



Standardarbeitsanweisung (SOP) Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Applikationen im LTK Modul 1 SOP/Versions-Nr.: 04/01 Seite 1 von 14
---	--

Nummer der vorliegenden Version: 01	Autor 1: Maike Heimann ETH-LTK-Kooperation	Autor 2: Philippe Bugnon ETH-LTK-Kooperation
Inkrafttreten der vorliegenden Version:	31.08.2022  Unterschrift	31.08.2022  Unterschrift

Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
	SOP/Versions-Nr.: 04/01
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Seite 2 von 14

Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
	SOP/Versions-Nr.: 04/01
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Seite 3 von 14

Inhaltsverzeichnis

1. Gegenstand	4
2. Geltungsbereich	4
3. Zuständigkeiten	4
4. Applikationstechniken bei Maus und Ratte	4
4.1 Subkutane Applikation	4
4.1.1 Nackenfalte	4
4.1.2 Bauchfalte	5
4.2 Intraperitoneale Applikation	7
4.3 Orale Applikation	9
4.3.1 Freiwillige Aufnahme (Selbstdosierung/Voluntary Oral Uptake)	9
4.3.2 Schlundsonde	10
5. Intravenöse Applikation	11
5.1.1 Anatomie	11
5.1.2 Ablauf der intravenösen Applikation (Maus)	12
6. Revision der SOP	14
7. Grund für die Änderung der letzten Version dieser SOP	14
8. Ablage dieser SOP	14
9. Abkürzungen	14
10. Definitionen	14

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
	SOP/Versions-Nr.: 04/01
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Seite 4 von 14

1. Gegenstand

Die se SOP beschreibt die Durchführung von Applikationstechniken, die im Praktikum des LTK Moduls 1 (Einführungskurs in die Labortierkunde) vermittelt werden.

2. Geltungsbereich

Die vorliegende SOP gilt für die reine Beschreibung der Applikationstechniken, wie sie im Praktikum des LTK Moduls 1 durchgeführt werden, wobei didaktische Mittel der Vermittlung der Fertigkeiten an die Kursteilnehmenden nicht berücksichtigt werden.

3. Zuständigkeiten

Die jeweilige Leitung des Praktikums sowie die durchführenden Tutoren/Tutorinnen der Praktikumseinheiten sind zuständig für die Einhaltung der Vorgaben dieser SOP.

4. Applikationstechniken bei Maus und Ratte

4.1 Subkutane Applikation

Kanülen und Spritzen werden vorbereitet, physiologische Kochsalzlösung wird aufgezogen. Tiere werden erst aus ihren Käfigen für eine Applikation genommen, wenn das für die Applikation benötigte Material vorbereitet ist. Wenn zwischen Tieren gewechselt wird, wird auch die Kanüle ersetzt, so dass bei einem neuen Tier auch eine neue Nadel verwendet wird.

4.1.1 Nackenfalte

Die Tiere werden in den Zwangsgriff genommen (Maus: Zweihandzwangsgriff, siehe Abbildung 1; Ratte: lockerer Zwangsgriff).

Folgende Kanülengrößen werden benutzt:

- Maus: 26G mit 13mm oder 23mm langer Kanüle
- Ratte: 26G mit 23mm langer Kanüle (≤ 300 g schwere Tiere) oder 24G mit 25mm langer Kanüle (> 300 g schwere Tiere)

Das Applikationsvolumen ist 10mL/kg (Maus) oder 1mL/kg (Ratte).

