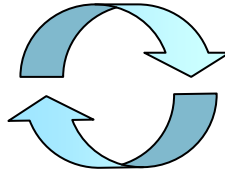


Betrieb[Ausbildungsrahmenplan
Nr. 11.1](#)**Berufsschule**[Rahmenlehrplan
Lernfelder 7, 8](#)

Standardarbeitsanweisung (SOP) Blutentnahmetechniken bei verschiedenen Versuchstieren (Maus, Ratte, Meerschweinchen)	<i>„Firmenlogo“</i>
Seite: 1 von 5 Verfasser: „Name“, Ausbilder/in	Dok.-Nr.: TBG/06/0001.1/03 Gültig ab: 01.12.2003

1 Change Control

Grund der Erstellung dieser Fassung:

- Überarbeitung des Layouts Ersetzt SOP TB/05/0001/01

2 Gegenstand, Zweck, Ziel

Die Standard-Arbeitsanweisung beschreibt das Prinzip und die Vorgehensweise der Blutentnahme bei verschiedenen Blutentnahmetechniken (Blutentnahme über den retrobulbären Venenplexus, Blutentnahme über die Schwanzspitze und Blutentnahme über die Ohrtrandvene). Die Blutentnahmen erfolgen unter Aufsicht eines Ausbilders.

Bei vielen Diagnosen stützt sich der Mediziner und der Forscher in der pharmazeutischen Industrie auf die Ergebnisse der Laboruntersuchung des Blutes.

Fast jede Veränderung in einem biologischen System (Mensch oder Versuchstier) hinterlässt ihre Spuren im Blut.

Über die Zusammensetzung der Plasmaproteine kann man Aussagen über die Funktion von Organen wie Leber und Niere treffen. Verändert sich die Zusammensetzung der Immunglobuline kann man Rückschlüsse auf Infektionskrankheiten anstellen. Durch die Feststellung von Enzymkonzentrationen im Blut, kann man ebenfalls auf die Erkrankungen von Organen schließen.

Ist zum Beispiel der **GOT – Wert (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)** erhöht, kann dies auf einen frischen Myokardinfarkt hinweisen.

Bevor man nun das Blut weiter aufarbeiten kann, muss es zunächst gewonnen werden. Die gängigsten Methoden der Blutgewinnung, auch unter dem Aspekt des Tierschutzes, sollen in dieser SOP beschrieben werden. Daher ist zu beachten, dass bei einmaliger Blutentnahme nicht mehr als 0,7 % des Körpergewichtes, berechnet in mL, entnommen werden sollen. Bei Ausschöpfung des Gesamtvolumen ist den Versuchstieren eine Erholungsphase von 2 Wochen zu gewähren. Soll die Blutentnahme wöchentlich erfolgen, dürfen maximal 0,35 % des Körpergewichtes entnommen werden. Bei noch kürzeren Entnahmeintervallen ist das Volumen dementsprechend anzupassen.

3 Geltungsbereich

Die SOP findet bei „**Firma**“ Anwendung. Sie dient ausschließlich didaktischen Zwecken.

4 Verantwortlichkeiten

Der/die betreuende Ausbilder/in ist für die korrekte Durchführung des Versuchs verantwortlich. Er/sie kann jedoch die Durchführung, Dokumentation als Auftrag an Auszubildende delegieren. Er/sie muss sich jedoch von der korrekten Durchführung und Dokumentation (Protokolle) überzeugen.

5 Arbeitssicherheit / Umweltschutz / Tierschutz

- Die R- und S-Sätze der verwendeten Gefahrstoffe sind zu beachten und im Protokoll zu dokumentieren
- Verletzungsgefahr durch Kanülen (Kanülenschutz und Kanülenbox verwenden)
- Schutzbrillen- und Einmalhandschuhtragepflicht bei allen Arbeiten am Versuchstier
- Blut kann infektiös sein (Schutzbrillentragepflicht)
- Bissverletzungen durch die Versuchstiere sind durch fachgerechten und tierschutzgerechten Umgang mit den Versuchstieren zu vermeiden
- Kontaminiertes Material wird gemäß Abfallentsorgungsrichtlinie „Firma“ entsorgt
- Hände desinfizieren, anschließend mit Seife waschen und eincremen
- Materialien und Tische desinfizieren
- Tierversuche dürfen nur unter Aufsicht eines Ausbilders durchgeführt werden
- Tierschutzbestimmungen beachten
- Die Blutentnahmemengen und -häufigkeiten richten sich nach der Empfehlung der TVT

6 Material

Versuchstier, Impflanzette (Hämostilet), Korkstopfen, Schere, Zellstofftupfer, Ethanol 70 %, Wärmelampe oder warmes Wasser (45° C), Narkosemittel, 1 mL Tuberkulin-Einwegspritze, 16er Kanüle, Kanülenbox, heparinisierte Glaskapillare, Pinzette, Einmalskalpell, Desinfektionsmittel, Schutzbrille, Einmalhandschuhe.

