



**Ausschuss für Tierschutzbeauftragte in der GV-SOLAS¹
und
Arbeitskreis 4 in der TVT²**

Empfehlung zur Substanzapplikation bei Versuchstieren

(Auflage: August 2010)

1. Grundsätzliches

Die vorliegende Empfehlung wurde verfasst für Antragsteller, Tierschutzbeauftragte und Behörden. Sie soll eine Orientierungshilfe für tierschutzgerechtes Arbeiten sein und der Standardisierung der heute angewandten Verfahrensweisen dienen. Bei Einhaltung der in der Tabelle angegebenen Volumina wird die Durchführung der Applikationsmaßnahme in der Regel einen geringen Belastungsgrad - bezogen auf das applizierte Volumen - nicht übersteigen.

Die in der Tabelle angegebenen Werte stellen Empfehlungen dar, von denen bei entsprechender experimenteller Erfordernis abgewichen werden kann, sofern die Genehmigung dazu vorliegt. Dieses Vorgehen sowie die möglicherweise daraus resultierende höhere Belastung für die Tiere muss im Antrag begründet werden.

Bei der vorliegenden Empfehlung handelt es sich um eine Neuauflage mehrerer Vorläuferempfehlungen zum Thema Applikationsvolumina. Die Tabelle wurde um weitere Angaben ergänzt und einige der dort angegebenen Werte weichen teilweise deutlich von denen der früheren Auflagen ab. Dies liegt darin begründet, dass sich in jüngerer Zeit zahlreiche neue Erkenntnisse hinsichtlich der Applikationsvolumina und ihrer Verträglichkeit für die Tiere ergeben haben. Die Herausgeber haben diesem Umstand Rechnung getragen.

Die angegebenen Volumina gelten für die Verwendung gut resorbierbarer, wässriger Lösungen (siehe auch nachfolgende Anmerkungen); also nicht für Immunisierungen, bei denen mit deutlich geringeren Volumina gearbeitet werden muss, z. B. bei der Verwendung von Freund'schem Adjuvans (siehe TVT-Merkblatt Nr. 4).

¹ Dr. Rüdiger Hack, Christine Krüger, Dr. Lutz Ruprecht, Dr. Heinz-Peter Scheuber, Dr. Renate Thiel, Heike Weinert und Dr. Jürgen Weiss

² Dr. Cornelia Fritz

2. Injektionslösungen

Anforderungen an Injektionslösungen:

- isoton
- körperwarm
- pH-neutral (pH 7,0 - 7,3); in Abhängigkeit vom Applikationsweg unter Umständen auch in einem anderen pH-Bereich.
Die Toleranz gegenüber dem pH-Wert nimmt in folgender Reihenfolge ab:
oral > intravenös > intramuskulär > subkutan

Konzentration, chemische Zusammensetzung und physikalische Eigenschaften der Injektionslösung sollten so beschaffen sein, dass es nicht zu allgemeinen Schäden oder lokalen Reizungen kommt. Hyper- und hypotone Lösungen oder Lösungen in einem unphysiologischen pH-Bereich können, z. B. bei perivaskulärer Injektion, zu erheblichen Schmerzen und Gewebeerstörung sowie zur Schädigung von Erythrozyten (Hämolyse) führen.

3. Applikationswege

In Abhängigkeit vom Versuchsziel sind verschiedene Applikationsrouten möglich, wobei jeweils die für das Tier schonendste Methode gewählt werden sollte. Bei allen Injektionsmethoden muss vorher aspiriert werden.

Orale Verabreichungen können über Futter, Trinkwasser, oropharyngeale Eingabe oder per Schlundsonde vorgenommen werden.

Subkutane Injektionen sind empfehlenswert. Ausnahme: lokal reizende Substanzen, die ausschließlich intravenös verabreicht werden müssen.

Intramuskuläre Injektionen sind grundsätzlich für die meisten Tiere schmerzhaft. Das Injektionsvolumen sollte daher so klein wie möglich sein, bzw. die Injektionslösung sollte auf mehrere Stellen verteilt werden. Die Injektion sollte langsam und unter Beachtung der anatomischen Verhältnisse (Nervenstrukturen!) vorgenommen werden.

Intravenöse Injektionen sind bei allen lokal reizenden Substanzen zu bevorzugen. Dabei ist darauf zu achten, dass keine Luft injiziert wird (Emboliegefahr!). Emulsionen und partikuläre Substanzen dürfen bis auf wenige Ausnahmen nicht intravenös appliziert werden.