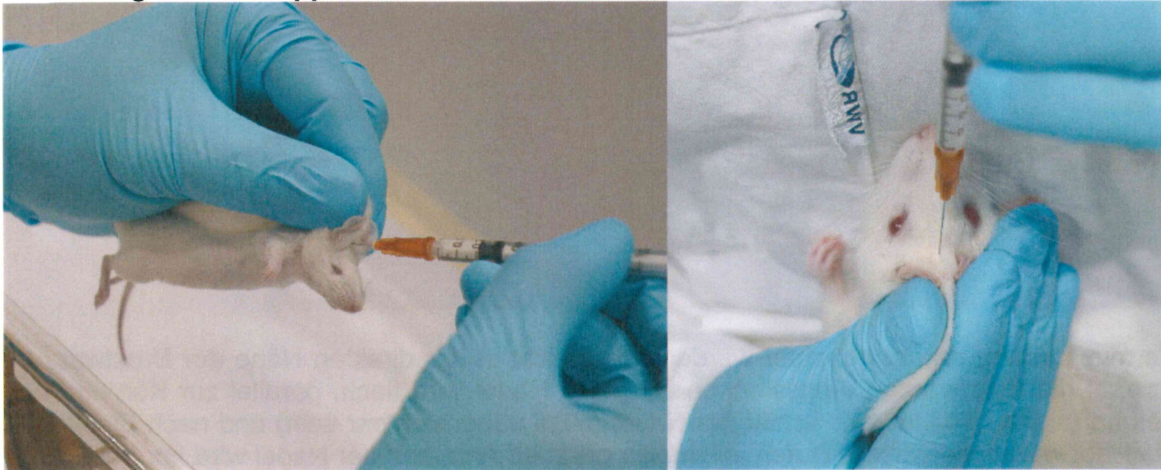
Die durch den Nackengriff entstehende Hautfalte bildet ein Dreieck zwischen den Fingern der durchführenden Person und beiden Ohren des Tiers. In dieses Dreieck, unterhalb der Finger der durchführenden Person wird die Kanüle mit aufgesetzter Spritze in die Nackenfalte nah am Schädel des Tiers eingestochen. Die Führungslinie ist dabei parallel zum Tier (siehe Abbildung 1), um eine Fehlapplikation (versehentliche intramuskuläre Injektion, Durchstechen der Haut, Stechen des eigenen Fingers, etc.) zu vermeiden. Der Nackengriff muss daher fest und sicher sein, so dass das Tier z.B. den Kopf kaum bewegen kann, was die Applikation behindern würde. Ist der Nackengriff nicht adäquat, darf nicht appliziert werden (der Griff muss erneuert werden). Bei der Applikation der Maus wird entweder der Ellenbogen auf den Tisch

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
	SOP/Versions-Nr.: 04/01
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Seite 5 von 14

oder das Handgelenk auf dem Käfigdeckel aufgestützt, um eine sichere Führung der Spritze zu gewährleisten. Bei der Applikation bei der Ratte kann das Tier zum selben Zweck vorsichtig an Brustbereich des eigenen Kittels gehalten werden (siehe Abbildung 2). Die Applikation wird zügig und unter Sichtkontrolle durchgeführt. So bald als möglich, wird das Tier aus dem Fixationsgriff befreit und auf eine etwaige Fehlapplikation (z.B. Reflux) kontrolliert. Danach wird das Tier wieder in den Heimkäfig verbracht.

Abbildung 1 und 2: Applikation in die Nackenfalte von Maus und Ratte



4.1.2 Bauchfalte

Die Applikation in die Bauchfalte erfolgt bei der Maus durch eine Person, die das Tier in den Zweihandzwangsgriff nimmt. Dieselbe Person appliziert auch. Anders bei der Ratte, bei der zu zweit gearbeitet wird: eine Person nimmt das Tier in den sicheren Zwangsgriff und die Applikation wird durch die zweite Person durchgeführt.

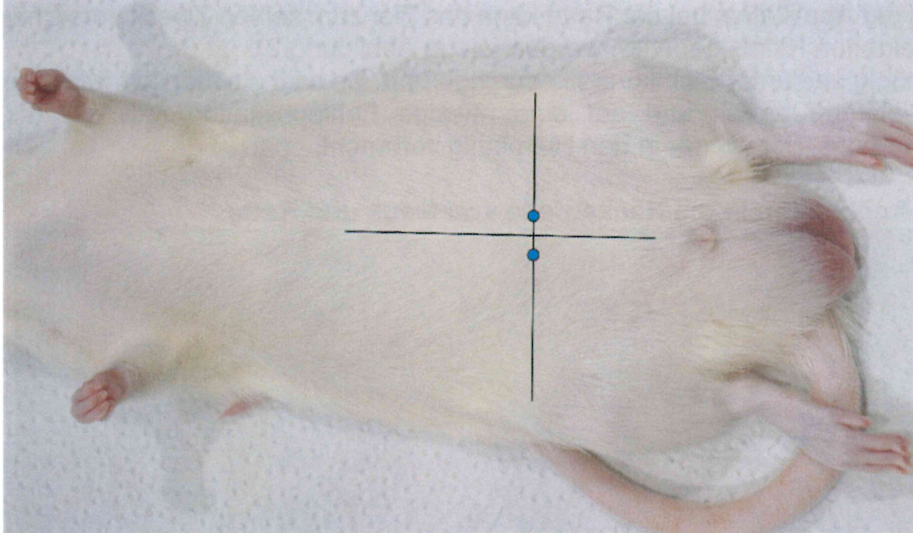
Folgende Kanülengrößen werden benutzt:

