+/- %) |
| Temperatur (°C) |
| Wunde (OK?/verändert?) |
| Füße fühlen sich kühl an |
| Verringerter Femoral-Puls |
| Bein: Parese |
| Lahmheit |
| Zögernde Bewegung |

Andere Zeichen**Besondere Pflegeanweisungen:**

Der Tierarzt/die Tierärztin ist sofort zu informieren, wenn das Körpergewicht vermindert ist, wenn die Temperatur ansteigt oder ein anderes auf der Tabelle aufgeführtes Zeichen vom Normalzustand abweicht.

Humane Endpunkte: Jedes Tier wird getötet, das

- sich nicht in guter klinischer Verfassung befindet
- > 10% seines Körpergewichtes verliert
- für > 24 Stunden Lahmheit zeigt
- Inappetenz/verminderte Nahrungsaufnahme für > 3 Tage zeigt

Wissenschaftliche Maßnahmen: Die Arteria femoralis ist zu entnehmen und in Formalinlösung zu konservieren.

Unterschrift

Tabelle 3: Beispiel für eine Checkliste (Belastungsprotokoll): Versuch mit Ratten (nach Morton)

Die Bewertung der Symptome erfolgt mit + (vorhanden), - (abwesend) oder +/- (nicht sicher)

Datum:

Körpergewicht vor dem Eingriff:

| Datum/Uhrzeit |
|--|
| Beobachtung aus der Distanz |
| Tier ist inaktiv |
| Tier isoliert sich |
| Laufen auf Zehenspitzen |
| Kauernde Haltung |
| Struppiges Haarkleid |
| Art der Atmung ¹ |
| |
| Verhalten aus der Nähe u. b. Anfassen |
| Tier reagiert nicht auf Berührung |
| Tier nimmt keine Nahrung auf |
| Tier trinkt nicht |
| Körpergewicht (g) |
| % Veränderung s. Versuchsbeginn |
| Körpertemperatur (C°) |
| Eingesunkene Augen |
| Dehydratation |
| Diarrhoe |
| Aufgetriebener/geschwollener Leib |
| Vokalisation b. vorsichtiger Palpation |
| |
| Nichts Unnormales festgestellt (ja/nein) |

Andere, nicht in der Tabelle aufgeführte Zeichen:

Humane Endpunkte:

Das Tier muss getötet werden, wenn es

- innerhalb der ersten 24-48 Stunden ins Koma fällt.
- 7 Tage nach Versuchsbeginn weniger als vor dem Versuch wiegt.
- auf Zehenspitzen läuft oder eine schwerfällige Gangart zeigt.

¹Atmung: beschleunigt, flach, angestrengt, keuchend

Unterschrift

**Werden Sie Mitglied in der
Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz e.V.**

Die Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz wurde im Jahre 1985 gegründet, um der Schutzbedürftigkeit des Tieres in allen Bereichen und Belangen Rechnung zu tragen. Gerade der Tierarzt mit seinem besonderen Sachverstand und seiner Tierbezogenheit ist gefordert, wenn es gilt, Tierschutzaufgaben kompetent wahrzunehmen. Dieses geschieht in Arbeitskreisen der TVT, die zu speziellen Fragenkomplexen Stellung nehmen.

Jede Tierärztin und jeder Tierarzt sowie alle immatrikulierten Studenten der Veterinärmedizin können Mitglied werden. Der Mitgliedsbeitrag beträgt € 40,- jährlich für Studenten und Ruheständler 20 €.

Durch Ihren Beitritt stärken Sie die Arbeit der TVT und damit das Ansehen der Tierärzte als Tierschützer. Unser Leitspruch lautet:

„Im Zweifel für das Tier.“

Weitere Informationen und ein Beitrittsformular erhalten Sie bei der

Geschäftsstelle der TVT e. V.

Bramscher Allee 5

49565 Bramsche

Tel.: 0 54 68 92 51 56

Fax: 0 54 68 92 51 57

E-mail: geschaeftsstelle@tierschutz-tvt.de

www.tierschutz-tvt.de