7 Durchführung

7.1 Versuchsvorbereitung

- Versuchstiere rechtzeitig aus der Versuchstierhaltung holen, damit sich die Tiere an die veränderte Situation gewöhnen können.

7.2 Versuchsdurchführung

Blutentnahme aus der Schwanzspitze (z.B. Maus und Ratte) zur Entnahme kleinerer Blutmengen (bei nicht zu häufiger Wiederholung der Entnahme)

- Die Blutzirkulation der Schwanzvenen des Versuchstieres durch warmes Wasser, Wärmelampe oder mechanisches Reiben des Schwanzes anregen. Hat man den Schwanz in warmes Wasser getaucht, muss dieser vor der Blutentnahme vorsichtig getrocknet werden.
- Dem Versuchstier wird im Käfig (hierzu wird der Schwanz des Versuchstieres vorsichtig durch die Käfigdeckelstreben gefädelt, um vor Bissverletzungen geschützt zu sein) oder in einem Toxkasten max. 2 mm der Schwanzspitze mit einer scharfen Schere entfernt (kupiert). Gegebenenfalls ist ein leichtes Nachstauen erforderlich um die gewünschte Blutmenge zu erhalten. Durch das Stauen besteht allerdings die Gefahr, dass zusammen mit dem Blut Gewebsflüssigkeit austritt und die Versuchsergebnisse verfälscht.
- Nach dem Verwerfen des ersten Bluttröpfen (er kann die Versuchsergebnisse durch enthaltenen Schmutz und Fette verfälschen) kann das nachfolgende Blut für weitere Untersuchungen aufgefangen bzw. auf einem Objektträger ausgestrichen werden.
- Das Versuchstier wird nach Einsetzen der Blutgerinnung unter Beobachtung in den Käfig zurückgesetzt.

Blutentnahme aus der Schwanzvene (z.B. Maus) zur Entnahme kleinerer Blutmengen (bei häufiger Blutentnahme)

- Die Blutzirkulation der Schwanzvenen des Versuchstieres durch warmes Wasser, Wärmelampe oder mechanisches Reiben des Schwanzes anregen. Hat man den Schwanz in warmes Wasser getaucht, muss dieser vor der Blutentnahme vorsichtig getrocknet werden.
- Das Versuchstier, hier Maus, wird in einen Toxkasten gesetzt.
- Eine der seitlichen Schwanzvenen wird mit einem Einmalskalpell quer zur Fließrichtung des Blutes angeschnitten. Dabei ist zu beachten, dass der Schnitt nicht zu tief erfolgt.
- Das Versuchstier wird nach Einsetzen der Blutgerinnung unter Beobachtung in den Käfig zurückgesetzt.

Blutentnahme aus dem retrobulbären Venenplexus (z.B. Maus oder Ratte)

- Zur Blutentnahme muss das Versuchstier zuvor narkotisiert werden (dazu erhält es z.B. intraperitoneal ein Gemisch aus Ketamin-Hydrochlorid + Xylazin, siehe [SOP TBG/06/0018.1/03](#)).
- Das Versuchstier wird mit einer Hand vom Rücken her gefasst, dadurch wird die Nackenhaut gestrafft und das Blut in den Kopfvenen gestaut.

- Eine heparinisierte Glaskapillare (Microcaps) wird vorsichtig am inneren (nasalen) Augenwinkel des Tieres unter leichtem Drehen eingeführt, bis Blut in die Kapillare eintritt.
- Die Ausflussöffnung der Kapillare wird nach unten gehalten und so das Blut in den vorgesehenen Gefäßen aufgefangen (z.B. EDTA-Röhrchen).
- Nach der Entnahme wird das narkotisierte Versuchstier unter Beobachtung in einen Aufwachkäfig gegeben.