- Maus: 26G mit 13 oder 26mm langer Kanüle
- Ratte: 26G mit 23mm langer Kanüle

Das Applikationsvolumen ist 10mL/kg (Maus) oder 1mL/kg (Ratte).

Die Applikation in die Bauchfalte erfolgt kranial der gedachten Querlinie der Beckenknochen (Schutz der grossen Blutgefässe am Ansatz der Hintergliedmasse) und seitlich der Linea alba (paramedian, siehe Abbildung 3).

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

Abbildung 3: Hilfslinien für subkutane Applikation in die Bauchfalte (Ratte)

Es muss streng darauf geachtet werden, dass nicht in der direkten Nähe der Brustwarzen, bzw. in die Brustwarzen eingestochen wird. Die Nadel wird flach, parallel zur Körperachse geführt (siehe Abbildung 4; Schliff der Nadel muss dabei sichtbar sein) und nach Einstich in die Haut weitgeschoben. Durch minimales gerades Anheben der Nadel wird kontrolliert, ob die Nadel subkutan liegt. Erst dann wird appliziert. Bei den meisten Tieren setzt sich die applizierte Menge deutlich als Beule in der Haut ab. Das weitere Vorgehen ist gleich wie bei der Nackenfaltenapplikation beschrieben.

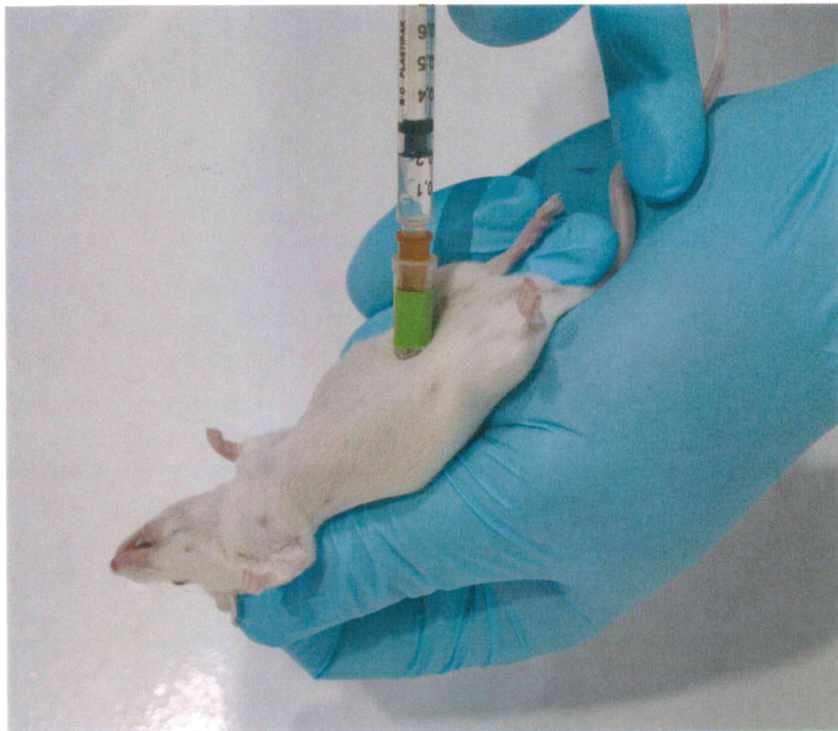
Abbildung 4: Applikation in die Bauchfalte der Maus

<p>Standardarbeitsanweisung (SOP)</p> <p>Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich</p>	<p>Applikationen im LTK Modul 1</p> <p>SOP/Versions-Nr.: 04/01</p> <p>Seite 7 von 14</p>
---	---

4.2 Intraperitoneale Applikation

Die intraperitoneale Applikation erfolgt bei der Maus durch eine Person, die das Tier in den Zweihandzwangsgriff nimmt. Dieselbe Person appliziert auch. Anders bei der Ratte, bei der zu zweit gearbeitet wird: eine Person nimmt das Tier in den sicheren Zwangsgriff und die Applikation wird durch die zweite Person durchgeführt. Das Tier wird nicht waagrecht, sondern mit tief positioniertem Kopf (ca. 60°) gehalten (siehe Abbildung 5).

