

Angefertigt im Tierpark Hellabrunn, München  
(Zoologischer Direktor: Prof. Dr. H. Wiesner)

und

eingereicht über die Chirurgische und Gynäkologische Kleintierklinik im Zentrum für Klinische Tiermedizin  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
(Vorstand: Prof. Dr. U. Matis)

---

**Die „Hellabrunner Mischung“ im Vergleich mit MS 222  
als Tauchbadnarkoseverfahren bei verschiedenen Amphibien.**

---

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

von Julian Heubeck  
aus München

München 2010

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Braun

Referent: Univ.-Prof. Dr. U. Matis

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Ammer

Tag der Promotion: 24.07.2010

meiner Familie

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Literaturübersicht</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Amphibien allgemein</b>	<b>3</b>
2.1.1. Zoologie/Systematik	3
2.1.1.1. Amphibia	4
2.1.1.2. Zwergkrallenfrösche	5
2.1.1.3. Bananenfrösche	6
2.1.1.4. Grünliche Wassermolche	6
2.1.2. Physiologie	7
2.1.2.1. Atmung der Amphibien	7
2.1.2.2. Stoffaustausch über die Haut	8
2.1.2.3. Schmerzempfinden bei Amphibien	9
<b>2.2. Narkose bei Amphibien (Übersicht)</b>	<b>11</b>
2.2.1. Allgemeine Begriffsdefinitionen	11
2.2.2. Indikationen zur Anästhesie	12
2.2.3. Methoden	13
2.2.4. Wirkstoffe	17
2.2.4.1. MS 222	17
2.2.4.2. Metomidat / Etomidat	19
2.2.4.3. Benzocain	20
2.2.4.4. Chloralhydrat	20
2.2.4.5. Urethan	21
2.2.4.6. Nelkenöl	21
2.2.4.7. Äthanol	22
2.2.4.8. Äther	22
2.2.4.9. Ketamin	22

2.2.4.10. Xylazin _____	25
2.2.4.11. Hellabrunner Mischung _____	28
2.2.5. Präanästhetische Vorbereitung _____	29
2.2.6. Versorgung während der Narkose und während des Nachschlafes _____	29
2.2.7. Narkoseüberwachung _____	30
2.2.7.1. Überwachung der Narkosetiefe _____	30
2.2.7.2. Überwachung wichtiger Vitalfunktionen _____	32
2.2.8. Narkosestadien _____	33
2.2.9. Narkose beeinflussende Faktoren _____	34
2.2.10. Grundanforderungen an ein optimales Betäubungsmittel _____	37
<b>2.3. Rechtsgrundlagen _____</b>	<b>38</b>
<b>3. Eigene Untersuchungen _____</b>	<b>40</b>
<b>3.1. Problematik und Zielsetzung _____</b>	<b>40</b>
3.1.1. Problematik _____	40
3.1.2. Zielsetzung _____	40
<b>3.2. Material und Methoden _____</b>	<b>41</b>
3.2.1. Versuchstiere _____	41
3.2.1.1. Zwergkrallenfrösche _____	41
3.2.1.2. Grünliche Wassermolche _____	42
3.2.1.3. Bananenfrösche _____	42
3.2.2. Tierversuchsgenehmigung _____	42
3.2.3. Haltungsbedingungen _____	42
3.2.3.1. Zwergkrallenfrösche und Wassermolche _____	42
3.2.3.2. Bananenfrösche _____	43
3.2.4. Messgeräte _____	43
3.2.5. Pharmaka _____	45
3.2.5.1. Ketaminhydrochlorid _____	45

3.2.5.2. Xylazinhydrochlorid _____	45
3.2.5.3. Hellabrunner Mischung _____	46
3.2.5.4. MS 222 _____	46
3.2.5.5. Natriumbicarbonat _____	46
3.2.6. Versuchsaufbau _____	46
3.2.6.1. Vorversuche _____	46
3.2.6.2. Hauptversuche _____	47
3.2.7. Versuchsablauf _____	48
3.2.7.1. Vorversuche _____	48
3.2.7.1.1. Arbeitsgang allgemein _____	48
3.2.7.1.2. Abhängigkeit Wasserart und pH-Wert _____	51
3.2.7.1.3. Ermittlung der Wirksamkeitsgrenze und optimalen Dosis _____	52
3.2.7.2. Hauptversuche _____	53
3.2.7.2.1. Vergleich mit MS 222 _____	53
3.2.8. Datenerfassung _____	54
3.2.8.1. Narkosen _____	54
3.2.8.1.1. Narkoseprotokoll _____	54
3.2.8.1.2. Digitalfotos / Videosequenzen _____	60
3.2.8.2. Wasserproben _____	60
3.2.9. Statistik _____	60
<b>4. Ergebnisse _____</b>	<b>62</b>
<b>4.1. Vorversuche _____</b>	<b>62</b>
4.1.1. Allgemein _____	62
4.1.2. Zwergkrallenfrösche _____	62
4.1.2.1. Osmosewasser _____	62
4.1.2.2. Brunnenwasser (Aqua fontis) _____	63
4.1.2.3. Statistischer Vergleich der Narkosen ohne / mit NaBic-Pufferung _____	66
4.1.2.4. Zusätzliche Parameter _____	68
4.1.3. Bananenfrösche _____	69

4.1.3.1. Zusätzliche Parameter _____	70
4.1.4. Grünliche Wassermolche _____	71
4.1.4.1. Zusätzliche Parameter _____	74
<b>4.2. Hauptversuche _____</b>	<b>75</b>
4.2.1. Vergleich Hellabrunner Mischung und MS 222 _____	75
4.2.1.1. Zwergkrallenfrösche _____	75
4.2.1.2. Bananenfrösche _____	79
4.2.1.3. Grünliche Wassermolche _____	83
<b>4.3. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse _____</b>	<b>87</b>
4.3.1. Zwergkrallenfrösche _____	87
4.3.2. Bananenfrösche _____	87
4.3.3. Grünliche Wassermolche _____	88
4.3.4. Fotos _____	89
<b>5. Diskussion _____</b>	<b>92</b>
<b>5.1. Diskussion der Methode _____</b>	<b>92</b>
5.1.1. Auswahl der Amphibienarten _____	92
5.1.2. Versuchsablauf und Beurteilung _____	93
<b>5.2. Diskussion der Ergebnisse _____</b>	<b>95</b>
5.2.1. Zwergkrallenfrösche _____	95
5.2.2. Grünliche Wassermolche _____	97
5.2.3. Bananenfrösche _____	98
<b>5.3. Schlussbetrachtung _____</b>	<b>100</b>
<b>6. Zusammenfassung _____</b>	<b>104</b>

<b>7. Summary</b>	<b>106</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>108</b>
<b>9. Danksagung</b>	<b>118</b>

Abkürzungen:

Abs.	Absatz
AG	Arbeitsgemeinschaft
AMG	Arzneimittelgesetz
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca	Kalzium
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
d.h.	das heißt
eG	eingetragene Genossenschaft
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	et alii, aliae, alia
etc.	und so weiter
EU	Europäische Union
evtl.	eventuell
g	Gramm
G	Gauge (Außendurchmesser)
ggf.	gegebenenfalls
ggr.	geringgradig
HM	Hellabrunner Mischung
i.m.	intramuskulär
incl.	inclusive
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
KGW	Körpergewicht
l	Liter
LC <sub>50</sub>	Letale Konzentration
LD <sub>50</sub>	Letale Dosis
m	Meter

## Abkürzungen

---

Max	Maximum
mg	Milligramm
min.	Minute
Min	Minimum
ml	Milliliter
mm	Millimeter
NaBic	Natriumbicarbonat
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
Nr.	Nummer
o.ä.	oder ähnliches
OP-Toleranz	Operationstoleranz
pH	pH-Wert
s.	siehe
s.a.	siehe auch
s.d.	siehe dazu
s.c.	subcutan
sog.	sogenannt
spp.	Spezies
TS	Trockensubstanz
u.	und
UK	United Kingdom
V.	Vena
W	Watt
z.B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem

Symbole:

°C	Grad Celsius
§	Paragraph
%	Prozent
®	registered trade mark (= eingetragene Waren- oder Dienstleistungsmarke)
&	und
°dH	Grad deutsche Härte
µS	Mikro-Siemens
~	im Durchschnitt
€	Euro

## 1. Einleitung

In den letzten Jahren hat die Haltung von Amphibien in Privathaushalten im Zuge der steigenden Beliebtheit von Terrarientieren stark zugenommen. Wurden früher Tierärzte hauptsächlich mit Amphibien aus zoologischen Gärten oder Versuchslaboratorien konfrontiert, so sucht heutzutage eine zunehmende Gruppe Hobbyhalter und Züchter Rat beim Tierarzt. Somit nimmt auch die Möglichkeit einer Immobilisation dieser Tiere bei Diagnostik und Therapie einen wichtigeren Stellenwert ein als noch vor einigen Jahren.

In Deutschland ist derzeit allerdings kein Tierarzneimittel zur Betäubung von Amphibien zugelassen. Bei Amphibien stellt sich die Applikation eines Anästhetikums in Form eines Tauchbades als die Methode der Wahl dar. Sie ist einfach durchzuführen und gut steuerbar (HENKE & KÖLLE 2004).

Der seit Jahren von den meisten Spezialisten als Standardpräparat verwendete und in der Literatur erwähnte Wirkstoff ist Tricainmethansulfonat (MUTSCHMANN 1998, HENKE & KÖLLE 2004, CRAWSHAW 2003). Er ist als MS 222 auf dem Markt und wird zur Anästhesie bei Amphibien und Fischen eingesetzt. Dieses Präparat wird jedoch nur in Großbritannien hergestellt und besitzt dort ausschließlich eine Zulassung zur Anwendung bei Fischen. Eine EU-weite Zulassung besitzt das Präparat nicht. Es muss deshalb importiert und die Einfuhr der zuständigen Behörde angezeigt werden. Nach der „Kaskadenregelung“ des §56a Absatz 2 AMG zur Möglichkeit der Umwidmung von Arzneimitteln im Falle eines Therapienotstandes darf nach §56a Abs.2 Nr.3 ein in einem anderen Mitgliedstaat der EU zugelassenes Arzneimittel für Tiere nur importiert werden, wenn §56a Abs.2 Nr.2 nicht erfüllt ist. Dies ist der Fall, wenn kein geeignetes, für eine andere Tierart zugelassenes Arzneimittel, mit dem das Therapieziel erreicht werden kann, existiert (s.d. Kapitel 2.3.). Dieser gesetzlichen Situation zufolge und aus tierschützerischen Gründen ergibt sich die Notwendigkeit, nach schonenden und von jedem Tierarzt leicht durchzuführenden Möglichkeiten zur Betäubung von Amphibien zu suchen. Es hat sich gezeigt, dass man mit Bädern aus Injektionsanästhetika anderer Tierarten und Wasser sehr gute Ergebnisse erzielen kann. So wurde viele Jahre neben dem Standardpräparat MS 222 gerne das für Schweine und Vögel als injizierbares Hypnotikum zugelassene Metomidathydrochlorid (Hypnodil®) zur Immobilisation von Amphibien im Narkosebad erfolgreich eingesetzt (MUTSCHMANN 1998, HENKE & KÖLLE 2004, THURMON et al. 1996, COOPER 2003, SCHAEFFER 1997, LÖSCHER et al. 1994, 2003, 2006). Es ist jedoch aus Gründen der Wirtschaftlichkeit nicht mehr im Handel. In Deutschland erhältlich und gängig sind dagegen die beiden Injektionsanästhetika Ketamin- und Xylazinhydrochlorid (LÖSCHER et al. 2006). Eine Kombination beider Substanzen im Verhältnis 1:1,25 ist im deutschsprachigen Raum seit Jahrzehnten als so genannte „Hellabrunner Mischung“ vor allem in der Zoo- und Wildtiermedizin bei Säugetieren, Vögeln, Reptilien und Fischen etabliert

(WIESNER 2004). Die Vorteile einer gemeinsamen Anwendung sind im gegenseitigen Synergismus dieser Stoffe zu sehen, der die Wirkung potenziert, sodass eine wesentlich geringere Gesamtmenge eingesetzt werden kann (ERHARDT et al. 2004). Auch im Bereich der Amphibienmedizin wird Ketamin in Form von Injektionsnarkosen eingesetzt, wobei hier Ketamin meist als Einzelpräparat und nur selten in Kombination mit Xylazin Verwendung findet (WOLFENSOHN & LLOYD 1998). Studien über eine Anwendung im Narkosebad als nichtinvasive Methode fehlen gänzlich.

Mit dieser Arbeit soll die Eignung der „Hellabrunner Mischung“ zur Anwendung als Tauchbadnarkose bei Amphibien klinisch geprüft werden. Dazu sollen Erkenntnisse über Einsetzbarkeit und geeignete Dosierungen bei verschiedenen Amphibienarten gesammelt und nach Möglichkeit als Empfehlung weitergegeben werden. Um ein möglichst breites Gebiet der Amphibienspezies abzudecken und die gewonnenen Ergebnisse auf andere Amphibien übertragen zu können werden bei den Fröschen (Anuren) die Spezies Zwegkrallenfrösche (*Hymenochirus böttgeri*) als rein aquatisch lebende und Bananenfrösche (*Afrivalus fornasini*) stellvertretend für rein terrestrisch lebende Tiere untersucht. Als Vertreter der Salamander (Urodelen) wurde der Grünliche Wassermolch (*Notophthalmus viridescens*) ausgewählt.

Anhand der Beobachtung von Parametern wie Anflutungs- und Aufwachzeit, Umkehrreflex, Schmerzempfinden und der erreichten Narkosetiefe soll abschließend im direkten Vergleich mit dem standardmäßig eingesetztem Narkotikum MS 222 die Bedeutung der „Hellabrunner Mischung“ als Alternativmethode der Amphibienanästhesie beurteilt werden.

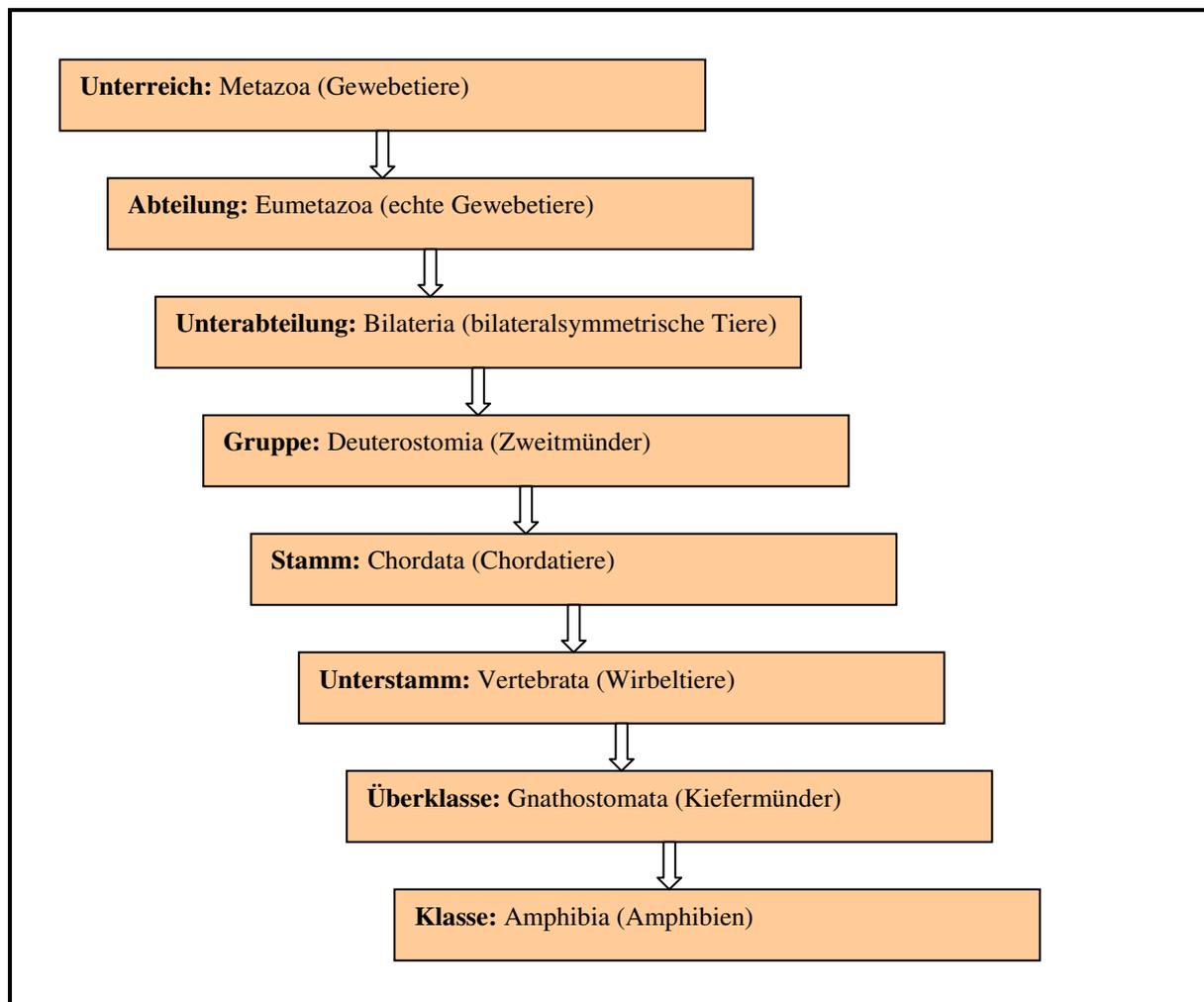
## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Amphibien allgemein

#### 2.1.1. Zoologie/Systematik

Alle Amphibien gehören der Klasse Amphibia an. Die Stellung dieser Klasse im Reich der Lebewesen dieser Erde gibt das Schema 1 wieder.