Blutentnahme aus der Unterzungenvene, Vena sublingualis (z.B. Ratte)

- Zur Blutentnahme muss das Versuchstier zuvor narkotisiert werden (dazu erhält es z.B. intraperitoneal ein Gemisch aus Ketamin-Hydrochlorid + Xylazin, siehe [SOP TBG/06/0018.1/03](#)).
- Die Versuchsdurchführung erfolgt zu zweit.
- Wie schon bei der Blutentnahme aus dem retrobulbären Venenplexus muss das Versuchstier hier ebenfalls so im Nacken gepackt werden, dass sich das Blut im Kopfbereich anstauen kann.
- Eine Person hält die Ratte in einem Winkel von ca. 45° mit der Bauchseite nach oben und dem Kopf in Richtung Boden.
- Die zweite Person greift mit einer anatomischen Pinzette vorsichtig die Zunge und zieht sie seitlich aus dem Maul.
- Ist die Zunge mit den Fingern greifbar, wird die Zunge durch Daumen und Zeigefinger der Person fixiert, die auch die Punktion durchführt.
- Danach wird mit einer 12er Kanüle vorsichtig in eine der Unterzungenvenen eingestochen. Der Einstichwinkel sollte hierbei eher flach gehalten werden.
- Nach der Punktion der Unterzungenvene wird die Kanüle entfernt und das austretende Blut in einem geeigneten Gefäß aufgefangen.
- Nach der Blutentnahme wird das Tier unter Beobachtung zurückgesetzt.

Blutentnahme an der Vena saphena (z.B. Ratte)

- Zur Blutentnahme muss das Versuchstier zuvor narkotisiert werden (dazu erhält es z.B. intraperitoneal ein Gemisch aus Ketamin-Hydrochlorid + Xylazin, siehe [SOP TBG/06/0018.1/03](#)).
- Bei der Blutentnahme wird zu zweit gearbeitet.
- Entfernen der Haare auf der Medial- oder Lateralseite des Hinterbeines.
- Desinfizieren der Haut.
- Nach Stauen der Vene sollte die Kanüle die Haut durchdringen und in das Gefäß eingeführt werden.
- Das Blut kann direkt über die Kanüle in einem geeignetem Gefäß aufgefangen werden.
- Nach dem Entnehmen wird die Kanüle vorsichtig entfernt und ein Nachbluten durch manuellen vorsichtigen Druck verhindert.
- Nach der Blutentnahme wird das Tier unter Beobachtung zurückgesetzt.

Blutentnahme aus der Ohrandvene (z.B. Meerschweinchen)

- Die Blutzirkulation des Versuchstieres wird durch Verwendung einer Wärmelampe angeregt.
- Die Blutentnahme wird von zwei Personen durchgeführt (eine Person = Helfer hält das Meerschweinchen fest, die andere führt die Blutentnahme durch).
- Die Entnahmestelle am Ohr ist im Vorfeld mit einer Schere von den Haaren zu befreien (um ein Herumfliegen der Haare zu vermeiden, sollen die Haare mit warmem Wasser befeuchtet werden).
- Vor der Blutentnahme wird das Ohr mit Ethanol 70 % desinfiziert und entfettet.
- Der Helfer hat das Tier so auf dem Tisch zu fixieren, dass die Person, die Blut entnehmen soll ohne Mühe mit einem Hämostilet die Ohrandvene anritzen kann. Der Helfer hat weiterhin die Aufgabe, durch Abknicken des Ohres dafür zu sorgen, dass sich auf dem Ohr des Versuchstieres ein „Blutsee“ bilden kann, so dass die Entnahme von Blut erleichtert wird. Soll das Blut z.B. in einem EDTA-Röhrchen aufgefangen werden muss er das Ohr so halten, dass das Blut ohne über das Ohr zulaufen direkt in das EDTA-Röhrchen fließen kann.
- Vor dem Einritzen der Ohrandvene hat die blutentnehmende Person einen Korkstopfen unter das Ohr des Versuchstieres zu legen. Beim Einritzen der Ohrandvene ist darauf zu achten, dass diese nicht durchstoßen wird. Das Einritzen der Ohrandvene erfolgt in Fließrichtung des Blutes um zu vermeiden, dass die Vene „durchtrennt“ wird. Die Blutzirkulation kann zusätzlich durch „Schnicken“ des Ohres mit einem Finger angeregt werden.
- Der erste Tropfen wird verworfen, das nachfolgende Blut kann weiter aufgearbeitet werden.
- Nach der Entnahme wird die Blutentnahmestelle mit einem Tupfer komprimiert um Nachblutungen und Hämatombildung zu verhindern. Das Tier wird unter Beobachtung in den Käfig zurückgesetzt.

8 Verwaltung der vorliegenden SOP

Diese SOP wird von „**Abteilung und Firma**“ aufbewahrt und aktualisiert. Sie ist Bestandteil des QS-Handbuches. Das Original wird an dem in der Kopfleiste erwähnten Standortes aufbewahrt. Kopien werden an die jeweiligen Laboratorien des Bereiches der „**Abteilung**“ ausgegeben. Nur Kopien mit blauem Aufdruck „Biologie“ sind auf Übereinstimmung mit dem Original überprüft.

Überprüft und genehmigt:

..... Datum „ Name “ (Ausbilderin) Datum „ Name “ (Ausbilder)
----------------	---	----------------	---