Abbildung 5: Positionierung des Tiers für intraperitoneale Applikation



Um ein zu tiefes Eindringen der Nadel zu verhindern, wird ein „stop cap“ (siehe Abbildung 6) auf die Kanüle aufgesetzt, bevor diese eingestochen wird. Der „stop cap“ ist eine Kanülenhülle, deren Spitze abgeschnitten wird, so dass beim Aufsetzen des verbleibenden Rests der Hülle auf die Kanüle nur ein bestimmter Teil der Kanüle noch frei liegt (Länge der überstehenden Nadel Ratte 7-10mm, Maus 5-6mm). Die frei liegende Nadellänge wird durch die Größe des Tieres und das Vorhandensein von Fett unter der Haut (bei älteren Tieren) bestimmt, um sicherzustellen, dass die Nadelspitze die Bauchhöhle erreicht.

Folgende Kanülengrößen werden benutzt:

- Maus: 26G mit 13mm langer Kanüle mit „stop cap“, (Einstichwinkel ca. 60°)
- Ratte: 26G mit 23mm langer Kanüle mit „stop cap“ (Einstichwinkel ca. 60°)

<p>Nummer der vorliegenden Version:</p>	<p>Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon</p>
---	--

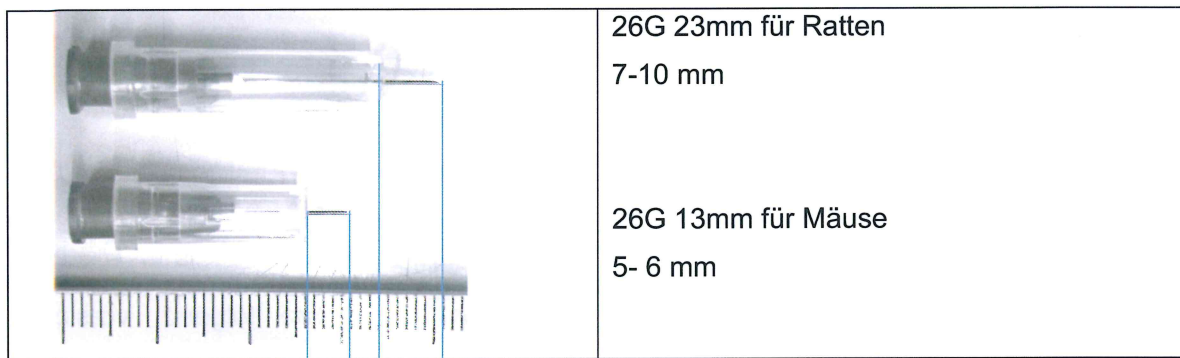
Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	SOP/Versions-Nr.: 04/01 Seite 8 von 14

Das Applikationsvolumen ist 10mL/kg (Maus) oder 1mL/kg (Ratte).

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	SOP/Versions-Nr.: 04/01 Seite 9 von 14

Abbildung 6: „Stop cap“ verhindert zu tiefes Eindringen in den Bauchraum bei intraperitonealer Applikation



Information kindly provided by the Swedish research animal facilities and the Nordic consortium for education and training in laboratory animal science (NCLASET).

Die intraperitonäale Applikation erfolgt cranial der gedachten Querlinie der Beckenknochen und seitlich der Linea alba. Es muss streng darauf geachtet werden, dass nicht in der direkten Nähe der Brustwarzen, bzw. in die Brustwarzen eingestochen wird. Die Nadel wird in einem 60°-Winkel eingestochen.

Durch eine Aspiration kann festgestellt werden, ob ein Organ verletzt wurde (Harnblase, Blutgefäße, ...). Durch die Verwendung des Stop caps und das Einführen der Nadel (wie oben beschrieben) wird verhindert, dass ein Organ in der Bauchhöhle verletzt wird. Daher kann bei Verwendung des Stop caps die Aspiration entfallen.