Schema 1: Stellung der Klasse Amphibia (AHNE 2000)



### 2.1.1.1. Amphibia

Die ca. 5000 gegenwärtig bekannten Amphibienarten gliedern sich in die drei gestaltlich unterschiedlichen Ordnungen Urodela (Caudata, Schwanzlurche), Anura (Salientia, Froschlurche) und Gymnophiona (Blindwühlen) auf (STORCH und WELSCH 2005).

**Urodela** sind langgestreckte, geschwänzte Amphibien, die hauptsächlich in Europa, Nordamerika und Asien zu finden sind. Diese Ordnung umfasst acht Familien mit 50 Gattungen und 300 Arten (AHNE 2000), HENKE & KÖLLE (2004) schreiben sogar von mehr als 450 Arten. Sie sind ständig oder während der Fortpflanzung an das Wasser gebunden (AHNE 2000). Die Eier werden meist mit einer Gallerthülle an Wasserpflanzen abgelegt. Die frisch geschlüpften Larven sind langgestreckt, tragen gut sichtbare Kiemenäste und besitzen Haftorgane am Kopf, sog. Rusconi'sche Haken (STORCH und WELSCH 2005).

Die Familie der echten Salamander und Molche (Familie Salamandridae) stellt die wichtigste Gruppe der Schwanzlurche dar (ENGELMANN 2006, AHNE 2000). Sie umfasst 16 Gattungen mit 61 Arten. Hierzu zählt die Gattung der Ostamerikanischen Wassermolche (Notophthalmus) mit der in diesem Versuch verwendeten Art des Grünlichen Wassermolches (Notophthalmus viridescens) (ENGELMANN 2006).

**Anura** haben im Adultstadium einen schwanzlosen, gedrunenen Körper. Aufgrund eines stabilen Beckens und verlängerter Hinterextremitäten zeigen sie eine springende Fortbewegung. Ihre Atmung erfolgt über die gekammerten Lungen und die Haut. Ihre Lebensweise ist meist räuberisch. Die Froschlurche zählen zur erfolgreichsten Amphibienordnung mit einer sehr großen Artenvielfalt. Zu dieser Ordnung werden neuerdings bis zu 30 Familien mit etwa 4500 Arten gezählt. Hierzu gehört auch die Familie der Zungenlosen Frösche (Pipidae), sowie die Familie der Riedfrösche (Hyperoliidae). Die Zungenlosen Frösche gliedern sich in 5 Gattungen mit 29 Arten. Eine dieser Gattungen ist die Gattung Hymenochirus (Zwergkrallenfrösche) mit der von uns verwendeten Zwergkrallenfroschart Hymenochirus böttgeri. Die Familie der Riedfrösche weist 19 Gattungen mit 229 Arten auf. Der im Versuch verwendete Ostafrikanische Bananenfrosch (Afrixalus fornasini) gehört zur Gattung Afrixalus (ENGELMANN 2006).

**Gymnophiona** sind schlangenförmige, extremitätenlose Amphibien. Sie spielen in dieser Arbeit keine Rolle. Diese Ordnung umfasst ca. 170 Arten. Die meisten dieser Tiere leben ihr ganzes Leben unterirdisch und besitzen

deshalb spezialisierte Merkmale wie reduzierte Augen, Hautknochenschuppen oder zurückgebildete Schulter- und Beckengürtel (AHNE 2000). Ebenso erfolgte eine Anpassung an die wühlende Lebensweise, durch das Fehlen der Extremitäten einschließlich des Schulter- und Beckengürtels, dem relativ gut verknöcherten Schädel und dem nahe am Hinterende gelegenen After. Der Oberkiefer trägt zwei ausstülpbare Tentakel. Mit ihrem bezahnten Kiefer jagen sie andere Tiere in der Erde. Ihre Nahrung reicht von kleinen Schlangen bis zu Larven und Würmern (STORCH und WELSCH 2005). Sie werden selten als Heimtiere gehalten. In den USA werden Schwimmwühlen (*Typhlonectes* sp.) als Labortiere gehalten (HENKE & KÖLLE 2004).

#### 2.1.1.2. Zwergkrallenfrösche (*Hymenochirus böttgeri*)

(FROST 1985, HERRMANN 1994)

Klasse: *Amphibia*  
Ordnung: *Froschlurche (Anura, Salientia)*  
Familie: *Zungenlose Frösche (Pipidae)*  
Gattung: *Hymenochirus (Zwergkrallenfrösche)*  
Art: *Hymenochirus böttgeri*

#### Äußere Merkmale, Verbreitung und Lebensraum:

Der Zwergkrallenfrosch gehört zur Familie der „Zungenlosen Frösche“, für welche die völlige Reduktion der Zunge charakteristisch ist (DUELLMAN & TRUEB 1994). Bei ihnen handelt es sich um recht urtümliche Froschlurche, welche noch völlig an das Wasserleben gebunden sind. Dies zeigt sich an den großen Schwimmhäuten zwischen den Zehen und dem Vorhandensein eines Seitenlinienorgans ähnlich dem der Fische. Sie besitzen eine raue Haut und erreichen eine Körpergröße von bis zu 4cm. Die Männchen besitzen hinter dem Vorderbeinansatz gut sichtbare Postaxillardrüsen. Sie vollführen „Balztänze“ verbunden mit tickenden Paarungsrufen. Die Paarung erfolgt in Bauchoben-Stellung. Die 100-500 Eier (im Einzelfall 1047 Eier) schwimmen anfangs an der Wasseroberfläche, ein Teil sinkt später ab. Die Kaulquappen besitzen einen Saugmund. Die Umwandlung erfolgt nach etwa 2 Monaten (ENGELMANN 2006). Ihr Verbreitungsgebiet ist Zentral- und Westafrika südlich der Sahara sowie das tropische Südamerika. Sie können jedoch auch gemäßigte Klimabedingungen gut ertragen. Sie bevorzugen Temperaturen von 20-28°C. Ihr Lebensraum ist aufgrund ihrer fast ausschließlich aquatischen Lebensweise auf warme Urwaldtümpel und stark verkrautete Flachgewässer

beschränkt. Es sind tagaktive Tiere mit einem sehr breiten tierischen Nahrungsspektrum wie Wasserinsektenlarven, Kleinkrebse und Würmer. Gelegentlich kann auch Kannibalismus beobachtet werden, besonders von Laich und Larven (ENGELMANN 2006, RICHTER 1997). Als Larven nehmen sie sowohl pflanzliche als auch tierische Nahrung auf (WAGER 1965). Sie können in Gefangenschaft ein Alter von bis zu 6 Jahren erreichen (ENGELMANN 2006).

#### 2.1.1.3. Bananenfrösche (*Afrixalus fornasini*) (ENGELMANN 2006)

Klasse: *Amphibia*  
Ordnung: *Froschlurche (Anura, Salientia)*  
Familie: *Riedfrösche (Hyperoliidae)*  
Gattung: *Afrixalus*  
Art: *Ostafrikanischer Bananenfrosch (Afrixalus fornasini)*

#### Äußere Merkmale, Verbreitung und Lebensraum:

Die bis zu 4cm großen Frösche leben in den ostafrikanischen Savannen. Sie sind reine Landbewohner und halten sich als nachtaktive Tiere tagsüber in Baumlöchern, Höhlungen oder unter dem Laub versteckt. An ihren Fingern und Zehen befinden sich Haftscheiben. Sie bevorzugen Temperaturen von 24-28°C. Ihre Nahrung besteht aus Fruchtfliegen, Heimchen und Wieseninsekten. Der Laich wird an Blätter und Blattachsen geklebt. Ihre Entwicklung dauert 2 Monate (ENGELMANN 2006).

#### 2.1.1.4. Grünliche Wassermolche (*Notophthalmus viridescens*) (ENGELMANN 2006)

Klasse: *Amphibia*  
Ordnung: *Schwanzlurche (Urodela, Caudata)*  
Familie: *Echte Salamander und Molche (Salamandridae)*  
Gattung: *Notophthalmus*  
Art: *Grünlicher Wassermolch (Notophthalmus viridescens)*

Äußere Merkmale, Verbreitung und Lebensraum:

Diese, bis zu 12cm großen, Tiere findet man vom südöstlichen Kanada über den gesamten Osten und die Mitte der USA bis zum Golf von Mexiko, wo sie bei Temperaturen von 18-22°C (im Winter 5-6°C) teils in Laub- und Nadelwäldern teils in Teichen und Tümpeln leben. Die adulten Tiere sind stets lungenatmend. Zur Paarung klammert das Männchen das Weibchen von oben am Kopf und verteilt gleichzeitig mit dem Schwanz wedelnd Duftstoffe. Die Eiablage erfolgt nach 2 Wochen. Die 200-400 Eier werden einzeln an Wasserpflanzen angeheftet. Es schlüpfen 40mm große Larven. Nach 3 Monaten verlassen die 4cm langen Jungtiere das Wasser. Sie haben zu diesem Zeitpunkt eine rötliche Färbung, das sog. „Rotmolchstadium“. Erst nach 3 Jahren kehrt das geschlechtsreife Tier zur Paarung in das Wasser zurück. Von nun an lebt es überwiegend im Wasser und kommt nur gelegentlich an Land. Als Nahrung dienen alle wirbellosen Kleintiere, die bewältigt werden (ENGELMANN 2006).

2.1.2. Physiologie

2.1.2.1. Atmung der Amphibien

Bei der Amphibienatmung erfolgt der Gasaustausch auf unterschiedlichen Wegen. Dies kann über die Kiemen, die Lungen, die äußere Haut oder über respiratorisches Epithel der Schleimhäute im Maul- und Rachenbereich geschehen (MUTSCHMANN 1998). In der Intensität des Gasaustausches dieser Organe gibt es erhebliche Unterschiede. Sie treten sowohl, je nach Lebensweise, zwischen den Spezies als auch, je nach Entwicklungsstadium und Geschlecht, innerhalb einer Spezies und in Abhängigkeit von diversen Umweltfaktoren, selbst bei ein und demselben Individuum auf (FOXON 1964). Viele im Wasser lebende Amphibien besitzen Kiemen. (Innere Kiemen bei den Froschlurchen, äußere bei den Schwanzlurchen) (MUTSCHMANN 2004). Bei den Amphibien, die keine Kiemen besitzen, erfolgt der Gasaustausch über ein oder mehrere der anderen Organe, d.h. über die Lungen, die äußere Haut oder Bereiche der Mundhöhle. Laut MUTSCHMANN (2004, 1998) gilt generell, dass bei Amphibien, die sehr trockene Lebensräume besiedeln (z.B. viele Kröten), der Lungenatmung größere Bedeutung zukommt, während die Hautatmung bei den mehr feuchtigkeitsliebenden Arten vorherrscht. FOXON (1964) unterteilt nicht nach den Lebensräumen der Tiere, sondern nach den Ordnungen. Danach erfolgt bei den Urodelen der Gasaustausch hauptsächlich über die Haut, bei den Anuren dagegen überwiegend über die Lunge. Die Hautatmung und/oder die Buccopharyngealatmung

sind für viele Amphibien von großer Bedeutung, besonders bei den lungenlosen Salamandern (Plethodontidae). Hier erfolgt der Gasaustausch nur über die Haut und das respiratorische Epithel im Buccopharyngealraum. Diese Tatsache verdeutlicht, wie wichtig es ist, dass ihre Haut niemals austrocknet.

Lungen sind ursprünglich paarig angelegt und sehr einfach gebaut. Ihre Größe variiert erheblich (MUTSCHMANN 2004). Der Mechanismus, mit dem die Lungen mit sauerstoffreicher Luft versorgt werden, weicht völlig von dem der Reptilien, Vögel und Säugetiere ab. Eine aktive Atmung durch den Brustkorb oder Bauchraum gibt es kaum, da die Rippen der heutigen Amphibienarten weitgehend zurückgebildet und bei den Anuren in der Regel mit den Wirbelquerfortsätzen fest verwachsen sind. Die Lungen werden vielmehr durch die Mundbodenbewegung (Kehloszillation) durchlüftet. Dieser Vorgang ähnelt einer Schluckbewegung. Durch das rhythmische Auf- und Abschwingen des Mundbodens wird Außenluft durch die Nasenlöcher in die Mundhöhle eingesogen. Der Kehlkopf ist dabei verschlossen. Nach etwa 5-10 Schwingungen werden die Nasenlöcher verschlossen und der Kehlkopf geöffnet. Dabei strömt die Luft aus der Lunge in die Mundhöhle und vermischt sich dort mit Frischluft. Durch erneutes Heben des Mundbodens wird nun dieses Gemisch zurück in die Lunge gepresst. Danach werden die Nasenlöcher wieder geöffnet. Somit gelangt niemals reine Frischluft in die Amphibienlunge, sondern immer nur eine Kombination aus Aus- und Einatemluft (PENZLIN 1970, FOXON 1964, SCHOLTON 1942, WERNER 1922).

#### 2.1.2.2. Stoffaustausch über die Haut

Die Haut der Amphibien stellt ein biologisch in hohem Maße aktives Organ dar, mit dessen Hilfe z.B. die Atmung sowie die Regulation des Wasserhaushaltes und der Körpertemperatur erfolgt (MUTSCHMANN 1998). Ebenso dient sie der Abwehr und der Kommunikation (CRAWSHAW 2003). Der Grundaufbau der Haut entspricht dem Grundbauplan aller Wirbeltiere (MUTSCHMANN 2004). In der Haut findet sich eine große Anzahl unterschiedlicher Drüsen. Ein Teil dieser Drüsen sondert ein schleimiges Sekret ab, welches der Aufrechterhaltung der Hautfeuchtigkeit dient, eine epidermale Schutzschicht bildet und bei der Temperatur- und Flüssigkeitsregulation eine wichtige Rolle spielt (MUTSCHMANN 2004). Zusätzlich wird dadurch das Fixieren der Tiere erschwert (THURMON et al. 1996, FOWLER 1986, WOLFENSOHN & LLOYD 1998). Andere Drüsen wiederum produzieren repellent wirkende Substanzen, Pheromone und Hauttoxine, welche unter Umständen auch für den Menschen gesundheitsschädlich sind, wie z.B. bei den Pfeilgiftfröschen (*Dendrobates*, *Phyllobates*) oder manchen Krötenarten (MUTSCHMANN 2004, CRAWSHAW 2003, FOWLER 1993, HENKE & KÖLLE 2004). Aus diesen Gründen ist stets ein umsichtiges Handling angezeigt (MUTSCHMANN

2004). Die Amphibienhaut muss stets mit nassen Tüchern oder durch Besprühen mit Wasser feucht gehalten werden und sollte auf keinen Fall mit trockenen Händen angefasst werden, da es sonst zu einer Schädigung des so wichtigen, die Haut schützenden, mikrobioziden Schleimmantels und zu späteren Infektionen kommt und andererseits die lebenswichtige Hautatmung beeinträchtigt wird. Daher hat es sich bewährt, zum beiderseitigen Schutz handelsübliche mit Wasser benetzte Einmalhandschuhe zu verwenden (HENKE & KÖLLE 2004).