Paravenöse Injektionen sind unbedingt zu vermeiden, da es zu sehr schmerzhaften Venenentzündungen/-obliterationen sowie Nekrosen des umliegenden Gewebes kommt. Vorsichtshalber sollte daher die Kanüle weit in das Gefäß eingeführt werden und der korrekte Sitz durch Aspiration geprüft werden. Bei Verwendung von Metallnadeln kann die Vene durch plötzliche Bewegung des Tieres verletzt werden, so dass reizende Lösungen vorsichtshalber über einen Venenkatheter verabreicht werden sollten.

Bei der **intrapertitonealen** Injektion besteht die Gefahr einer versehentlichen Punktion von Bauchorganen (z. B.: Harnblase, Darm, Leber, Milz), die mit erheblichen Schmerzen verbunden sein können. Stichverletzungen parenchymatöser Organe sind jedoch selten und aufgrund der klinischen Befunde leicht erkennbar. Weniger offensichtlich sind partielle oder totale Fehlinjektionen in die Subkutis, die Blase oder den Magen-Darm-Trakt, hier v.a. das Caecum. Da bei den meisten Ratten das Caecum linksseitig liegt, sollte die Injektion auf der rechten Seite vorgenommen werden. Bei wiederholter i.p.-Applikation bzw. bei Verwendung leicht reizender Vehikel kann es zu Peritonitiden, Verwachsungen oder Fremdkörpergranulomen kommen.

Intradermale Injektionen müssen langsam erfolgen, da sonst das Ziel, die gesamte Flüssigkeit **in** der Oberhaut zu verteilen, nicht erreicht werden kann. Während der Injektion muss die Nadel langsam bewegt werden; die Epidermis soll nicht durchstochen werden. Diese Injektionsart ist i. d. R. schmerzhaft und es können nur sehr kleine Mengen appliziert werden.

Die **intrazerebroventrikuläre** Injektion muss in Narkose (Ausnahme: bestehende Implantate) und ganz besonders langsam erfolgen! Üblicherweise wird sie mit speziellen Pumpen unter Verwendung eines stereotaktischen Apparats durchgeführt. Nach der Applikation sollte mindestens 30 sec gewartet werden, bevor der Injektor wieder aus dem Gewebe entfernt wird.

4. Verteilungsgeschwindigkeit

Die Verteilungsgeschwindigkeit im Tierkörper ist abhängig vom Applikationsweg und nimmt in folgender Reihenfolge ab:

intravenös > intraperitoneal > intramuskulär > subkutan > oral

5. Empfohlene Volumina für die Applikation von Substanzen (s. Tab. S. 4)

Die Angaben in der Tabelle verstehen sich pro Tier oder Injektionsstelle bzw. je kg Körpergewicht (KGW). Es wird nach Applikationswegen unterschieden, empfohlene Kanülengrößen (G) werden angegeben.

Für Neugeborene und Jungtiere muss die Zahl der Injektionsstellen bzw. das eingesetzte Volumen entsprechend verringert werden.

Für Immunisierungen sowie für Infusionen gelten andere Bedingungen! Weitergehende Informationen finden sich in entsprechenden Publikationen.

6. Literatur

- BVA/AFW/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement (2001) Laboratory birds: refinements in husbandry and procedures. *Laboratory Animals* 35 (S1)
- Coria-Avila GA et al. (2007) Cecum location in rats and the implications for intraperitoneal injections. *Lab Animal* 36 (7): 25-30
- Diehl KH et al. (2001) A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol* 21: 15-23
- Duke University and Medical Center. Animal Care & Use Program. Guidelines for techniques in rodents http://vetmed.duhs.duke.edu/guidelines_for_maximal_injections.htm
- Güttner J (1975) Komplikationen und Folgen der intraperitonealen Applikation im Tierexperiment, *Die Pharmazie* 30: 129-133
- Hull RM (1995) Guideline limit volumes for dosing animals in the preclinical stage of safety evaluation. *Hum Exp Toxicol* 14, 305-307
- Keeble E, Meredith (2009) BSAVA Manual of rodents and ferrets. Replika Press Pvt. Ltd, India
- Korbel R, König HE (2009) Applikations- und Blutentnahmetechniken. In: König HE, Korbel R, Liebich HG. *Anatomie der Vögel – Klinische Aspekte und Propädeutik der Zier-, Greif-, Zoo- und Wildvögel und des Wirtschaftsgeflügels*, 2. Aufl., Schattauer Stuttgart: 305-320
- Lukas VS (1999) Volume Guidelines for Compound Administration. In: *The Care and Feeding of an IACUC*, Ed. M. L. Podolsky. CRC press, 1st edition, pp 187-188
- Morton DB et al. (2001) Refining procedures for the administration of substances. *Laboratory Animals* 35: 1-41
- Sharp PE, LaRegina MC (1998) *The laboratory rat. A volume in the laboratory animal pocket reference series.* CRC Press LLC, Boca Raton
- Smith D (1999) Dosing limit volumes: A European view. Humane Society of the United States Refinement Workshop, New Orleans
- Terril LA, Clemons DJ (1998) *The laboratory guinea pig. A volume in the laboratory animal pocket reference series.* CRC Press LLC, Boca Raton
- Tuffery AA (eds) (1987) *Laboratory Animals: An Introduction For New Experimenters.* Wiley, S. 225-246
- Weiss J, Becker K, Bernsmann E, Dietrich H, Nebendahl K (2008) *Tierpflege in Forschung und Klinik*, Enke Verlag, Stuttgart
- Wolfensohn SLloyd M (1994) *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare.* Oxford University Press, S. 155-163