Wird Luft oder keine Flüssigkeit (auf Farbe achten) aspiriert, kann appliziert werden. Es wird darauf geachtet, ob Reflux der applizierten Kochsalzlösung beobachtet werden kann. Das Tier wird dann aus dem Fixationsgriff befreit und kurz beobachtet für den Fall, dass wider Erwarten fehlappliziert wurde (tritt dies auf, ist umgehend die Kursleitung zu informieren, die über das betreffende Tier entscheidet). Danach wird das Tier zurück in den Käfig verbracht.

4.3 Orale Applikation

4.3.1 Freiwillige Aufnahme (Selbstdosierung/Voluntary Oral Uptake)

Der Maus oder Ratte werden verschiedene kommerziell erhältliche Produkte des menschlichen Verzehrs (Babynahrung, Kondensmilch, Syrspend Suspensionslösung für Kinder, etc.) auf einem Spatel oder mit einer Pipette angeboten (Simulation einer Testsubstanz, die in die angebotene Menge eingemischt wurde). Die Tiere nehmen die Produkte selbstständig auf.

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

4.3.2 Schlundsonde

Die Tiere werden in den Zwangsgriff genommen (Maus: Zweihandzwangsgriff; Ratte: lockerer Zwangsgriff).

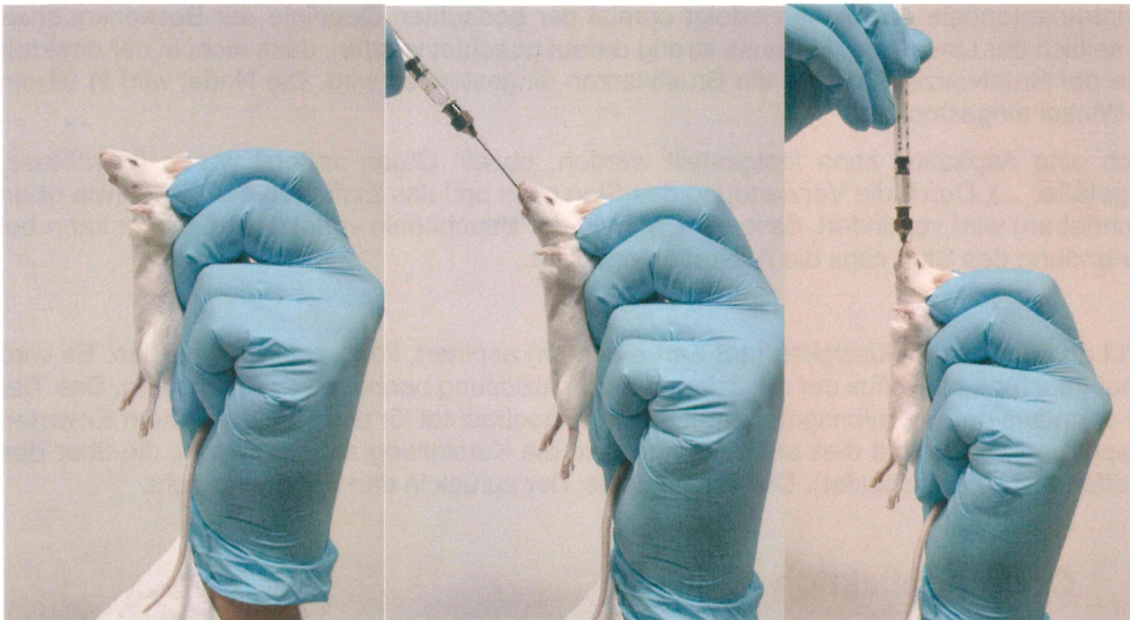
Folgende Schlundsondengrößen (Metall) werden benutzt:

- Maus: Fütterungssonde #8
- Ratte: Fütterungssonde #10

Das Applikationsvolumen ist 10mL/kg (Maus) oder 1 mL/kg (Ratte).