Amphibien sind je nach Lebensweise und Physiologie in mehr oder weniger starkem Maße dazu befähigt, in Wasser gelöste Stoffe (Sauerstoff, Kohlendioxid, Stoffwechselprodukte, Elektrolyte, Mineralien, etc.) über die Haut zu resorbieren (BONATH 1977). Diese Fähigkeit (Wasserpermeabilität) spielt eine große Rolle bei der Regulation des Flüssigkeitshaushaltes. Der Wassertransport basiert auf dem Prinzip der Osmose. Dabei bewegt sich das Wasser von einer Region mit einem niedrigeren osmotischen Druck (z.B. Salzkonzentration) zu einer Region mit einem höheren Druck. Die Permeabilität bzw. Semipermeabilität der Haut ist tierartlich verschieden und kann zudem, abhängig vom Wassergehalt des Organismus, von der Feuchtigkeit der Umgebung, von der Temperatur, Jahreszeit und dem pH-Wert, sowie vom Entwicklungsstadium und Alter der Tiere, von der Stoffwechselaktivität und vom Ernährungszustand und außerdem vom Fortpflanzungsverhalten variieren. Bei Verletzungen der äußeren Haut wird die Resorption erheblich gesteigert. Morphologische Strukturen werden durch spezialisierte Areale der äußeren Haut repräsentiert, die eine rasche und effektive Wasseraufnahme garantieren. Solche Hautareale finden sich bei Urodelen in Form von Hautfalten oder Körperringen im Rippenbereich, bei Anuren als Hüft- oder Sitzflecken oder in besonders zur Wasseraufnahme geeignete Regionen im Oberschenkel- oder Abdominalbereich. Diese Hautzonen zeichnen sich durch eine starke Kapillarisation aus und können sehr rasch Wasser und wasserlösliche Stoffe aus der Umgebung dem Körper zuführen. Durch diese Fähigkeit, im Wasser gelöste Stoffe aufzunehmen, ergibt sich die Möglichkeit einer schonenden Arzneimittelapplikation ohne invasive Techniken (MUTSCHMANN 1998). So werden in Wasser gelöste Narkotika in der Mehrzahl der Fälle über ein Bad verabreicht (BONATH 1977).

### 2.1.2.3. Schmerzempfinden bei Amphibien

Die IASP (International Association for the Study of Pain, 1979) definiert Schmerz als "die subjektive sensorische und emotionale Erfahrung, die durch eine tatsächliche oder potentielle Gewebeschädigung ausgelöst wird."

Aufgrund der niedrigen stammesgeschichtlichen Position innerhalb des Tierreiches und der primitiven Entwicklung des Gehirns wurde Amphibien in der Vergangenheit gar kein oder nur geringes Schmerzempfinden

zugesprochen (KAPLAN 1969). Aber auch heutzutage nachdem das Schmerzempfinden der Amphibien vielfach untersucht wurde, sodass der Erkenntnisstand auf diesem Gebiet im Vergleich zu Fischen, Reptilien oder Vögeln sogar deutlich höher ist (MUTSCHMANN 1998, STOSKOPF 1994a, SCHAEFFER 1997), wird das Schmerzempfinden der Amphibien vielfach ignoriert bzw. bei Manipulationen oft nicht berücksichtigt, weil Amphibien keine Schmerzäußerungen wie Mimik oder Lautäußerungen zeigen (MACHIN 1999). Weitestgehend unbekannt ist das Schmerzempfinden im Phalangenbereich. Die häufig vorgenommenen Amputationen im Rahmen von Markierungsversuchen erfolgen meist ohne Anästhesie. Sie wird sogar aus methodischen Gründen vielfach abgelehnt (KUHN 1994). Physiologische Forschungen zeigen jedoch aufgrund passenden Verhaltens in der Erwidern auf Schmerzreize sowie das Vorhandensein antinozizeptiver Mechanismen, dass die Schmerzwahrnehmung der Amphibien wahrscheinlich der der anderen Wirbeltiere entspricht. Deshalb sollten invasive, möglicherweise schmerzhaft eingriffe mit fachgerechter Analgesie und Anästhesie begleitet werden (MACHIN 1999, STEVENS et al 1994, STOSKOPF 1994b). Zudem konnten nozizeptive Bahnen anatomisch und histochemisch nachgewiesen werden (STEVENS und PEZALLA 1983). Laut STEVENS (1988) konnten Opioidliganden und Rezeptoren, die während der Phylogenese erhalten geblieben sind, gefunden werden. Dies lässt einen Nutzen und gute Wirkung von Opioiden in der amphibischen Analgesie vermuten. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch die Tatsache, dass Amphibien über ein wirkungsvolles System der endogenen Schmerzausschaltung mittels opioider Peptide verfügen, die ähnlich auch bei Säugern vorkommen und deren Wirksamkeit im Vergleich zu Morphin sehr hoch ist. So wurde nachgewiesen, dass Opiode aus Amphibienhäuten, sogenannte Dermophine, die Wirksamkeit von Morphinum bei Ratten um das 40fache übersteigen und die Wirkungsdauer der Anästhesie etwa verdoppeln (STOSKOPF 1994a). Obwohl genaue Dosen nicht bekannt sind, zeigt die Grundlagenforschung der Mechanismen und Regulierungen der endogenen Opioidsysteme den potenziellen klinischen Vorteil für den Gebrauch von Opioiden bei diesen Tieren (MACHIN 1999). Untersuchungen von MACHIN (1999), BRENNER et al. (1994), LEE & FRANK (1991) und LETCHER (1992) zeigen, dass auch andere Schmerzmittel wie  $\alpha$ 2-Agonisten (Xylazin), Ketamin und MS 222 ebenso analgetisches Potential zeigen.

## 2.2. Narkose bei Amphibien (Übersicht)

### 2.2.1. Allgemeine Begriffsdefinitionen

Unter **Narkose** wird eine Ausschaltung der Empfindungs- und Sinneswahrnehmung (incl. Schmerz) verstanden, die durch Bewusstlosigkeit, Analgesie und Muskelrelaxation charakterisiert ist. Dagegen führt **die Anästhesie** („Unempfindlichkeit“; Aesthesie = Vermögen, sensible Reize der verschiedensten Art, incl. Schmerz, wahrnehmen) zur Aufhebung von Empfindungs- und Sinneswahrnehmungen, aber zu keiner Bewusstlosigkeit. Dabei ist die Allgemeinanästhesie von der Lokal- oder Regionalanästhesie zu unterscheiden. Bei der **Lokal-/Regionalanästhesie** kommt es durch die Applikation von Lokalanästhetika zur reversiblen absoluten Gefühllosigkeit durch die Blockade von Nervenleitungen in einem Abschnitt des Körpers (ERHARDT et al. 2004). Die verwendeten Lokalanästhetika sind Stoffe, welche, wenn sie lokal in die Umgebung von Nervenfasern appliziert werden, die Fortleitung von Aktionspotentialen über die Nervenfasern reversibel blockieren und damit die Schmerzempfindung lokal aufheben (LÖSCHER et al. 2003). Die **Allgemeinanästhesie** stellt dagegen einen reversiblen Zustand der Bewusstlosigkeit (Hypnose) und Empfindungslosigkeit dar, der durch ein oder meist mehrere Narkotika (Anästhetika) hervorgerufen wird. Dabei sollten auch Skelettmuskelentspannung (Immobilisation, Muskelrelaxation), Schmerzlinderung (Analgesie) und verminderte Reflexbereitschaft (Hyporeflexie) erreicht werden (SKARDA 1993, ERHARDT et al. 2004). Die sog. **Narkotika** führen durch Ausschaltung von Erregungsbildung und -leitung im ZNS zu (1) genereller Schmerzausschaltung (Analgesie), (2) Bewusstlosigkeit und (3) Muskeler schlaffung. Allerdings haben nur einige Narkotika (z.B. Äther) eine analgetische Eigenwirkung; die meisten Narkotika führen erst durch die induzierte Bewusstlosigkeit zur Schmerzausschaltung. Die meist angestrebte **Chirurgische Anästhesie** ist der Zustand, bei dem die Muskelentspannung und Schmerzausschaltung ausreichen, um am Patienten Operationen ohne Schmerzen oder Muskelbewegungen durchzuführen. Bei der **Analgesie** (Algesie = zentrales Schmerzwahrnehmungsvermögen) wird nur das Schmerzempfinden unterdrückt, das Bewusstsein und andere Sinneswahrnehmungen bleiben erhalten (LÖSCHER et al. 2003). BONICA (1990) definiert Analgesie als die Abwesenheit von Schmerz während einer normalerweise schmerzhaften Stimulation. Unter **Betäubung** versteht man das bei Schlachttieren nach nationalem und EU-Recht vorgeschriebene Erreichen der Bewusstlosigkeit vor dem Entbluten (WIESER & RIBBECK 2000). Bei der **Ruhigstellung** (Ataraxie, Neurolepsie) kommt es durch Dämpfung des Hypothalamus und der Formatio reticularis zu einem Zustand der Ruhe und Gelassenheit. Der Patient ist dabei gegen schwächere Schmerzreize unempfindlich und an seiner Umgebung nicht interessiert, aber

wach und jederzeit zum Aufstehen zu bewegen. Zu einer **Sedierung** kommt es dagegen durch eine Dämpfung des zerebralen Kortex. Der Patient ist ebenfalls wach, aber ruhig und bei ausreichender Stimulierung zum Aufstehen zu bewegen (BRETZINGER 2001).

### 2.2.2. Indikationen zur Anästhesie

Wurden früher Amphibien hauptsächlich für experimentelle Zwecke anästhesiert, hat in den letzten Jahren die praktische Bedeutung der Narkose bei Amphibien in der tierärztlichen Praxis zugenommen, da im Zuge der steigenden Beliebtheit von Terrarientieren auch die Haltung dieser Tiere stark zugenommen hat (HENKE & KÖLLE 2004). So findet sich heutzutage eine Reihe von Gründen die für eine Anästhesie dieser Tiere sprechen. Im Einzelnen ergeben sich in Abstufung von Sedierung über Allgemeinanästhesie bis zur Euthanasie folgende Indikationen (SKARDA 1993, COOPER 2003, CRAWSHAW 2003, HENKE & KÖLLE 2004, KRAMER et al. 1983, THURMON et al. 1996, WALLACH, BOEVER 1983, FOWLER 1993, HILKEN et al. 1997, SCHAEFFER 1997):

- Transport
- Allgemeinuntersuchung
- Allgemeine Therapiemaßnahmen
- Therapie bei der Durchführung schmerzhafter Eingriffe
- Gewinnung von Blutproben, Kotproben mittels Kloakentupfer
- Geschlechtsbestimmung
- Diagnostische Maßnahmen, wie z.B. Röntgenuntersuchungen, Endoskopie, Sonographie
- Laparoskopie für Forschung, Diagnostik, Therapie
- Entnahme von Biopsien
- Gonadektomie für physiologische Studien
- Hypophysektomie
- Entfernung von Tumoren, Cysten
- Reponierung von Kloakenprolaps
- Ophthalmologische Chirurgie
- Eucleatio bulbi

- Gefäßchirurgie
- Darmchirurgie
- Versorgung von Abszessen
- Laparotomie
- Versorgung von Frakturen
- Amputationen
- Fremdkörperentfernung
- Mittels Überdosierung als schonende Form der Tötung

So empfiehlt der Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragter, sogar Krallenfrösche aufgrund ihrer Schreckhaftigkeit vor jeder Manipulation zu sedieren bzw. zu narkotisieren (ARBEITSKREIS BERLINER TIERSCHUTZBEAUFTRAGTER 21.01.1997).

### 2.2.3. Methoden

Bei Amphibien lassen sich im Prinzip alle bei anderen Tierarten gebräuchliche Betäubungstechniken anwenden. Aufgrund ihrer oft kleinen Größe und ihrer oft ganz oder teilweise aquatischen Lebensweise ergeben sich einige Unterschiede bzw. Schwierigkeiten bei der Durchführung. Grundsätzlich kann man zwischen physikalischen und chemischen Betäubungsverfahren unterscheiden. Bei den physikalischen Techniken handelt es sich um Hypo-, Hyperthermie und Elektroanästhesie (BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004, SKARDA 1993). Diese Verfahren werden zwar in der Literatur angeführt, sollten aber heutzutage aus Tierschutzgründen keine Anwendung mehr finden. Zu den chemischen Betäubungsmethoden gehören die orale, lokale, perkutane oder parenterale (mittels Injektion) Applikation eines Anästhetikums sowie die Inhalationsanästhesie (BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004).

#### Physikalische Narkoseverfahren

##### *Hypothermie (Kälte-,Narkose“)*

Dieses Verfahren wird meist in älterer Literatur zur Immobilisation von Amphibien empfohlen (PARKER 1993). Die Tiere werden für 10-15 Minuten in eine Schale mit Eiswasser oder in einen Kühlschrank bei Temperaturen

von 1-5°C gesetzt (HENKE & KÖLLE 2004) und anschließend für die Dauer des jeweiligen Eingriffes auf ein Eisbett gelagert (BONATH 1977). Hierbei handelt es sich jedoch aus heutiger Sicht um eine nicht tierschutzgerechte Narkosemethode, da, obwohl keine Reflexe mehr ausgelöst werden können, die Schmerzempfindung erhalten bleibt. Zudem dürften besonders bei tropischen Arten durch die starke Kälte Gewebsschädigungen sowie eine Immunsuppression mit evtl. nachfolgender Infektion auftreten (HENKE & KÖLLE 2004).

#### Hyperthermie

Auch durch starke Temperaturerhöhungen im Wasserbad ab 37°C kann man bei Amphibien einen Zustand der Bewusstlosigkeit (Wärmelähmung) erreichen (WINTERSTEIN 1905).

#### Elektroanästhesie

Hierbei erfolgt die Betäubung mittels niedrig- und hochfrequenter Sinuswellen. Diese gelangen durch Kopfelektroden zum Tier. Während der Behandlung kommt es fast immer zum Atemstillstand des Patienten, was eine künstliche Beatmung erfordert (SKARDA 1993). Dieser Punkt sowie der hohe apparative Aufwand sprechen gegen diese Verfahren. Zudem scheitert die praktische Durchführung meist schon an der geringen Körpergröße der Amphibien.

Alle physikalischen Narkoseverfahren sollten heutzutage aus tierschützerischen Aspekten nicht mehr zum Einsatz kommen. Wenn überhaupt angewandt, sollten sie nur als Sedationsmethode angesehen werden (HILKEN et al. 1997).

#### Chemische Narkoseverfahren

##### Orale Applikation von Medikamenten z.B. Anästhetika

„Die orale Eingabe von Medikamenten ist [...] ein schonendes Verfahren. Die Öffnung des Maules erfolgt mittels einer Büroklammer, eines Plastikspatels o.ä. Die Präparate werden entweder direkt oder mit Hilfe einer Knopfkanüle bzw. per Sonde (Ernährungssonde, Katzenkatheter) in die Maulhöhle, besser direkt in den Magen instilliert (MUTSCHMANN 2004).“

### Lokalanästhesie

Diese Methode kann bei kleinen Eingriffen angewendet werden. Durch Auftupfen, Aufsprühen oder Injektion eines Lokalanästhetikums wird nur ein bestimmter Bereich betäubt ((MUTSCHMANN 1998, JOHNSON 1992, SKARDA R T 1993). Die Applikation sowie die Behandlung während der Lokalanästhesie erfordern manuelle Fixation, was die Tiere stresst und zusätzlich zu einer Schädigung des Schleimmantels der Haut führt. Dies erhöht wiederum das Risiko für Infektionen. Bei kleinen Tieren muss das Lokalanästhetikum ggf. verdünnt werden, um eine systemische Toxizität zu vermeiden (HENKE & KÖLLE 2004).