Empfohlene Volumina für die Applikation von Substanzen
(angegeben jeweils Volumen / Kanülengröße)

Tierart	ml/kg KGW						ml pro Injektionsstelle				µl pro Tier		
	Subkutan ¹		Oraler Bolus	Intraperitoneal ²		Intravenöser ^{3,4} Bolus		Intradermal		Intramuskulär		Intrazerebroventrikulär ⁵	
		G			G		G		G		G		G
Hamster (Syr. Goldhamster)	10	23-25	10	10	23-25	5	25-27	0.02	27	0.05	24-25	3	28
Huhn	10	22	10	---		1	22	0.05	27	1	22		
Hund (Beagle)	1	21-23	5	---		2	21-25	0.1	27	5	21-23		
Kaninchen	10	23-25	10	5		2	23-25	0.05	27	1	25	80	28
Katze	10	23	10	---		1.5	21-25	0.1	27	1	23	80	28
Marmoset (<i>Callithrix jacchus</i>)	2	23-25	10	---		2	21-25	0.05	27	0.25	23-25		-
Makake	2	21-25	5	---		2	21-25		25	0.25	23-25		
Maus	10	25	10 ⁶	10	25-27	5	26-28	0.02	27	0.03 ⁷	27	3	28
Meerschweinchen	10	23-25	10 ⁸	10	23-25	5	25-27	0.1	27	0.25	25	5	28
Meriones (Mong. Wüstenrennmaus)	10	23	10	10	25	5	25	0.02	27	0.1	24	5	28
Minipig	1	20	10	1		2	20	0.1	27	5	20		
Ratte	10	25	10 ⁶	10	23-25	5	25-27	0.05	27	0.1	23-25	5	28
Schaf	1	20-23	10	---		2	19-21	0.1	27	4	21		
Vogel (Zebrafink)	10	27	10	---		5		---		0.05 ⁹	26-27		28

¹ Das Injektionsvolumen hängt von der Verschieblichkeit der Haut ab und muss unter Umständen auf mehrere Injektionsstellen verteilt werden.

² Bei vielen Tierarten (z. B. Hunde, Affen, Vögel) sind intraperitoneale Injektionen nicht üblich. Bei Vögeln besteht die Gefahr der Injektion in den Luftsack!

³ Die Injektionszeit beim i. v.-Bolus sollte mindestens 1 Minute und kann bis zu 2,5 Minuten betragen.

⁴ Bei Infusionen über 2 Stunden sollte das Maximalvolumen < 10 % des Blutvolumens betragen.

⁵ Glaskapillare oder durch Führungskanüle 22 G. Auf besonders niedrige Injektionsgeschwindigkeit achten (2 – 3 min bei Maus und Ratte)!

⁶ Maximal 5 ml pro Ratte und 1 ml pro Maus; bei viskösen Substanzen (z.B. Öle) max. 4 ml pro Ratte und 0.5 ml pro Maus.

⁷ Aufgrund der sehr geringen Muskelmasse wird diese Applikationsart nicht empfohlen.

⁸ Das Meerschweinchen hat ein sehr kleines palatales Ostium, das leicht beschädigt werden kann. Die Applikation per Schlundsonde wird nicht empfohlen.

⁹ Vorzugsweise i. m. Applikation: vor der Injektion Muskel anspannen, nach der Injektion entspannen. Bei größeren Volumina evtl. s. c. in die Kniefalte.