Die Tiere werden absolut senkrecht im Fixationsgriff gehalten (siehe Abbildung 7). Die Schlundsonde wird vorsichtig seitlich in das Maul eingeführt (siehe Abbildung 8). Der Kopf des Tiers wird vorsichtig nach hinten gedrückt (bis dass der Kopf mit dem Körper in einer Linie ausgerichtet ist) und die Sonde dem Verlauf der Speiseröhre folgend, vorsichtig vorangeschoben (siehe Abbildung 9)

Abbildung 7 bis 9: Maus im Fixationsgriff, Einführen der Schlundsonde in Maul und Endposition (Maus)



Zu keinem Zeitpunkt darf die Sonde gegen einen Widerstand weitergeschoben werden. Wird ein Widerstand bemerkt, ist die Sonde ein Stück zurückzuziehen und ein erneuter Versuch zu starten. Die Sonde wird vollständig eingeführt. Dabei ist auf den Schluckreflex des Tieres zu achten. Wird dieser beobachtet, kann die Applikation erfolgen.

Nach erfolgter Applikation wird das Tier (Maus mittels Tunnel Handling) zurück in den Käfig verbracht und für kurze Zeit beobachtet. Treten abnormale Symptome auf, ist die Kursleitung umgehend zu informieren, die über das weitere Vorgehen entscheidet.

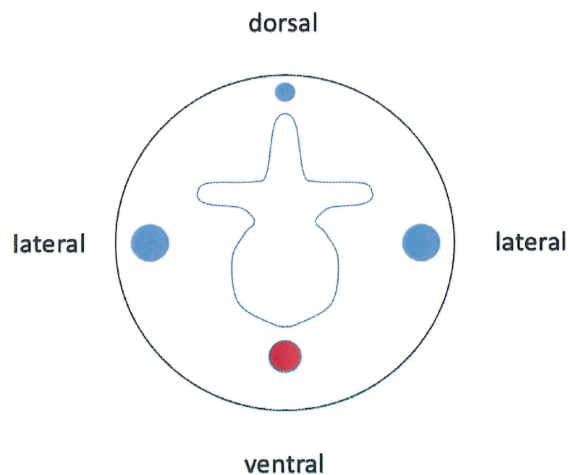
Standardarbeitsanweisung (SOP) Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Applikationen im LTK Modul 1 SOP/Versions-Nr.: 04/01 Seite 11 von 14
---	---

5. Intravenöse Applikation

5.1.1 Anatomie

An der Schwanzoberfläche von Mäusen sind vier Blutgefäße zu unterscheiden: drei Venen und eine Arterie (siehe Abbildung 10). Für die intravenöse Applikation werden vorzugsweise die Seitenvenen (laterale Venen) verwendet. Die dorsale Vene hat einen sehr kleinen Durchmesser und ist sehr schwer zu punktieren, selbst mit kleinen Nadeldurchmessern. Da sich das Tier im Restraîner um die eigene Achse drehen kann, ändert sich die Lage des Schwanzes. Es ist wichtig, die Position des Tieres und damit die Ausrichtung des Schwanzes zu bestimmen, um sicherzustellen, dass die Injektion intravenös vorgenommen wird.

Abbildung 10: Darstellung der Lage der Blutgefäße am Schwanz der Maus mit Venen (blau) und Arterie (rot)



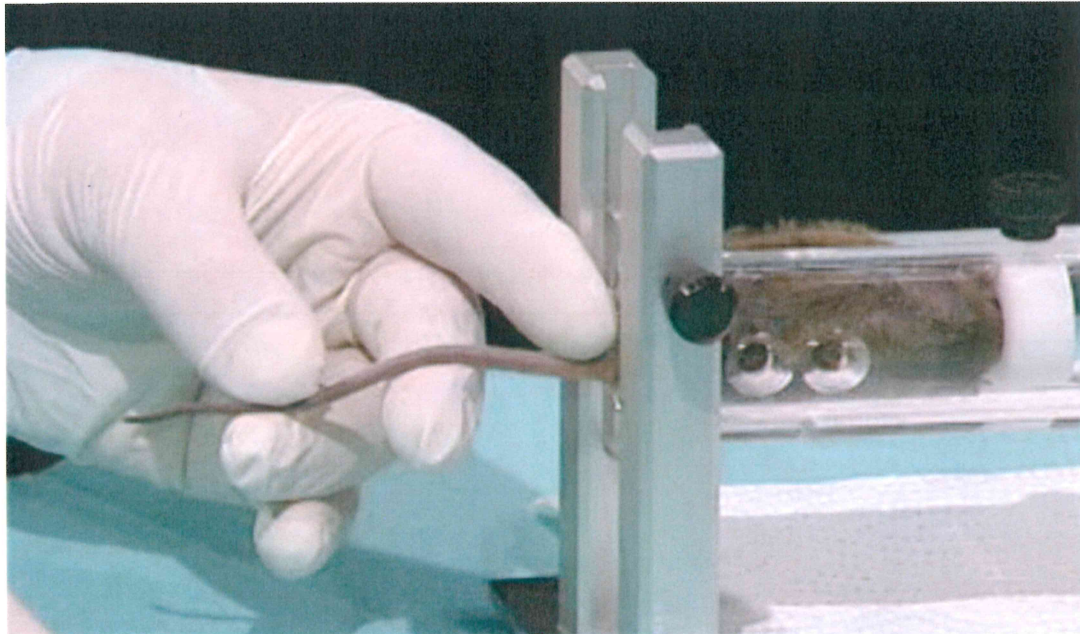
Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