### Parenterale Applikation von Anästhetika (Injektionsanästhesie)

Injektionsanästhesien werden besonders bei Anuren eingesetzt (HENKE & KÖLLE 2004, MUTSCHMANN 1998). HENKE & KÖLLE (2004) beschreiben den Vorteil dieser Narkose im geringen apparativen Aufwand, warnen aber vor der schlechten Steuerbarkeit, da in der Regel nicht auf einen kontinuierlichen venösen Zugang zurückgegriffen werden kann. Außerdem bestehen zwischen den unterschiedlichen Amphibienarten bezüglich der Dosis der Anästhetika große Unterschiede, sodass gesammelte Erfahrungen nicht einfach von einer Art auf die andere übertragen werden können. Zudem ist auch hier wie bei der Lokalanästhesie eine manuelle Fixation der Tiere notwendig. In der Literatur werden diverse Applikationsformen beschrieben. Die meist angewendete Form ist die Lymphsacknarkose. Die Applikation erfolgt meist in die dorsalen Lymphsäcke, sie liegen beiderseits der Lendenwirbelsäule (BONATH 1977, MUTSCHMANN 1998) direkt unter der Haut und nehmen fast die gesamte Rückenpartie ein (HENKE & KÖLLE 2004). Seltener erfolgt die Injektion in die ventralen Bauch- oder in die Oberschenkellymphsäcke (BONATH 1977). Eine weitere Form ist die intramuskuläre (i.m.) Injektion. Hier erfolgt die Applikation der Narkotika in die Oberarm- oder Oberschenkelmuskulatur (THURMON et al. 1996, HENKE & KÖLLE 2004, BONATH 1977, MUTSCHMANN 1998). Auch eine intravenöse (i.v.) Injektion in die vordere Bauchvene ist möglich, wird aber nur selten durchgeführt (KAPLAN 1969). Meist ist die geringe Körpergröße der limitierende Faktor. Die V. abdominalis liegt in der Medianen direkt unter der Bauchhaut. Ihr Verlauf ist kranio-kaudal. Das Tier muss für die Injektion in Rückenlage fixiert werden. Der Einstich erfolgt am Übergang vom mittleren zum kaudalen Drittel der Bauchhöhle (BONATH 1977). Weitere Injektionsorte werden zwar erwähnt, kommen aber meist nur bei experimentellen Untersuchungen zum Einsatz und haben in der Praxis kaum Bedeutung (HENKE & KÖLLE 2004), auch in Hinblick auf den Tierschutz. Hierzu zählen die intrakraniale Injektion (KISCH 1948, BIETER et al. 1932), die Spinalanästhesie in den Wirbelkanal (BIETER et al. 1932, STOSKOPF 1994a) sowie die intraperitoneale Injektion (CRAWSHAW 1989).

### Transkutane Applikation

Die transkutane Applikation in Form von Tauchbädern stellt für Amphibiennarkosen die Methode der Wahl dar (WALLACH, BOEVER 1983, HENKE & KÖLLE 2004). Neben der einfachen Durchführung bietet dieses Verfahren die beste Möglichkeit, den Verlauf der Narkose zu steuern (HILKEN et al. 1997, HENKE & KÖLLE 2004). Die Tiere nehmen das in Wasser gelöste Narkosemittel solange perkutan - kiemenatmende Amphibien zusätzlich über die Kiemen - auf, bis es zu einem Konzentrationsausgleich zwischen Narkoselösung und Körperflüssigkeit kommt. Kiemenlose Amphibien nehmen die in Wasser gelösten Stoffe ausschließlich über die Haut auf. Sie stellt ein Passagehindernis zu den subkutan gelegenen Blut- und Lymphbahnen dar (BONATH 1977). Bei kiemenatmenden Amphibien dagegen ist die verwendete Dosis prinzipiell geringer anzusetzen, da hier zusätzlich aufgrund der starken Durchblutung der Kiemen eine direkte und schnellere Aufnahme der Narkoselösung erfolgt (HENKE & KÖLLE 2004). Laut COOPER (2003) entspricht die Narkose von Urodelen der von Fischen. Ist die gewünschte Narkosetiefe erreicht, werden die Tiere aus dem Narkosebad genommen und durch kurzes Abspülen mit frischem Wasser von noch anheftender Narkoselösung befreit (HENKE & KÖLLE 2004). Die Tauchbadnarkose ist im Gegensatz zur Injektionsnarkose steuerbar, da sedierte Tiere durch erneutes Eintauchen in das Narkosebad jederzeit in ein tieferes Narkosestadium überführt werden können. Andererseits lassen sich durch das Abspülen mit reinem Wasser relativ schnell wieder oberflächliche Anästhesiestadien herbeiführen, sodass die Narkosetiefe dem Gesundheitszustand des Tieres oder der Situation des schmerzhaften Eingriffes angepasst werden kann (BONATH 1977). Außerhalb des Narkosebades kann die Anästhesie durch Eintauchen eines Körperteils in die Narkoselösung, durch Besprühen der Kiemen oder der Rücken- bzw. Bauchhaut aufrechterhalten werden, während im Bereich des übrigen Körpers schmerzhaft Eingriffe vorgenommen werden können (BONATH 1977). Die Aufrechterhaltung der Narkose ist auch möglich, indem man die Tiere auf ein mit der Lösung getränktes Baumwolltuch setzt (HENKE & KÖLLE 2004). Da die Atmung der Amphibien je nach Spezies in mehr oder weniger hohem Maße über die Haut erfolgt (s.a. Kapitel 2.1.2.1.), entspricht die Tauchbadnarkose ihrem Charakter nach der Inhalationsnarkose lungenatmender Wirbeltiere (BONATH 1977). Daher können auch Narkosegase zur Inhalation ins Wasser eingeleitet werden (JOHNSON 1991). Zur Anwendung kommen hier Medikamente wie Halothan, Isofloran (RAPHAEL 1993) sowie Sevofluran (MUTSCHMANN 2004).

Eine andere Form der transkutanen Applikation ist das direkte Aufbringen von Narkotika in unverdünnter Form auf die Rückenhaut der Amphibien (WESTHUES & FRITSCH 1961).

Dabei können Medikamente in flüssiger Form sowie als Trockensubstanz verwendet werden. Wichtig ist, dass nach Eintritt der gewünschten Narkosetiefe das Anästhetikum sofort mit Wasser abgespült wird (BONATH

1977). Ebenso ist es möglich, Amphibien in mit einem Narkosemittel getränkte Tücher zu wickeln. Zu beachten ist, dass die Permeabilität der Haut von Spezies zu Spezies sowie, je nach Körperregion, unterschiedlich ist (HENKE & KÖLLE 2004).

### Inhalationsnarkose

Das Inhalationsverfahren erfolgt entweder nach vorausgegangener Sedierung und Intubation (CRAWSHAW 1993) oder mit Hilfe spezieller, dichtschießender Narkosegefäße, in die ein - mit Narkosemittel getränkter - Wattebausch oder Schwamm gelegt wird (MUTSCHMANN 1998). Die Intubation wird durch die Größe der Tiere und die, in der Regel sehr kurze Trachea erschwert (HENKE & KÖLLE 2004). Über einen Verdampfer kann das Narkosegas auch direkt in eine Box eingeleitet werden, in der das zu betäubende Tier sitzt (THURMON et al. 1996). Bei landlebenden Arten kann es durch das Narkosegas zu Hautirritationen kommen (WOLFENSOHN & LLOYD 1998).

## 2.2.4. Wirkstoffe

### 2.2.4.1. MS 222 (Tricain, Tricainmethansulfonat, Tricainmesilat, Metacain, Ethyl-m-aminobenzoat)

Tricain ist die sicherlich weltweit am häufigsten zur Amphibiennarkose eingesetzte Substanz. Ihre Molekülformel lautet  $C_9H_{11}O_2N + CH_3SO_3H$  und das Molekulargewicht beträgt 261,3 (ALPHARMA ANIMAL HEALTH 2001). Hierbei handelt es sich um ein Na-Kanäle blockierendes Lokalanästhetikum (LONGLEY 2008). Es stellt ein Isomer des Benzocain dar, bei dem die Aminogruppe in der meta - Position, statt auf der para - Position am Benzenring sitzt. Das zusätzliche Sulfonaträdicale macht es besser wasserlöslich und saurer als die Muttersubstanz. Das weiße, feine und geruchlose Salz ist bei 20°C frei in Wasser löslich. Man erhält eine klare, farblose und saure Lösung (LONGLEY 2008, ALPHARMA ANIMAL HEALTH 2001). Bei kühlung (unter 25°C) und vor Sonneneinstrahlung geschützter Lagerung ist das Pulver bis zu fünf Jahre lang, die angemischte Lösung bis zu drei Monate lang haltbar.

Tricain wirkt toxisch bei Verwendung im Salzwasser und im Sonnenlicht (ERHARDT et al. 2004). Beim Umgang des Menschen mit dieser Substanz sollte ein direkter Haut- und Augenkontakt sowie die Inhalation oder orale Aufnahme vermieden werden, um Irritationen oder Verätzungen zu vermeiden (LONGLEY 2008). Wenn die fertige Lösung des Anästhetikums neutralisiert wird, beschleunigt sich die Induktionszeit und die benötigte

Dosis verringert sich (OHR, 1976). Wegen der sauren Lösung empfehlen viele Autoren in Hinblick auf die äußerst empfindliche Amphibienhaut eine Pufferung der Lösung mit Natriumbicarbonat, Natriumhydrogencarbonat oder Natriumphosphat (KÖLLE 2004, LONGLEY 2008, CRAWSHAW 1992, 2003, HILKEN et al. 1997, HALLIDAY 1999). Das Anästhetikum hat eine weite Sicherheitsspanne. Bei Toxizitätsstudien an Fröschen betrug die LC<sub>50</sub> 6,2% (Finquel® data sheet, Argent Chemical Laboratories). Die empfohlenen Dosierungen sind sehr unterschiedlich und bewegen sich zwischen 0,5 g/l Wasser und 5 g/l Wasser, wobei für Anuren meist höhere Dosierungen empfohlen werden, als für Urodelen (näheres s. Tabelle 1).

Tabelle 1: MS 222 Dosierungen verschiedener Autoren

Dosis	Zweck	Amphibienart	Quelle
0,1-0,5%	Anästhesie	Allgemein	SKARDA (1993)
0,1-0,5%	Sedation	Allgemein	WALLACH & BOEVER (1983)
0,1-0,3%	Anästhesie	Leopardfrösche	THURMON et al. (1996)
3g in 5 l	Anästhesie	Salamander	KRAMER et al.(1983)
100-200mg/l 1-2g/l gepuffert	Anästhesie Anästhesie	Kaulquappen Frösche	CRAWSHAW(2003)
0,05-0,1% 0,02-0,03%	Anästhesie Anästhesie	Frösche Larven	WRIGHT & WHITTAKER (2001), COOPER (2003)
0,02-0,1% (0,3%)	Anästhesie	Allgemein	FOWLER (1986)
50-100mg/l	Anästhesie	Allgemein	MUIR et al. (1995)
0,1-0,5%	Sedation	Allgemein	MUIR & HUBBELL (1989)
0,1-0,15% 0,01-0,02%	Anästhesie Anästhesie	Krallenfrösche Krallenfroschlarven	BROWN (1970), BONATH (1977), VERHOEFF DE FREMERY et al. (1986)
0,0075-0,015%	Anästhesie	Allgemein	FOWLER (1993)
0,05% 0,2-0,4%	Sedation Anästhesie	Krallenfrösche Krallenfrösche	ARBEITSKREIS BERLINER TIERSCHUTZBEAUFTRAGTER (21.01.1997)
Einleitung: 700mg/l Erhaltungsbedarf: 70mg/l	Anästhesie	Geflecker Furchenmolch	BOVÉ (o.J.)
1,3g/l	Anästhesie	Krallenfrösche	HOBSON & TOWNSEND (1964)
2g/l	Anästhesie	Leopardfrösche, Grüne Wassermolche	BONATH (1977)
1-1,5g/l  0,5g/l 3g/l 0,5-3g/l 1-3g/l	Anästhesie  Anästhesie Anästhesie Anästhesie	Wasserfrösche, Seefrösche, Grasfrösche Wassermolche Erdkröten Feuersalamander Allgemein	BONATH (1977)
1,5g/l 3g/l 0,5g/l	Anästhesie Anästhesie Anästhesie	Frösche Kröten Urodelen	HENKE & KÖLLE (2004)

Fortsetzung Tabelle 1: MS 222 Dosierungen verschiedener Autoren

Dosis	Zweck	Amphibienart	Quelle
0,10% 1:2000 bis 1:3000	Anästhesie Anästhesie	Leopardfrösche Grasfrösche	MARCUS (1983)
1:2000 bis 1:7500 0,15% gepuffert  0,03-0,07%	Anästhesie Anästhesie  Anästhesie	Salamander Wassermolche, Rippenmolche, Krallenfrösche, Axolotl Adulte und Larven bis 15cm Körperlänge	HALLIDAY (1999)
1:2000-1:3000	Anästhesie	Allgemein	WOLFENSOHN & LLOYD (1998)
0,5-3g/l	Anästhesie	Allgemein	MUTSCHMANN (2004)
Einleitung: 1500mg/l Erhaltung: 600mg/l gepuffert	Anästhesie	Frösche	VAN ZUTPHEN et al. (1995)
1-1,5g/l 3g/l 0,5g/l	Anästhesie Anästhesie Anästhesie	Frösche Kröten Schwanzlurche	FRANK (1976)
1.1000-1:10000  1:1000-1:3000	Anästhesie, Euthanasie  Anästhesie, Euthanasie	Froschlurche, Schwanzlurche, Kaulquappen Allgemein	REICHENBACH-KLINKE & ELKAN (1965)
200-500mg/l	Anästhesie	Kaulquappen, Wassermolche	SCHAEFFER (1997)
0,5g-2g/l gepuffert	Anästhesie	Frösche, Salamander	SCHAEFFER (1997)
1-3g/l gepuffert	Anästhesie	Kröten	SCHAEFFER (1997)
0,02-1,0%	Anästhesie	Furchenmolche, Axolotl, Wassermolche	SCHAEFFER (1997)
0,20%	Operationen	Wassermolche	SCHAEFFER (1997)

## 2.2.4.2. Metomidat (Medomidathydrochlorid) / Etomidat

Bei diesen Mitteln handelt es sich um Imidazolderivate (PADDLEFORD, ERHARDT 1992).

Metomidat (Molekulargewicht 266,7) ist als weißes kristallines Pulver gut wasserlöslich. Es war lange Zeit unter dem Namen Hypnodil® (Firma Janssen) als Hypnotikum für Schweine und Vögel auf dem Markt, wurde aber trotz seiner Popularität vom Hersteller aufgrund Höchstmengenproblematik zurückgezogen. Sie zählen zwar nicht zu den Barbituraten, aber sie dämpfen wie diese die Formatio reticularis und bewirken damit einen tiefen Schlafzustand von relativ kurzer Dauer (LÖSCHER et al. 2003).

Die therapeutische Breite von Metomidat ist größer als die der Barbiturate. Eine analgetische Eigenwirkung fehlt (LÖSCHER et al.1994, ENSINGER 2005). Bei der Nachdosierung von Metomidat kann es zu Kumulationserscheinungen kommen (PADDLEFORD, ERHARDT 1992). Die narkotisierten Tiere zeigen teilweise Nachschlafphasen von bis zu 24 Stunden (MUTSCHMANN 1998). Ihr Abbau erfolgt über die Leber (ENSINGER 2005).

Das analoge Präparat in der Humanmedizin ist Etomidat (Hypnomidate®), das als intravenöses Kurzhypnotikum und Ultrakurzanästhetikum eingesetzt wird (LÖSCHER et al.2003, ENSINGER 2005). Beide Wirkstoffe haben vergleichbare chemische und pharmakologische Eigenschaften. Etomidat zeigt eine etwas schlechtere Wasserlöslichkeit und ist weniger venenreizend als Metomidat (ENSINGER 2005). In Deutschland befindet sich derzeit kein für Tiere zugelassenes Arzneimittel mit einem der beiden Wirkstoffe im Handel (LÖSCHER et al. 2003). MUTSCHMANN (1998) empfiehlt eine Dosierung von 20-50mg Metomidathydrochlorid pro Liter Wasser.

#### 2.2.4.3. Benzocain (Ethylaminobenzoat, Ethyl-p-aminobenzoat, p-Aminobenzoessäuremethylester)

Benzocain (Molekulargewicht 165,2) ist eigentlich ein Lokalanästhetikum vom Ester-Typ, das jedoch wegen des Fehlens der Aminogruppe im aliphatischen Teil des Moleküls im Gegensatz zu seinem Derivat Tricainmethansulfonat wasserunlöslich ist (FREY & LÖSCHER 2002, LÖSCHER et al.1994). Um es in Wasser lösen zu können, muss es erst in Aceton oder Alkohol gelöst werden (HENKE & KÖLLE 2004, LONGLEY 2008, SCHAEFFER 1997). LONGLEY (2008) empfiehlt die Herstellung einer Stammlösung von 40g/Liter Aceton. Diese Lösung muss lichtgeschützt gelagert werden. Derzeit gibt es in Deutschland keine für das Tier zugelassenen Monopräparate (LÖSCHER et al. 2006). Es findet sich nur in zahlreichen Kombinationspräparaten zur Behandlung von Rachenkatarrhen, Otitiden, Konjunktividen und Keratitiden, außerdem zur Lokalanästhesie in Injektionslösungen bzw. Zäpfchen mit lokal irritierenden Wirkstoffen. Es wird nur sehr langsam resorbiert, was eine lange Wirkungsdauer zur Folge hat. Daher ist es im Gegensatz zu anderen Lokalanästhetika nicht für Operationszwecke geeignet (LÖSCHER et al. 1994). Eine Studie von ANDERSON & WANG (2002) zeigt signifikante kardio-respiratorische Veränderungen während der Benzocainnarkosen von Agakröten (*Bufo marinus*). Die empfohlenen Dosierungen betragen für adulte Amphibien 200-300mg/l und für Larven 10-50mg/l (ROSS & ROSS 1999, SCHAEFFER 1997, COOPER 2003, CRAWSHAW2003).