Standardarbeitsanweisung (SOP) Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	Applikationen im LTK Modul 1 SOP/Versions-Nr.: 04/01 Seite 12 von 14
---	---

5.1.2 Ablauf der intravenösen Applikation (Maus)

Die Maus wird aus dem Käfig mittels Tunnelhandling genommen und auf den Käfigdeckel direkt vor den Restraîner gesetzt. Der Maus wird zunächst Zeit gegeben, von selbst in den Restraîner zu laufen, um zu prüfen, ob der Restraîner die richtige Grösse für das Tier hat (falls der Restraîner zu klein ist, wird er gegen ein grösseres Modell ausgetauscht). Das Tier wird wieder aus dem Restraîner genommen und rückwärts am Schwanz in den Restraîner gezogen. Die Maus wird bis zum Ende der Röhre des Restrainers gezogen, wobei der Schwanz in voller Länge ausserhalb der Röhre verbleibt. Das Verschlussstück des Restrainers wird in die Restrainerröhre eingeschoben und vorsichtig so weit wie möglich gegen die in der Röhre befindliche Maus gedrückt. Dabei ist darauf zu achten, dass die Nase der Maus in der Öffnung des Verschlussstücks zu liegen kommt, um die Atmung des Tiers zu gewährleisten. Die Maus muss in der Röhre so weit zusammengeschoben werden, dass sie sich nicht mehr drehen kann und Abwehrbewegungen einstellt. Die Stellschraube am Verschlussstück wird fixiert (siehe Abbildung 11).

Abbildung 11: Fixierte Maus im Restraîner, Ansicht auf laterale Schwanzvene



Für bessere Vasodilatation der Schwanzvene wird der Schwanz der Maus für 1-2 min in ein max. 42°C warmes Wasserbad getaucht (während die Maus weiterhin im Restraîner verbleibt). Es ist unbedingt darauf zu achten, dass die Temperatur des Wassers 42°C nicht übersteigt, da dies zu Entzündungen und Nekrosen im Schwanz führen kann. Vor der intravenösen Applikation wird der Schwanz aus dem Wasserbad genommen und sorgfältig trocken getupft.

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--

<p>Standardarbeitsanweisung (SOP)</p> <p>Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich</p>	<p>Applikationen im LTK Modul 1</p> <p>SOP/Versions-Nr.: 04/01</p> <p>Seite 13 von 14</p>
---	--