#### 2.2.4.4. Chloralhydrat (Chloralhydrat, Trichloracetaldehyddhydrat)

Bei Chloralhydrat handelt es sich um ein Sedativum und Hypnotikum mit ähnlichen Eigenschaften wie die Barbiturate. Chloralhydrat (Molekulargewicht 165,4) ist eine wasserlösliche, transparente, kristalline Substanz, die sich verflüchtigt, wenn sie mit Luft in Berührung kommt und einen penetranten Geruch erzeugt. Wenn es

UV-Licht ausgesetzt wird, zerfällt es rasch in Säuren. Eine 10%ige Lösung besitzt einen pH-Wert von 3,5-4,4. Beim Mensch wirkt diese Substanz reizend auf Haut und Schleimhäute, wenn sie nicht stark verdünnt wird. Zudem gilt Chloralhydrat bei Warmblütern als leberschädigend (LÖSCHER et al. 2006). Nach der Resorption entsteht innerhalb von wenigen Minuten über das Aldehyd und seiner Reduktion das hypnotisch wirksame 2,2,2-Trichlorethanol, dessen Halbwertszeit etwa 8 Stunden beträgt. Die schlafinduzierende Wirkung von Chloralhydrat wird überwiegend diesem Alkohol zugerechnet. Das Mittel besitzt nur sehr schwache analgetische Wirkung (HALL et al. 2001, MÖHLER 2005). Chloralhydrat ist in Deutschland nur noch in Tabletten- oder Kapselform als humanmedizinisches Schlafmittel im Handel (LÖSCHER et al. 2006). Die für eine Anästhesie benötigte Menge liegt der minimalen letalen Dosis sehr nahe. Schon hypnotische Dosen können zu Atemnoterscheinungen und zu arteriellem Blutdruckabfall führen (HALL et al. 2001). KARCZMAR & KOPPANYI (1948) empfehlen zur Tauchbadnarkose eine Dosis von 4g/l Wasser.

#### 2.2.4.5. Urethan (Äthylurethan, Ethyl carbamate)

Dieses Mittel findet heutzutage keine Verwendung mehr, auch nicht bei Versuchstieren (HALL et al. 2001). Die narkotisierten Tiere zeigen ein außerordentlich langes Toleranzstadium von bis zu drei Stunden und eine sehr lange Aufwachzeit. Aufgrund seiner karzinogenen Wirkung sollte bei seiner Verwendung immer Handschuhe getragen werden (WESTHUES & FRITSCH 1965, FOWLER 1986). Zum Narkotisieren von Amphibien kann entweder ein Bad mit 10g/l Wasser (bis 20g/l) verwendet werden oder „[...] es kann eine „Messerspitze voll“ in Pulverform auf den ganzen Rücken gestreut werden“ (WESTHUES, FRITSCH 1961). Das Pulver muss aber sofort nach Narkoseeintritt abgespült werden. Der Narkoseeintritt erfolgt nach ca. 8min. (WESTHUES & FRITSCH 1965, FRAZER 1967, WESTHUES, FRITSCH 1961).

#### 2.2.4.6. Nelkenöl (Eugenol)

Nelkenöl (Eugenol) wird schon sehr lange mit Erfolg zur Narkotisierung von Amphibien eingesetzt. Die Wirkungsdauer ist mit weniger als 5 Minuten bis zu 65 Minuten allerdings sehr variabel (LONGLEY 2008). Laut CRAWSHAW (2003) ist eine Narkose dadurch deutlich unberechenbarer als z.B. eine Narkose mit MS-222. Eine häufig auftretende Nebenwirkung ist ein Prolaps des Ösophagus (LONGLEY 2008). LAFORTUNE et al. (2000) beobachteten dieses Phänomen bei Froschnarkosen mit 0,3ml/l (Nelkenölgehalt >85%). Dabei wurde bei 50% der Tiere solch ein Vorfall hervorgerufen. Weitere Dosierungsangaben sind 0,3-0,5ml/l Wasser für

Anuren (CRAWSHAW 2003) oder 40-100mg/l Wasser für Anuren und Urodelen (WRIGHT, WHITTAKER 2001, STETTER 2001)

#### 2.2.4.7. Äthanol (Alkohol)

Viele Autoren raten zu einem Tauchbad in einer 10%igen Alkohollösung (KAPLAN & KAPLAN 1961, MARCUS 1983, LONGLEY 2008, FOWLER 1986, WALLACH, BOEVER 1983). Laut LONGLEY (2008) kann einfacher 40% Wodka verwendet werden und entsprechend mit Wasser verdünnt werden. FOWLER (1986) wiederum empfiehlt, Äthanol nur als Ersatznarkotikum zu verwenden. Nach Erfahrungen von MARCUS (1983) ist Äthanol für den klinischen Gebrauch ungeeignet. Es erzeugt viel zu starke Abwehrreaktionen und führt zu einer viel zu geringen Entspannung der Tiere. Zudem traten bei der Verwendung einer 20%igen Äthanollösung für einige Minuten oder während der Anwendung einer 10%igen für 20 Minuten, jeweils Todesfälle auf. Auch KAPLAN & KAPLAN (1961) warnen vor einer leichten Überdosierbarkeit

#### 2.2.4.8. Äther (Diethyläther)

Diethyläther, simpel bekannt als Äther, war eines der ersten Inhalationsnarkotika. Es wird heutzutage wegen seines irritierenden Geruchs, der leichten Brennbarkeit und im Gemisch mit Sauerstoff hohen Explosivität nicht mehr verwendet (ENSINGER 2005, HALL et al. 2001, LÖSCHER et al. 2003). Aufgrund der hohen Blutlöslichkeit ist die Einleitungsphase selbst bei Verwendung relativ hoher Konzentrationen lang und die Abflutung nach Narkosebeendigung sehr langsam. Die Elimination erfolgt zu 90% über die Lunge (LÖSCHER et al. 2003, HALL et al. 2001). JIROVEC (1958) und KAPLAN (1969) halten Äther auch wegen auftretender Hautirritationen und der Gefahr der Überdosierung für ungeeignet.

#### 2.2.4.9. Ketamin (Ketaminhydrochlorid)

Ketamin ist ein chirales Cyclohexanonderivat und gehört zu den Phencyclidinen (ERHARDT et al. 2004). Es handelt sich um ein weißes, kristallines Pulver, das bis zu 20% in Wasser löslich ist. Dabei sollte der meist niedrige pH-Wert der jeweiligen Injektionslösung berücksichtigt werden, da dieser meist zwischen 3,5 bis 5,5 liegt und sich dadurch besonders i.m. und s.c. Injektionen als schmerzhaft erweisen oder sogar zu Nekrosen führen können (EBERT et al. 2002, PADDLEFORD, ERHARDT 1992). Es handelt sich nicht um ein

Narkotikum im klassischen Sinn, sondern laut LÖSCHER et al. (2003) „[...] um ein Anästhetikum, das zu einem Zustand führt, der durch starke Analgesie, oberflächlichen Schlaf und Katalepsie“ (Zustand hochgradiger motorischer Antriebslosigkeit bei gleichzeitig erhöhtem Muskeltonus) „charakterisiert ist und Ähnlichkeiten mit der Neuroleptanalgesie aufweist.“ Auch bei ausreichend hoher Dosierung führt Ketamin im Gegensatz zu Narkotika zu keiner Muskelrelaxation, sondern zu einer Muskeltonussteigerung. Die Pharyngeal- und Laryngealreflexe bleiben voll erhalten, ebenso Husten-, Schluck- und Lidreflex (ENSINGER 2005, LÖSCHER et al. 2003, HALL et al. 2001). Ketamin wird wegen seiner großen Sicherheitsbreite bei nahezu allen Wirbeltieren zur Anästhesie eingesetzt, zeigt aber in seiner Wirkung große tierartliche Unterschiede hinsichtlich Dauer und Tiefe des anästhetischen Zustandes (EBERT et al. 2002, PADDLEFORD, ERHARDT 1992). Hauptvorteil ist das Fehlen atem- und kreislaufdepressiver Wirkungen (LÖSCHER et al. 2003). Nach Applikation steigen Blutdruck und Pulsfrequenz bei normaler Atemfrequenz zu Beginn um ca. 30% über die Norm an (Aktivierung sympathischer Zentren). Ketamin wirkt somit, im Gegensatz zu anderen Kurzanaesthetika, bei Patienten mit einem intravasalen Volumenmangel kreislaufstabilisierend (ENSINGER 2005). Am Herzen bewirkt es einen chronotropen (Frequenzsteigerung) und aufgrund der Sympatikusanregung einen positiv inotropen (Kontraktilitätssteigerung) Effekt. Auch eine antiarrhythmische Wirkung am Herzen wird vermutet (LÖSCHER et al. 2006). Somit kann es auch bei kreislaufdepressiven Patienten im Gegensatz zu anderen Narkotika ohne erhöhtes Narkoserisiko angewendet werden (LÖSCHER et al. 2003). Die Analgesie überdauert die Bewusstlosigkeit. Bis zu 2 Stunden nach der Anästhesie, kann sich das Tier in einer Art Trance-Zustand (beim Menschen treten Halluzinationen auf) befinden, der von Ataxie und erhöhter Geräuschempfindlichkeit begleitet wird.

Die permanente Muskelaktivität erhöht den allgemeinen Energie- und Sauerstoffverbrauch und bedingt zusammen mit der eingeschränkten Fähigkeit der zentralen Wärmeregulation eine Tendenz zur Hyperthermie. Ketamin überwindet die Plazentarschranke, hat aber keinen negativen Einfluss auf das Überleben der Feten (ERHARDT et al. 2004). Im Allgemeinen erfolgt eine i.m. Injektion, aber eine i.v. Gabe ist ebenso möglich (LÖSCHER et al. 1994). Da die Anästhesiedauer bei i.v. Anwendung jedoch sehr kurz ist, empfiehlt sich die i.m. Injektion, nach der die Bioverfügbarkeit ca. 90% beträgt. Bei intakten Kreislaufverhältnissen wird Ketamin nach i.m. Injektion innerhalb weniger Minuten resorbiert (ADAMS u. WERNER 1997). Die Wirkung tritt nach 3-10min. ein und hält für 15-45min. an (LÖSCHER et al. 1994). Laut PADDLEFORD, ERHARDT (1992) kann es auch über die Mundschleimhaut resorbiert werden. Aufgrund der mangelnden analgetischen Wirkung an der Serosa ist die alleinige Verwendung von Ketamin für die Ausschaltung von Eingeweideschmerzen bei

Bauchoperationen nicht geeignet. Hierfür sollte immer eine Kombination mit anderen Anästhetika erfolgen (LÖSCHER et al. 2003, ERHARDT et al. 2004, PADDLEFORD, ERHARDT 1992).

Wie oben erwähnt, hat sich Ketamin in den letzten Jahren bei fast allen Tierarten zu einer der populärsten Substanzen für die operative Schmerzausschaltung entwickelt, wobei sich aufgrund der auftretenden Erregungszustände und der entstehenden Muskelkrämpfe grundsätzlich eine Kombination mit anderen Anästhetika empfiehlt. Besonders bewährt haben sich  $\alpha$ 2-Adrenozeptoragonisten (z.B. Xylazin) und Benzodiazepine (EBERT et al. 2002, ERHARDT et al. 2004, LÖSCHER et al. 2006). Die Kombination mit Sedativa bewirkt einerseits eine ausgeprägtere Muskelrelaxation, eine geringere Salivation, und eine sanftere Aufwachphase aber sie führt andererseits zu einer stärkeren Kreislauf- und Atemdepression (LÖSCHER et al. 2003). Bei einer Kombination mit Xylazin kann die Dosis von Ketamin um die Hälfte reduziert werden (LÖSCHER et al. 1994).

Bei den meisten Tieren erfolgt der Abbau hauptsächlich über die Leber. Dort wird es zu noch teilaktiven Norketamin und Dehydronorketamin metabolisiert. Das anfallende Norketamin und das Dehydronorketamin werden weiter verstoffwechselt und renal ausgeschieden. Bei Katzen wird der größte Teil unverändert über die Nieren ausgeschieden (EBERT et al. 2002, HALL et al. 2001, PADDLEFORD, ERHARDT 1992).

Es existiert kein spezifischer Antagonist zu Ketamin (JALANKA 1991).

Nebenwirkungen:

Ketamin besitzt eine große therapeutische Breite bei fehlender Organtoxizität (GREEN et al. 1981, ADAMS & WERNER 1997). Es bewirkt eine vermehrte Salivation bei Säugetieren, die durch Prämedikation mit Atropin verringert werden kann. Seine vasopressorische Wirkung führt zu einer erhöhten Blutungsneigung. Bei Hunden und Raubkatzen führt eine alleinige Verabreichung zu initialen Erregungserscheinungen bis hin zu Krämpfen. Folge von Überdosierungen sind Muskelkrämpfe, Atemlähmung und Herzarrhythmien. Bei Leber- und Nierenschäden kann es zu Störungen bei der Ausscheidung kommen. Auch bei Epilepsie, Präeklampsie und Eklampsie ist Ketamin kontraindiziert (LÖSCHER et al. 2003). Es sollte bei Tieren mit Herzmuskelerkrankungen nicht eingesetzt werden, weil die damit verbundene Herzfrequenzbeschleunigung zu einem Anstieg des myokardialen Sauerstoffverbrauchs und des Sauerstoffbedarfs führt. Auch bei Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma oder zur Myelographie ist Ketamin wegen der Erhöhung des intrakraniellen Druckes ungeeignet. Eine Nachdosierung kann zu einem langandauernden „hang-over“ (allgemeine Depression) in der post-anästhetischen Phase führen (PADDLEFORD, ERHARDT 1992).

Nach Meinung vieler Autoren kann Ketamin auch zur Amphibienanästhesie verwendet werden (WASS & KAPLAN 1974, WRIGHT, WHITTAKER 2001, MUIR et al.1995, CRAWSHAW 1993, FOWLER 1993, FRANK 1976, MUTSCHMANN 1998, WOLFENSOHN & LLOYD 1998, WHITAKER et al.1999). Dabei wurde Ketamin bisher nur per Injektion (i.m., s.c., i.v., Lymphsäcke), nie als Tauchbad verabreicht.

Je nach Amphibienart dauert die Einleitung 10-20min. Die Narkose selbst hält zwischen 20-60min. an (MUIR et al.1995). FOWLER (1993) bezeichnet die Ketaminnarkose für kleinere Manipulationen als ausreichend, aber für chirurgische Eingriffe als ungeeignet, da eine chirurgische Toleranz nur mit sehr hohen Dosen zu erreichen ist. Auch CRAWSHAW (1993) und MUIR et al. (1995) teilen diese Ansicht. Die zu verabreichenden Dosen variieren zwischen 10 und 200mg/kg KGW (s.d. Tabelle 2).

Tabelle 2: Dosierungen Ketamin

Dosierung mg/kg KGW	Applikationsart/Anmerkung	Autor
20-60	Bei kleineren Amphibien	FRANK (1976)
80-100	Bei größeren Amphibien	
10-20	Zum Beginnen bei unbekanntem Arten	
50		WOLFENSOHN & LLOYD (1998)
30-100	i.m., s.c., i.v., Lymphsäcke	MUTSCHMANN F (2004)
50-100	i.m., i.v., i.p., zur Sedierung	WASS & KAPLAN (1974)
50-200		WRIGHT K M, WHITTAKER (2001)
100-200	s.c., i.m.	MUIR et al. (1995)
50-150	s.c.	CRAWSHAW (1993)

#### 2.2.4.10. Xylazin (Xylazinhydrochlorid)

Hinweis:

Im Zuge dieser Arbeit konnten kaum Literaturhinweise zur Anwendung von Xylazinhydrochlorid, sowie seine Kombination mit Ketamin (Hellabrunner-Mischung), als Anästhetikum bei Amphibien gefunden werden. Allein WOLFENSOHN & LLOYD (1998) erwähnen die Möglichkeit der Kombination von Ketamin und Xylazin bei Amphibien. Eine weitere Ausführung dieser Ansicht, Erfahrungsberichte oder Dosierungsvorschläge folgen allerdings nicht. Daher werden die Eigenschaften dieser Pharmaka im Folgenden bezüglich der Anwendung bei anderen Tierarten beschrieben.

Bei dem Thiazinderivat Xylazin handelt es sich um einen zentral und peripher angreifenden  $\alpha$ 2-Adrenorezeptoragonist, mit sedativer, hypnotischer, lokalanästhetischer, blutdrucksenkender sowie analgetischer und zentral muskelrelaxierender Wirkqualität (PADDLEFORD, ERHARDT 1992, HALL et al. 2001, LÖSCHER et al. 2006).

In der Veterinärmedizin findet es als Xylazinhydrochlorid Verwendung, ein weißes kristallines Pulver, das mindestens bis zu einer Konzentration von 500mg/l in Wasser löslich ist und einen pH-Wert von etwa 5,5 aufweist. Es ist unter dem Warenzeichen Rompun® als Injektionslösung bzw. Trockensubstanz zur Anwendung bei Rind, Pferd, Hund, Katze, Zoo- und Wildtieren im Handel. „Xylazin ist das einzige Nicht-Opioid, das in seiner analgetischen Wirkungsstärke dem Morphin vergleichbar ist. [...] Die wichtigsten pharmakologischen Wirkungen [...] sind die analgetische Wirkung (tierartabhängig 1/5 bis 1/1 der Wirkung von Morphin), die sedative/hypnotische Wirkung (stärker als bei Morphin), die zentral muskelrelaxierende Wirkung, die stark blutdrucksenkende Wirkung (durch Erregung zentraler  $\alpha$ -Rezeptoren und die dadurch ausgelöste Senkung des peripheren Sympathikotonus [...] und die sekretionshemmende Wirkung [...]“ (LÖSCHER et al. 2003).

Das Ausmaß der analgetischen Wirkung zeigt, ähnlich wie bei den morphinartigen Analgetika, starke tierartige Unterschiede. Auch die Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten gegenüber Xylazin ist sehr unterschiedlich, wobei das Rind am sensibelsten und das Schwein am unempfindlichsten reagiert. So lässt sich z.B. beim Schwein innerhalb nichttoxischer Dosen keine völlige Schmerzfreiheit erreichen. Eine ausreichende Analgesie kann in der Regel nur in Kombinationen mit anderen Arzneimitteln erreicht werden (LÖSCHER et al. 2003, 2006). Neben der starken analgetischen Wirkung zeichnet sich Xylazin vor allem durch eine ausgeprägte sedativ/hypnotische Wirkung aus (LÖSCHER et al. 2006). Xylazin kann i.m., i.v. oder s.c. appliziert werden. Bei i.m. oder s.c. Applikationen können aufgrund des niedrigen pH-Wertes Gewebsschäden auftreten. Wird Xylazin i.v. appliziert, erfolgt der Wirkungseintritt nach 3-5min., bei i.m. Injektion in 10 bis 15min., wobei die Bioverfügbarkeit tierartlich von 20-90% stark variiert (LÖSCHER et al. 1994, 2006, HALL et al. 2001). Unmittelbar nach parenteraler Applikation von Xylazin kommt es zu einem Blutdruckanstieg, da zunächst die peripheren postsynaptischen  $\alpha$ -Adrenorezeptoren stimuliert werden. Wenn wenig später auch zentrale prä- und postsynaptische  $\alpha$ -Rezeptoren erreicht sind, kommt es zu einer Senkung des Sympathikotonus, was eine Abnahme des Blutdruckes zur Folge hat (LÖSCHER et al. 2003, 2006). Weitere Wirkungen sind zentrale Muskelrelaxation durch Hemmung der Reizübertragung im Rückenmark und Sekretionshemmung, deren Stärke etwa 50% der durch Atropin ausgelösten entspricht. Bei Rindern und Schafen wird allerdings die Salivation gesteigert, was in diesem Fall durch Atropin unterdrückt werden kann. Beim Hund und besonders bei der Katze stimuliert Xylazin das Brechzentrum mit ausgeprägterer Wirkung als einige klassische Emetika. Es bestehen lokalanästhetische Effekte (LÖSCHER et al. 2006). Xylazin unterliegt einem komplizierten Abbauvorgang in der Leber. Die dabei entstehenden Metaboliten werden letztendlich über die Nieren mit dem Urin ausgeschieden (PADDLEFORD, ERHARDT 1992, ERHARDT et al. 2004). Die analgetischen und muskelrelaxierenden Effekte lassen Xylazin bei Untersuchungen, Behandlungen und chirurgischen Eingriffen zum Einsatz kommen.

Für schmerzhaft Eingriffe sollte es in Kombination mit Lokalanästhetika, Narkotika, Neuroleptika oder Ketamin eingesetzt werden. Es verstärkt die zentral dämpfende Wirkung anderer Sedativa bzw. Narkotika und Analgetika, was bei Kombinationen beachtet werden sollte, bzw. was eine erhebliche Dosisreduzierung ermöglicht (PADDLEFORD, ERHARDT 1992, LÖSCHER et al. 1994). Dies gilt auch für Inhalationsnarkosen (ERHARDT et al. 2004).

Als Nebenwirkungen bei der Anwendung von Xylazin können Atemdepression, Tympanien, Reduzierung der Pansen-tätigkeit, Durchfall, Erbrechen, Mydriasis und Ptosis auftreten. Zu dem kann durch den Ausfall der Thermoregulation ein erheblicher und andauernder Abfall der Körpertemperatur auftreten. Zungengrund- und Schlundkopflähmungen im Zusammenspiel mit der erhöhten Salivation bergen besonders bei Schaf und Rind die Gefahr der Aspirationspneumonie (LÖSCHER et al. 2006, MÄRKLE et al. 1991). „Initial kann es zu einem kurzen Blutdruckanstieg kommen, der von einer lang andauernden Phase der Hypotension und der Bradykardie gefolgt wird. Xylazin scheint das Myocard empfindlicher für Katecholamine zu machen, was das Auftreten von Arrhythmien begünstigt“ (PADDLEFORD, ERHARDT 1992). Zudem kann durch Xylazin eine Bradykardie mit AV-Block 2.Grades hervorgerufen werden. PADDLEFORD und ERHARDT (1992) vermuten als Ursache eine vagale Stimulation Gelegentlich kommt es zu Erregungserscheinungen, dies ist jedoch seltener der Fall als nach der Gabe von Opioiden. Sie treten besonders auf, wenn die Einschlafphase durch Lärm, Manipulationen oder starke Schmerzen gestört wird. Hyperglykämie und Absinken des Plasmainsulinspiegels mit anschließender Polyurie sind möglich. Durch Stimulation des Uterus über die  $\alpha_2$ -Rezeptoren kann bei Rindern im letzten Drittel der Trächtigkeit ein Abort ausgelöst werden. Die therapeutische Breite von Xylazin wird als sehr gering eingestuft. Toxische Reaktionen treten beim Hund schon ab einer Dosis von 5mg pro Kilogramm Körpergewicht und bei der Katze ab 10mg/kg auf. Für Rinder beträgt die LD<sub>50</sub> das Dreifache der höchsten klinischen Dosis (LÖSCHER et al. 1994, 2003, 2006). Beim Umgang mit Xylazin sollten stets Handschuhe getragen werden da es über Hautrisse und Schleimhäute absorbiert werden kann (PADDLEFORD, ERHARDT 1992).

Es gibt kein klinisch gebräuchliches spezifisches Antidot für Xylazin, ein Teil seiner Wirkung lässt sich allerdings durch zentral wirksame  $\alpha$  -Adrenolytika wie Atipamezol (Antisedan), Yohimbin zusammen mit 4-Aminopyridin oder Tolazolin aufheben. Die letzten drei Stoffe sind allerdings in Deutschland nicht mehr im Handel und Atipamezol besitzt nur eine Zulassung zur Anwendung beim Hund. Dieser Wirkstoff wurde als Antidot für den spezifischen  $\alpha_2$ -Rezeptoragonisten Medetomidin (z.B. Domitor®) entwickelt (LÖSCHER et al. 2003, 2006, PADDLEFORD, ERHARDT 1992). Ferner hebt das Analeptikum Doxapram die herz- und atemdepressive Wirkung von Xylazin kurzfristig auf (LÖSCHER et al. 1994).

#### 2.2.4.11. Ketamin-Xylazin-Kombinationen / Hellabrunner Mischung

Die Kombination von Ketamin und dem  $\alpha$ 2-Adrenorezeptoragonist Xylazin ist im deutschsprachigen Europa als sogenannte „Hellabrunner Mischung“ bekannt (JALANKA 1991). Sie wurde im Jahr 1974 am Münchener Tierpark Hellabrunn eingeführt und in Zoos und freier Wildbahn in über 3500 Fällen bei Säugern, Vögeln, Reptilien und Fischen mit sehr gutem Erfolg eingesetzt (MÄRKLE et al. 1991, WIESNER 2004).

Die Herstellung der Hellabrunner Mischung erfolgt, indem man den Inhalt eines Fläschchens Rompun®-Trockensubstanz mit 500mg Xylazin in 4ml einer 10%igen Ketaminlösung (entspricht 400mg Ketamin) ohne Wasserzugabe auflöst. Dies entspricht einer Konzentration von ca. 125mg Xylazin und 100mg Ketamin pro ml der Lösung (WIESNER & VON HEGEL 1985, WIESNER 1988, 1998, GÖLTENBOTH 1995).

Wie schon unter Punkt 2.2.4.10. und 2.2.4.9 beschrieben, bringt die Kombination von Ketamin und Xylazin viele Vorteile mit sich. Der größte Vorteil besteht darin, dass sich die jeweiligen unerwünschten Nebenwirkungen gegenseitig aufheben oder minimieren. (ERHARDT et al. 2004, LÖSCHER et al. 2006, GREEN et al. 1981). So zeigen Tiere während einer alleinigen Ketaminnarkose eine hohe, unter Xylazin eine niedrige, aber in Kombination eine moderate Herzfrequenz. Ketamin wirkt antiarrhythmisch, Xylazin hingegen arrhythmisch. In Kombination heben sich diese Wirkungen auf und bewirken einen regelmäßigen Rhythmus. Auch an der Skelettmuskulatur kommt es zu unterschiedlichen Wirkungen. Unter Xylazin kommt es zu einer Muskelrelaxation, unter Ketamin dagegen zu einer starken Muskelanspannung. Bei kombinierter Gabe erreicht man einen Zustand der Muskelentspannung. Ebenso auf die Atmung wirkt sich diese Mischung positiv aus.

Bewirkt Ketamin eine Reduzierung der Atemtätigkeit und Xylazin eine flache Atmung, so zeigen Tiere in Kombinationsnarkose eine kräftige Atmung (ERHARDT et al. 2004). Die Vorteile dieser Kombination spiegeln sich in der niedrigen Mortalitätsrate wieder. Bei 3420 Tieren aus über 200 Arten traten 12 Todesfälle auf, dies entspricht einer Mortalität von 0,35% (WIESNER 1998, 2004). Hierzu trägt auch die große therapeutische Breite des Medikamentes bei, da Gewichte besonders bei Wildtieren meist nur geschätzt werden können (WIESNER & VON HEGEL 1985). Weitere Eigenschaften der Hellabrunner Mischung sind eine rasche Resorption, ein schneller Wirkungseintritt, eine ausreichend lange Wirkungsdauer und die Möglichkeit, die Anästhesie durch Nachdosierung bis zum gewünschten Narkosestadium zu vertiefen oder zu verlängern (WIESNER 1998). Die fertige Lösung ist thermostabil und bleibt im Kühlschrank über 1 Jahr lang stabil (im Labor 2 Jahre lang, Lagerung bei -40°C sowie +40°C). Vor allem aber wird sie unter Einfluss von Luftsauerstoff (Durchstechflasche) im Gegensatz zu anderen Narkosemitteln mit der Zeit nicht toxisch (WIESNER & VON HEGEL 1985, WIESNER 1988, 1998, 2004). Der Xylazinanteil lässt sich mit Yohimbin, Tolazolin bzw.

Atipamezol so antagonisieren, dass die Tiere innerhalb von 3 bis 5 Minuten aus einem Stadium chirurgischer Toleranz problemlos aufgeweckt werden können (LÖSCHER et al. 2006, WIESNER 1998, 2004). Der im Vergleich zu anderen Mischungsverhältnissen höhere Xylazinanteil der Hellabrunner Mischung macht dadurch einen größeren Teil der Narkose antagonisierbar (WIESNER 1988).

#### 2.2.5. Präanästhetische Vorbereitung

Um das Risiko bei der Narkose so gering wie möglich zu halten, sollten laut HENKE & KÖLLE 2004 vor Beginn folgende Punkte untersucht werden:

- Ernährungszustand
- Haut (Farbe, Verletzungen, Ulzerationen)
- Atmung
- Herzschlag (mittels Stethoskop oder visuell)
- Reflexe und Körperhaltung
- Vorhandensein klinischer Symptome
- Kotuntersuchung auf Parasiten
- Blutuntersuchungen können im Einzelfall Hinweise auf Erkrankungen geben, eine Vielzahl der häufiger gehaltenen Amphibienarten sind jedoch zu klein für eine Blutentnahme.

Infolge anatomischer und physiologischer Besonderheiten, geringer Körpergröße, und latenter und nicht diagnostizierter Krankheiten, können bei der Narkose trotzdem unerwartete Probleme auftreten (HENKE & KÖLLE 2004).

MUTSCHMANN (1998) empfiehlt, die Tiere einige Stunden vor der Narkoseeinleitung nüchtern zu halten, da bei gefülltem Magen häufig Erbrechen auftritt.

#### 2.2.6. Versorgung während der Narkose und während des Nachschlafes

Wie unter Punkt 2.1.2.2. erwähnt, ist die Haut eines der lebenswichtigen Organe der Amphibien. Um ein Austrocknen der empfindlichen Amphibienhaut zu verhindern, sollte das Tier während des Eingriffs auf feuchten Tüchern gelagert oder regelmäßig mit Wasser besprüht werden (HENKE & KÖLLE 2004,

MUTSCHMANN 1998). Wird die Haut zu trocken, kommt es einerseits zur Schädigung der Haut bzw. der die Haut bedeckenden und schützenden Schleimschicht, andererseits wird die lebenswichtige Hautatmung beeinträchtigt (HENKE & KÖLLE 2004). Um eine ungestörte Atmung während und nach der Narkose zu garantieren, müssen die Tiere je nach Atmungstyp und Lebensraum unterschiedlich gelagert werden. Kiemenatmende Amphibien müssen während des Eingriffes in regelmäßigen Abständen in klares Wasser gesetzt werden und nach Abschluss der Manipulationen darin verbleiben, somit wird eine ausreichende Sauerstoffversorgung garantiert. Lungenatmende Tiere hingegen sollten durchgehend mit Tüchern feucht und die Mund- und Nasenöffnungen frei gehalten werden. Lungenatmende, aber im Wasser lebende Tiere sollten zum Aufwachen schräg ins Wasser gelegt werden, sodass die Nasen- und Mundöffnung über die Wasseroberfläche ragen, der restliche Körper aber vollständig mit Wasser bedeckt ist (MUTSCHMANN 1998). Die narkotisierten Tiere könnten sonst ertrinken (MARCUS 1983, HENKE & KÖLLE 2004).

Es ist angebracht, die zu anästhesierenden Tiere schon einige Zeit vor der Narkose bei der für die jeweilige Spezies optimalen Temperatur zu halten. Amphibien aus gemäßigten und subtropischen Zonen sollten vor, während und nach der Narkose bei Zimmertemperatur (ca. 18-21°C), Tiere aus tropischen Gebieten bei ca. 20-26°C gehalten werden. Zu hohe Umgebungstemperaturen sind zu vermeiden, da Wärme den Sauerstoffverbrauch erhöht. Durch Anästhetika kommt es in der Regel durch Hemmung der intrazellulären Oxidationsvorgänge zu einer verminderten Sauerstoffaufnahme. So können Amphibien bei erhöhter Wärmezufuhr während der Narkose aufgrund des damit verbundenen erhöhten Sauerstoffbedarf und gleichzeitiger reduzierter Sauerstoffaufnahme einen Erstickungstod erleiden (HENKE & KÖLLE 2004). Nach BONATH (1977) kommt es bereits bei Temperaturen ab 27°C im Narkosebad zu dieser Erscheinung. Die Atemfrequenz narkotisierter Amphibien verhält sich proportional zur Umgebungstemperatur.

### 2.2.7. Narkoseüberwachung

#### 2.2.7.1. Überwachung der Narkosetiefe

Eine Überwachung der Anästhesietiefe ist wichtig, um die Belastung für den narkotisierten Organismus möglichst gering zu halten, um einschätzen zu können, wann das erforderliche Stadium erreicht ist und um bei eventuellen Zwischenfällen sofort reagieren zu können (ERHARDT et al., 2004).