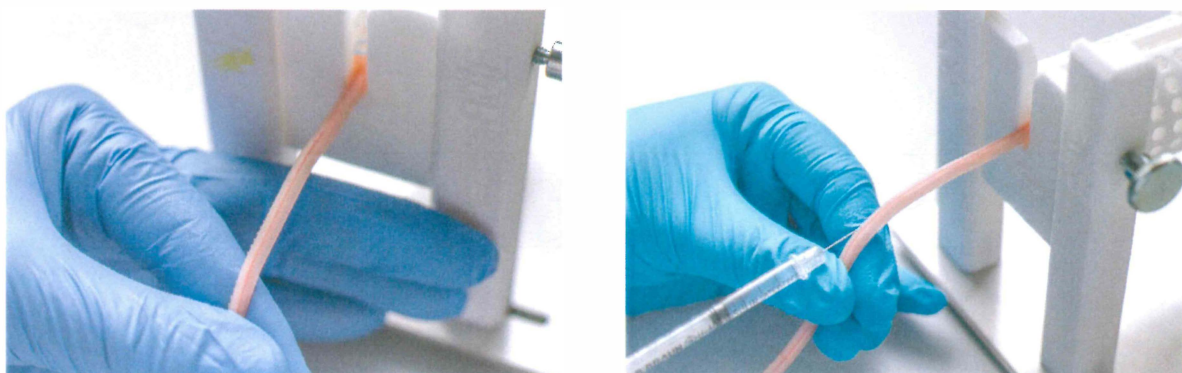
Der Schwanz wird nun langgezogen und die laterale Vene aufgesucht. Für bessere Stabilität wird der Schwanz auf den Zeigefinger der den Schwanz haltenden Hand gelegt und leicht gebogen. Zu starkes Biegen führt zu Kompression der Vene. Die Vene kann nun mit einer Insulinspritze (29G – 30G Nadel, 0.3 ml – 1.0 ml Spritzenvolumen) in einem möglichst flachen Winkel punktiert und ein maximales Volumen von 5 ml/kg Körpergewicht sterile Kochsalzlösung (0.9%) langsam injiziert werden. Die Eindringtiefe der Nadel sollte mind. mehrere Millimeter über den Nadelschliff hinaus gehen, um einem versehentlichen Herausgleiten der Nadel während der Applikation vorzubeugen. Kein spürbarer Widerstand während dem Drücken des Spritzenstempels und die Verdrängung des in der Vene befindlichen Blutes mit durchsichtiger Kochsalzlösung bestätigen eine erfolgreiche Applikation und korrekte Lage der Nadelspitze innerhalb der Schwanzvene.

Nach der Injektion wird die Insulinspritze wieder aus dem Gefäss entfernt und der prompt aus der Einstichstelle austretende Blutstropfen mit einem Zellstofftupfer aufgesaugt. Der Zellstofftupfer wird nach Entfernen der Nadel mit leichtem Druck so lange auf die Einstichstelle gehalten, bis die Blutung gestillt ist und um die Ausbildung eines Hämatoms zu vermeiden. Während dieser Zeit wird das Verschlussstück des Restrainers bereits etwas zurückgeschoben, um dem Tier mehr Raum zu geben. Ggf. wird die Schwanzbasis des Tieres mit einem Permanent Marker markiert.

Nach der Stillung der Blutung und ggf. Markieren der Schwanzbasis wird das Tier auf dem Käfigdeckel aus dem Restraîner entlassen und mit Hilfe eines Handlingtunnels wieder zurück in den Käfig gegeben.

Für besonders unerfahrene Personen wird zum besseren Kennenlernen des Handlings mit Insulinspritze und Mäuseschwanz ein mit Kunstblut befülltes (3D-gedrucktes) Trainingsmodell eines Mäuseschwanzes für die erste intravenöse Applikation (siehe Abbildung 12 und 13) verwendet, bevor die Person am Tier trainiert.

Abbildung 12 & 13: Mäuseschwanzmodell in einem Restraîner (beide aus dem 3D Druck)



<p>Nummer der vorliegenden Version:</p>	<p>Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon</p>
---	--

Standardarbeitsanweisung (SOP)	Applikationen im LTK Modul 1
Standort des Originals: Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich	SOP/Versions-Nr.: 04/01 Seite 14 von 14

6. Revision der SOP

Die Revision bzw. Überprüfung der SOP erfolgt spätestens nach 3 Jahren nach Inkrafttreten.

7. Grund für die Änderung der letzten Version dieser SOP

Nicht gegeben - Erstversion.

8. Ablage dieser SOP

Abgelaufene Versionen werden in einem Ordner am Standort des gültigen Originals gelagert (Büro Maike Heimann, HCH E 16, Hochstrasse 60, 8092 Zürich).

9. Abkürzungen

LTK Modul 1: Einführungskurs in die Labortierkunde für Versuchsdurchführende, die mit Nagern arbeiten

10. Definitionen

Kursverantwortliche: Mitarbeiter der ETH-LTK Kooperation für Aus- und Weiterbildung im Bereich Labortierkunde, der die jeweilige Leitung des Praktikums unter LTK Modul 1 innehat.

Tutoren: Führt praktische Übungen mit Kursteilnehmern durch, und überwacht die Durchführung derselben durch die Kursteilnehmer

Nummer der vorliegenden Version:	Autoren: Maike Heimann, Philippe Bugnon
-------------------------------------	--