Bei Amphibiennarkosen sind die Überwachungsmöglichkeiten nur teilweise mit denen höherer Wirbeltiere vergleichbar. Die einzelnen Narkosestadien entsprechen zwar grundsätzlich denen bei Säugetieren, bezüglich

klinischem Bild und Reflexantworten bestehen jedoch Unterschiede. Während bei Säugetieren, Vögeln und selbst bei Reptilien noch eine ganze Reihe von Reflexen für die Narkoseüberwachung zur Verfügung stehen, sind diese bei Amphibien aufgrund der oft schwer durchzuführenden Reflexprüfung weitgehend auf einige wenige beschränkt (BONATH 1977). Zu den wenigen zur Beurteilung der Narkosetiefe, heranziehbaren Reflexen zählen laut HENKE & KÖLLE (2004), BONATH (1977), RAPHAEL (1993), FOWLER (1993), CRAWSHAW (1993), MUTSCHMANN (2004), (1998):

Lidschlussreflex bzw. Cornealreflex: Laut BONATH (1977) ist dieser Reflex nur in beschränktem Maße zur Überwachung der Narkosetiefe geeignet. Dieser Reflex wird überprüft, indem man die Cornea z.B. mit einem stumpfen Glasstab berührt. Je nach Narkosetiefe schließt das Amphibium mehr oder weniger träge die Augenlider oder aber gar nicht mehr. Sind die Lider geschlossen, werden sie erst durch einen Fingerdruck von unten auf den Mundboden und damit Vorwölben der Augäpfel geöffnet und anschließend der Cornealreflex überprüft.

Umkehrreflex: Zur Überprüfung wird der Patient auf den Rücken gelegt und sollte bei erloschenem Reflex regungslos in dieser Position verbleiben und nicht versuchen, eine physiologische Körperhaltung (Bauchlage) einzunehmen.

Schmerzreflex (Säurereflex): Dient der Beurteilung der Tiefensensibilität. Bei erloschenem Schmerzempfinden hat das Kneifen oder der Stich mit einer Kanüle in die Zwischenzehenhaut, den Schwanz, die Gliedmaßen oder in die seitliche Brustwand keine Bewegungsreaktion (z.B. Anziehen der Gliedmaße, Fluchtversuche) zur Folge. Verschiedene Autoren verwenden zur Bestimmung des Schmerzreflexes einen mit Essigsäure getränkten Tupfer oder halten eine Gliedmaße direkt in ein Gefäß mit Salzsäure (BIETER et al. 1932, FRÜH H 1922, PEZALLA 1983, STEVENS und PEZALLA 1983). Von dieser Methode ist aus Tierschutzgründen abzuraten, da die Tiere nach ca. einer Woche an der mit Essigsäure betupften Stelle Hautnekrosen mit teilweise tödlichen Folgen entwickeln können (HENKE & KÖLLE 2004).

Einige zusätzliche Kriterien sollten in Verbindung mit den Reflexen zur Überwachung und Beurteilung der Anästhesietiefe herangezogen werden.

Dabei handelt es sich um die Beurteilung der Reaktion des Gleichgewichtsorganes sowie der Mundbodenatmung bzw. Kehloszillation (HENKE & KÖLLE 2004, BONATH 1977). Das Gleichgewichtsorgan lässt sich am

einfachsten durch Beobachtung der Bewegungsaktivitäten beurteilen. Mit fortschreitender Narkosetiefe werden die Bewegungen langsamer, unkoordinierter und sind zunehmend durch das Aussetzen der Beweglichkeit der Gliedmaßen oder des Schwanzes gekennzeichnet (MUTSCHMANN 1998, 2004, BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004). Meist lassen sich jedoch während der Einleitung zuerst mehr oder weniger aufgeregte und heftige Schwimm-, Lauf-, Spring-, Kriech- oder Schlängelbewegungen beobachten, bevor die Bewegungen zunehmend an Intensität und Koordination verlieren und schließlich völlig stagnieren (MUTSCHMANN 1998, BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004). Mit zunehmender Wirkung eines Narkotikums verschwindet bei Amphibien zunächst die abdominale Atmung, sodass nur noch Keh- und Hautatmung vorherrschen (CRAWSHAW 1993, FOWLER 1993). Unter Mundbodenatmung oder Kehloszillation versteht man die rhythmischen Schwingungen des Mundbodens bei lungenatmenden Amphibien. Mit weiter zunehmender Wirkung des Narkotikums werden sie flacher, unregelmäßiger und Atempausen, welche man auch bei wachen Tieren beobachten kann, werden häufiger und länger. Schließlich stagniert die sichtbare Mundbodenatmung völlig und nur noch die Hautatmung bleibt bestehen (HENKE & KÖLLE 2004, BONATH 1977).

#### 2.2.7.2. Überwachung wichtiger Vitalfunktionen

Probleme während der Narkose können aufgrund anatomischer und physiologischer Besonderheiten, der meist geringen Körpergröße und latenter, nicht diagnostizierter Krankheiten auftreten (HENKE & KÖLLE 2004). Um das Risiko ungewollter Narkosezwischenfälle so gering wie möglich zu halten, sollten wichtige Vitalfunktionen sorgfältig beobachtet und überprüft werden. Besonders die Atmung der narkotisierten Tiere muss gesichert und beobachtet werden (MUTSCHMANN 1998). Wie unter Punkt 2.2.7.1. erwähnt, verschwindet mit zunehmender Narkosetiefe zuerst die abdominale Atmung, dann die Mundbodenatmung, bis letztlich nur noch eine Sauerstoffversorgung über die Haut erfolgt. HENKE & KÖLLE (2004) bezeichnen dieses Verschwinden der Abdominal- und Kehlatmung während einer Amphibiennarkose als normal und nicht als Atemdepression im Sinne eines kritischen Narkosezwischenfalls. Die Hautatmung scheint eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu gewährleisten (FOWLER 1993, HENKE & KÖLLE 2004) Ebenso wichtig bei der Überwachung der Narkose ist die Beurteilung der Herzfunktion (RAPHAEL 1993, CRAWSHAW 1993). Die Herzaktivität kann visuell - am auf dem Rücken liegenden Tier - anhand der, durch die ventrale Thorakoabdominalwand, im Sternbereich sichtbaren Herzaktion beurteilt werden (BONATH 1977). Auch eine Überprüfung des Herzschlages mittels eines Ultraschall-Dopplergerätes oder EKGs ist möglich (CRAWSHAW 2003). Dabei wird die Sonde ventral im Bereich der vorderen Körperhälfte platziert. Eine weitere Möglichkeit zur Beurteilung der Herzaktivität ist der

Einsatz eines Pulsoxymeters. Hiermit kann neben der Herzfrequenz gleichzeitig die Sauerstoffsättigung des Blutes überprüft werden. Hierzu sollte die Sonde an den Zwischenzehenhäuten fixiert werden. Noch besser bewährt hat sich der Einsatz einer Ösophagealsonde. Diese Verfahren sind in der Praxis, besonders bei kleinen Tieren, sehr schwierig bis unmöglich (HENKE & KÖLLE 2004). BONATH (1977) beobachtete bei Tauchbadnarkosen mit MS 222 bei zunehmender Narkosetiefe eine Herzfrequenzsteigerung.

Bei Eintritt unvorhergesehener Narkosezwischenfälle führt das Abspülen der narkotisierten Tiere mit klarem Frischwasser schon nach kurzer Zeit zum Erwachen. Denselben Effekt erzielt man durch manuelles Hin- und Herschwenken des Tieres im Wasser. Dadurch wird das Narkotikum schneller über die Haut an das Frischwasser abgegeben und damit die Aufwachphase verkürzt. Dies entspricht einer künstlichen Beatmung lungenatmender Wirbeltiere und stellt die einfachste Form der Narkosesteuerung dar (BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004).

#### 2.2.8. Narkosestadien

Anhand der unter 2.2.7.1 genannten Möglichkeiten lässt sich jede Amphibienanästhesie in unterschiedliche Narkosestadien unterteilen. Dies ist wichtig, um die Narkosetiefe sowie das Erreichen des OP-Toleranzstadiums zu beurteilen (MUTSCHMANN 1998). Laut MUTSCHMANN (1998, 2004) sollte bei einer Amphibiennarkose folgendermaßen vorgegangen werden: Zu Beginn erfolgt die Beobachtung und Beurteilung der Bewegung. Bei Wirkungseintritt kommt es zuerst zu einer leicht gesteigerten Bewegungsaktivität, die später aber langsamer und unkoordinierter wird, gefolgt von einem Aussetzen der Beweglichkeit von Gliedmaßen und Schwanz. Zeigt der Patient bei leichter Berührung keine Abwehrbewegungen oder Schreckreaktionen, so wird der Umkehrreflex überprüft. Gut sedierte Tiere verbleiben in dieser Stellung. Die Tiefensensibilität wird anhand des Schmerzreflexes beurteilt. Erfolgt keine Reaktion mehr, ist das chirurgische Toleranzstadium erreicht und erlaubt größere chirurgische Eingriffe.

BONATH (1977) hat hierzu einem Schema der Narkosestadien für Amphibien erstellt (s. Schema 2).

Schema 2: Narkosestadien der Amphibien (BONATH 1977)

	Bezeichnung	Zeitpunkt	Beurteilungskriterien	
Stadium I	Oberflächliche Sedierung	Frühe Einleitungs- bzw. späte Aufwachphase	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Heftiger bis gedämpfter Schmerzreflex</li> <li>- Verzögerter bis stark verzögerter Umkehrreflex</li> <li>- Unsichere, zum Teil ataktische Bewegungen</li> <li>- Ungleichmäßige und unregelmäßige Mundbodenatmung</li> <li>- Ab und zu Atempausen</li> </ul>	
Stadium II	Tiefe Sedierung	Späte Einleitungs- bzw. frühe Aufwachphase	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Auf schmerzhaft Reize hin stark gedämpfte Bewegungsreaktionen oder kurze Atemaktion</li> <li>- Cornealreflex selten gedämpft</li> <li>- Umkehrreflex meistens erloschen oder stark verzögert</li> <li>- Mundbodenatmung weiterhin unregelmäßig</li> <li>- Atempausen häufiger und länger oder völlige Stagnation der sichtbaren Atmung</li> </ul>	
Stadium III	Chirurgisches Toleranzstadium	Chirurgischer Eingriff	III/1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Umkehrreflex erloschen</li> <li>- Cornealreflex gedämpft</li> <li>- Völlige Stagnation der Mundbodenatmung</li> <li>- Auf schmerzhaft Reize kurze Atemaktion oder keine Reaktion mehr auslösbar</li> <li>- Spontanbewegung erloschen</li> </ul>
			III/2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Schmerzreflex erloschen</li> <li>- Cornealreflex gedämpft oder erloschen</li> </ul>
			III/3	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Völlig reflexfreies Anästhesiestadium</li> </ul>
Stadium IV	Irreversibles Narkosestadium		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Herz- und Atemstillstand</li> </ul>	

### 2.2.9. Narkose beeinflussende Faktoren

Der Narkoseverlauf bei Amphibien ist von verschiedenen physiologischen Faktoren und Umwelteinflüssen abhängig. So beeinflussen Amphibienhaut, Gesundheits-, Ernährungs- und Entwicklungszustand sowie Geschlecht und Körpergewicht die Narkosereaktionen dieser Tiere. Als Umweltfaktoren spielen die Haltungsbedingungen eine entscheidende Rolle. Hierzu gehören vor allem die Umgebungstemperatur und Wasserzusammensetzung, aber auch jahreszeitliche Einflüsse (BONATH 1977). Die meisten Faktoren spielen hauptsächlich bei perkutan, das bedeutet mittels Tauchbad, verabreichten Narkotika eine entscheidende Rolle. Aufgrund anatomischer und physiologischer Unterschiede der Amphibienhaut bedarf es unterschiedlich hoher

Narkosebadkonzentrationen. So haben Bufonidae (Krötenartige) gewöhnlich eine dicke, rauhe, trockene und wenig vaskularisierte Haut. Dadurch werden die Anästhetika perkutan nur sehr langsam aufgenommen, sodass lange Verzögerungen der Einleitungsphase durch höhere Narkosemittelkonzentrationen ausgeglichen werden müssen. Ranidae (Froschartige) dagegen haben eine dünne, durch schleimige Sekretion ständig feuchte, glatte und stark vaskularisierte Haut, durch die die Narkoselösung rasch in den Körper eindringen kann. Sie benötigen dementsprechend ein niedrigere Dosis (BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004). Laut HENKE & KÖLLE (2004) benötigen z.B. Kröten bei einer Tauchbadnarkose mit dem Narkosemittel MS 222 die doppelte Menge wie Frösche.

Auch der natürliche Häutungsprozess der Amphibien wird als Grund für eine unterschiedliche transkutane Aufnahme und Ausscheidung von Narkotika diskutiert (HENKE & KÖLLE 2004). Durch die Häutung ergeben sich bei verschiedenen Individuen einer Spezies unterschiedliche Reifungsstadien im Hautzyklus, die die transkutane Aufnahme oder Abgabe eines Narkotikums unterschiedlich stark beeinträchtigen können (HEUSSER 1970). BONATH (1977) hält es für sehr wahrscheinlich, dass auch der Dehydrierungsgrad der Amphibienhaut je nach Umgebungsfeuchte und Dauer des Wasseraufenthaltes den Ablauf der Narkose beeinflusst.

In welchem Umfang die Jahreszeiten eine Rolle spielen, ist nicht bekannt. Dennoch kommt es auch während der Paarungszeit im Frühjahr zu Hautveränderungen, die zu Permeabilitätsänderungen führen. Laut CZOPEK (1959) nimmt die Anzahl der Kapillaren in der Haut des nördlichen Kammolches (*Triturus cristatus*) zur Paarungszeit deutlich zu, und die Haut wird dünner. SMITH (1951) beobachtete in diesem Zusammenhang eine Größenzunahme der Lymphräume in der Epidermis beim Grasfrosch (*Rana temporaria*). Laut KROGH (1904) kommt es in der Laichperiode im Frühjahr zu einer vermehrten perkutanen CO<sub>2</sub>-Abgabe als Folge der erhöhten Stoffwechselrate. Nachdem während des übrigen Jahres keine Hautveränderungen dieser Art beobachtet wurden, ist mit solchen Permeabilitätsunterschieden nur während der Laichperiode im Frühjahr zu rechnen (BONATH 1977).

Der Gesundheitszustand der Tiere sollte bei einer Narkose mitberücksichtigt werden. Bei den meisten in der Praxis vorgestellten Amphibien handelt es sich um kranke oder geschwächte Tiere. Es empfiehlt sich hier, niedrigere Narkosedosen zu verwenden, da die meisten Medikamente an gesunden Tieren erprobt wurden (HENKE & KÖLLE 2004). Alter, Körperentwicklung, Körpergewicht sowie Geschlecht können ebenso den Narkoseverlauf beeinflussen. Bei Amphibienlarven erfolgt die Aufnahme des Anästhetikums fast ausschließlich über die Kiemen, daher werden deutlich geringere Konzentrationen benötigt, während die adulten Tiere der meisten Spezies keine Kiemen mehr besitzen. Bei ihnen ist die Aufnahme über die Haut ausschlaggebend. Dies

gilt ebenso für Amphibienarten, die als adulte Tiere larvale Merkmale besitzen, wie z.B. die Axolotl (*Ambystoma mexicanum*) (HENKE & KÖLLE 2004). Bezüglich des Einflusses von Körpergröße bzw. Körpergewicht finden sich geteilte Meinungen. So weisen laut LETCHER & AMSEL (1989), HOBSON & TOWNSEND (1964), KAPLAN & KAPLAN (1961), AHRENFELD (1953), EICHBAUM & LEAO (1948) im gleichen Narkosebad größere Tiere längere Einleitungs-, Toleranz-, und Aufwachzeiten auf als kleinere Tiere der gleichen Art. HENKE & KÖLLE (2004) vermuten, dass dies auf die relativ größere Körperoberfläche der kleineren Tiere zurückzuführen ist und somit auf mehr Narkotikum pro Gramm Körpergewicht. KARZMAR & KOPPANYI (1948) machten genau entgegengesetzte Beobachtungen. Sie berichten, dass die Dauer der Einleitungsphase mit zunehmender Körperlänge abnimmt. BONATH (1977) hält die Unkenntnis über den Einfluss der Körperentwicklung auf die Narkosedauer in der Praxis für bedeutungslos, da Tauchbadnarkosen sowie Inhalationsnarkosen gut steuerbare Verfahren darstellen, die jederzeit abgesetzt werden können, wenn das gewünschte Narkosestadium erreicht ist oder sich Komplikationen andeuten. Auch über geschlechtsbedingte Narkoseunterschiede finden sich gegensätzliche Behauptungen.

HOBSON & TOWNSEND (1964) beobachteten während Tauchbadnarkosen bei weiblichen Krallenfröschen (*Xenopus laevis*) kürzere Aufwachphasen als bei männlichen Tieren. Eigene Untersuchungen von BONATH (1977) erbrachten wiederum keine geschlechtsbedingten Unterschiede.

Einer der wichtigsten Punkte ist der Einfluss der Umgebungstemperatur und somit der Wassertemperatur beim Narkosebad. Die Einleitungs-, Toleranz- und Aufwachphasen werden mit zunehmender Umgebungstemperatur kürzer, mit sinkender Temperatur dagegen länger. Eine unphysiologische Temperaturerhöhung mit dem Ziel, die Anflutungszeit der Anästhetika zu verkürzen, sollte jedoch vermieden werden, da die Wärme den Sauerstoffbedarf der Tiere erhöht. Durch Anästhetika wird in der Regel die Sauerstoffaufnahme durch Hemmung der intrazellulären Oxidationsvorgänge vermindert. Somit kann es bei einer Narkose unter erhöhter Wärmezufuhr infolge eines vermehrten Sauerstoffbedarfes und gleichzeitig reduzierter Sauerstoffaufnahme zu einem Sauerstoffmangel kommen, was zum Erstickten des Tieres führen kann (BONATH 1977, HENKE & KÖLLE 2004). Laut BONATH (1977) kommt es bereits bei Temperaturen ab 27°C im Narkosebad zu dieser Erscheinung. Deshalb sollten Amphibien aus subtropischen Zonen wie Axolotl und *Rana* spp. vor, während und nach der Narkose bei Zimmertemperatur um 20°C gehalten werden. Tropische Arten wie z.B. Krallenfrösche, Pfeilgiftfrösche, Agakröten und Gymnophionen hingegen benötigen eine Temperatur von ca. 25°C (HENKE & KÖLLE 2004). Zusätzlich nimmt laut HEILBRUNN (1952) die Hautpermeabilität mit steigender Temperatur zu. Damit erhöht sich die Diffusionsrate für das, die Haut penetrierende Narkotikum, wodurch das gewünschte Toleranzstadium schneller erreicht wird. Neben der ebenso raschen transkutanen Ausscheidung führt die erhöhte

Stoffwechselrate zu einem schnelleren Abbau des Anästhetikums, was somit nicht nur zu einer Verkürzung der Einleitungsphase, sondern auch der Toleranz- und Aufwachphase führt. Viele weitere Autoren haben den Einfluss unterschiedlicher Umgebungstemperaturen auf Amphibiennarkosen untersucht wie HAFFNER & WIND (1926), REDONNET (1919), MORAL (1918), UNGER (1918), WINTERSTEIN (1905), MEYER (1901), OVERTON (1901), PO CZOPKO & JUSIAK (1972), HOBSON & TOWNSEND (1964), KAPLAN & KAPLAN (1961) und HEILBRUNN (1952).

Über den Einfluss unterschiedlicher Wasserzusammensetzung liegen keine eingehenden Untersuchungen vor. Laut HENKE & KÖLLE (2004) und BONATH (1977) ist dieser jedoch vergleichbar mit Narkosen bei Fischen. Hier gibt es zahlreiche Beobachtungen, wonach durch Änderungen der Wasserzusammensetzung (Ca, NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, pH-Wert, Leitfähigkeit, Härte), die Reaktion auf ein und dieselbe Konzentration eines Narkotikums völlig unterschiedlich sein kann. Auch über speziesabhängige Unterschiede kann keine Aussage getroffen werden, da über 4000 verschiedene Arten weltweit in unterschiedlichen Habitaten und Klimazonen anzutreffen sind, die Narkotika aber nur an wenigen meist Labortieren getestet wurden (HENKE & KÖLLE 2004).

#### 2.2.10. Grundanforderungen an ein optimales Betäubungsmittel

Laut BOLZ (1961) und WIESNER (1998) sollte das optimale Anästhetikum folgenden Anforderungen entsprechen:

- Geringe Humantoxizität
- Gute Löslichkeit und Konzentrierbarkeit
- Kompatibilität mit anderen Anästhetika
- Leichte Applizierbarkeit
- Die Einleitung der Narkose sollte durch gute lokale Gewebsverträglichkeit nicht schmerzhaft sein
- Rasche Resorption und schneller Wirkungseintritt
- Große therapeutische Breite
- Anwendung bei möglichst vielen Tierarten
- Sedation, Muskelrelaxation, Analgesie
- Ausreichend lange Wirkungsdauer
- Kurze Nachschlafzeit
- Kein Auftreten von Exzitationen bei der An- und Abflutung

- Kein Auftreten von vital bedrohlichen Nebenwirkungen
- Möglichkeit der Nachdosierung zur Operationstoleranz
- Gute Steuerbarkeit
- Antagonisierbarkeit
- Kurze Aufwachphase
- Wirtschaftlichkeit
- Lange Haltbarkeit
- Für lebensmittelliefernde Tiere zugelassen
- Es sollte weitgehend ungefährlich sein und eine ausreichende Narkosetiefe hervorrufen

Allen diesen Anforderungen zu entsprechen, ist so gut wie unmöglich, aber ein gutes und sicheres Narkosemittel sollte einen Großteil dieser Punkte erfüllen.

### **2.3. Rechtsgrundlagen**

Das Arzneimittelangebot für Amphibien ist sehr begrenzt. Dies liegt sicherlich daran, dass Medikamentenzulassungen für eine bestimmte Tierart mit sehr hohen Kosten für die Hersteller verbunden sind und Amphibien im Vergleich zu anderen Tierarten immer noch einer Randgruppe angehören. Somit wird oft auf Medikamente für andere Tierarten zurückgegriffen. Hierbei sind jedoch einige wichtige Punkte des AMG zu beachten.

Es muss ein Therapienotstand gemäß §56a, Absatz 2 AMG vorliegen. Dies bedeutet, dass der Tierarzt „soweit die notwendige arzneiliche Versorgung der Tiere ansonsten ernstlich gefährdet wäre und eine unmittelbare oder mittelbare Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier nicht zu befürchten ist [...]“ ein anderes Medikament umwidmen darf. Hierbei ist die sogenannte „Kaskaden“ - Regelung für die Umwidmung zu berücksichtigen (§56a, Absatz 2, Nr. 1-4 AMG). Steht für die Behandlung kein für die betreffende Tierart und das betreffende Anwendungsgebiet zugelassenes Arzneimittel zur Verfügung, so muss zunächst auf ein Arzneimittel, das für die betreffende Tierart aber für ein anderes Anwendungsgebiet zugelassen ist, zurückgegriffen werden. (§56a, Absatz 2, Nr. 1 AMG). Ist dies nicht möglich, darf auf ein für eine andere Tierart zugelassenes Medikament zurückgegriffen werden. (§56a, Absatz 2, Nr. 2 AMG). Besteht diese Möglichkeit nicht, darf der Tierarzt ein beim Menschen zugelassenes Arzneimittel anwenden oder ein Präparat, „[...]das in einem Mitgliedstaat der EU oder einem anderen Vertragsstaat des Abkommens über den Europäischen

Wirtschaftsraum zur Anwendung bei Tieren zugelassen ist [...]“, importieren. (§56a, Absatz 2, Nr. 3 AMG). Allerdings muss der Tierarzt „unverzüglich nach seiner Bestellung, seinem Auftrag sowie jeder Verschreibung [...] dies der zuständigen Behörde [...] anzeigen. In der Anzeige ist anzugeben, für welche Tierart und welches Anwendungsgebiet die Anwendung des Arzneimittels vorgesehen ist, der Staat, aus dem das Arzneimittel [...] verbracht wird, die Bezeichnung und die bestellte Menge des Arzneimittels sowie seine Wirkstoffe nach Art und Menge“ (AMG § 73, Absatz 3, Satz 4). Sollte trotz der genannten Bestimmungen noch immer kein geeignetes Mittel zur Verfügung stehen, so darf der Tierarzt ein in einer Apotheke oder durch den Tierarzt nach § 13 Abs. 2 Satz 1 Nr. 3 Buchstabe d hergestelltes Arzneimittel verwenden.

### 3. Eigene Untersuchungen

#### 3.1. Problematik und Zielsetzung

##### 3.1.1. Problematik

Da, aufgrund steigender Beliebtheit von Aquarien- und Terrarientieren, auch die Haltung dieser Tiere stark zugenommen hat, sehen sich immer öfter praktische Tierärzte mit diesen Patienten konfrontiert. Mit steigender Anzahl der Amphibienpatienten steigt auch die Notwendigkeit, diese Tiere in Narkose zu versetzen und damit die Nachfrage nach, für diese Tierart zugelassenen, Sedativa und Narkotika.

Ein seit Jahren von Amphibienspezialisten unter dem Namen MS 222 verwendetes Narkosemittel ist Tricainmethansulfonat. Dieses Mittel wird innerhalb der Europäischen Union einzig und allein in Großbritannien hergestellt und besitzt keine EU-Zulassung. Es darf zwar eingeführt werden, der Import ist aber unverzüglich bei der zuständigen Veterinärbehörde anzuzeigen. Somit liegt es nahe, alternativ Medikamente, die bereits in Deutschland zugelassen sind, für Amphibiennarkosen einzusetzen. Diese Voraussetzung ist bei der Hellabrunner Mischung (im folgenden Text nur noch HM genannt), einer Kombination von Ketamin und Xylazin, gegeben. Ketamin und Xylazin sind bei vielen deutschen Tierärzten als gängige Narkosemittel ein fester Bestandteil der Apotheke, bzw. sehr einfach zu beschaffen. Weitere Vorteile sind zudem die einfache Herstellung, die lange Haltbarkeit von mindestens 12 Monaten (WIESNER 1988, WIESNER & VON HEGEL 1985) (s.a. 2.2.4.11) sowie die leichte Dosierbarkeit. Zum Abwiegen einer genauen Dosis des pulverförmigen MS 222 wird hingegen immer eine Waage mit einer Genauigkeit im Milligrammbereich benötigt. Zudem existieren im Gegensatz zu MS 222, das ausschließlich bei Fischen und Amphibien zur Anwendung kommt, für die HM jahrzehntelange Erfahrungswerte bei über 200 Arten von Säugern, Reptilien, Vögeln und Fischen (WIESNER 1998).

##### 3.1.2. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war es, die Einsetzbarkeit der HM als Tauchbadnarkose bei Amphibien zu überprüfen. Dies sollte in einer klinischen Anwendungsstudie für drei Amphibienarten empirisch untersucht werden. Die HM wird seit vielen Jahren erfolgreich als sicheres Narkosemittel bei Haus-, Zoo- und Wildtieren eingesetzt. Die Tauchbadnarkose ist seit langem ein gängiges Narkoseverfahren bei Amphibien, wobei hier meist die Substanz MS 222 zum Einsatz kommt. Mit der HM wollten wir eine praktikable Alternative finden.

Zu diesem Zweck wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Präanesthetische Allgemeinuntersuchung zur Feststellung des allgemeinen Gesundheitszustandes zu Beginn des Versuches.
- Ermittlung einer effektiven HM-Dosis bei Amphibien zur Erlangung eines ausreichend tiefen Narkosestadiums für Kurzzeinnarkosen.
- Beurteilung der Anflutungszeit, der Aufwachzeit und des Schmerzempfindens nach praktischen Gesichtspunkten.
- Versuch mit drei unterschiedlichen Amphibienarten, um möglichst viele in Aquarien und Terrarien gehaltene Arten abzudecken.
- Anpassung der Versuchsparameter an die verschiedenen Haltungsansprüche der jeweils verwendeten Versuchstierart.
- Vergleich der optimalen Dosis mit einer Standarddosierung von MS 222 zur Überprüfung, ob die HM eine geeignete Alternative zu MS 222 darstellt.

Als optimal effektiv wurde aus Gründen der Praktikabilität die niedrigste Dosis der HM definiert, bei der die Amphibien innerhalb von maximal 15 Minuten das OP-Toleranzstadium 3 (s.d. Kapitel 3.2.8.1.1 und Schema 4) erreichten und innerhalb von 60 bis 90 Minuten wieder vollständig wach waren.

## **3.2. Material und Methoden**

### 3.2.1. Versuchstiere

#### 3.2.1.1. Zwergkrallenfrösche

Eine Anzahl von 80 Zwergkrallenfröschen wurde durch die Tierpark Hellabrunn AG über einen zoologischen Großhändler bezogen. Um den Vorgaben des Tierversuchsantrages nachzukommen, war es besonders wichtig, dass es sich um Nachzuchten und nicht um Wildfänge handelte. Nach Beendigung der Versuchsreihe sollten diverse Schaukästen für die Besucher des Tierparks mit diesen Tieren besetzt werden. Die Tiere wurden vor

Versuchsbeginn mindestens 4 Wochen unter Quarantäne gehalten und beobachtet. Sie waren im Durchschnitt 2,3cm lang (1,8 bis 2,9cm) bei einem Gewicht von im Mittel 0,7g (0,3 bis 1,2g).

#### 3.2.1.2. Grünliche Wassermolche

Die 80 für diesen Versuch vorgesehenen Grünlichen Wassermolche stammten als Nachzuchten ebenfalls von einem Großhändler. Sie wurden einer Quarantänezeit von mindestens 4 Wochen unterzogen.

Nach Beendigung der Tests sollten Sie ebenfalls Ausstellungszwecken dienen. Die Frösche waren 7,0cm bis 12,5cm lang (Mittelwert 10,2cm) bei Gewichten von 1,6g bis 6,8g (Mittelwert 4,3g).

#### 3.2.1.3. Bananenfrösche

Die 80 Bananenfrösche bezog die Tierpark Hellabrunn AG ebenso wie alle übrigen Tiere über einen zoologischen Fachhandel. Die Tiere wurden ebenfalls vor Beginn der Versuchsreihe mindestens 4 Wochen beobachtet. Nach Beendigung sollten auch diese Amphibien den Besuchern des Tierparks präsentiert werden. Die Frösche waren im Durchschnitt 3,3cm lang (2,4 bis 3,9cm) bei einem Gewicht von im Mittel 2,7g (1,3 bis 3,8g).

### 3.2.2. Tierversuchsgenehmigung

Im Mai 2008 wurde der Tierversuch mit dem Geschäftszeichen 55.2-1-54-2531-35-08 von der zuständigen Kommission der Regierung von Oberbayern nach § 8 Abs.1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung vom 25.05.1998 genehmigt.

### 3.2.3. Haltungsbedingungen

#### 3.2.3.1. Zwergkrallenfrösche und Grünliche Wassermolche

Zwergkrallenfrösche und Grünliche Wassermolche wurden im nicht-für-Besucher-zugänglichen Teil des Aquariums im Tierpark Hellabrunn, München, untergebracht. Jeweils 20 Tiere wurden in 80cm x 35cm x 40cm (Grünliche Wassermolche) oder 60cm x 35cm x 30cm (Zwergkrallenfrösche) großen Glasaquarien gehalten. Die

Haltung erfolgte bei Wassertemperaturen von durchschnittlich 20,5°C (Zwergkrallenfrösche) bzw. 24,5°C (Grünliche Wassermolche) und einer Raumtemperatur von durchschnittlich 20,3°C. Die Becken besaßen jeweils einen Außenfilter sowie einen Aquariumsheizer. Die Beleuchtung erfolgte mittels Zeitschaltuhr im 12 Stunden-Hell-Dunkel-Rhythmus. Nach den Narkosen wurden die Tiere aus den Vorversuchen zu je 20 Tieren und die Tiere der Hauptversuche zu je 10 Tieren in identische Glasbecken gesetzt. Die Fütterung erfolgte mit tiefgefrorenen Mückenlarven. Nach Abschluss der Versuche und Ende der Nachbeobachtungszeit von über 3 Wochen wurden die Tiere im Tierpark für die Besucher ausgestellt.

#### 3.2.3.2. Bananenfrösche

Die Bananenfrösche wurden in der Insektenzucht im Tierpark Hellabrunn München untergebracht. Jeweils 10 Tiere wurden vor und nach den Versuchen in Plastikterrarien mit einer Größe von 53cm x 26cm x 29cm untergebracht. Die Raumtemperatur betrug im Schnitt 25,3°C bei einer Luftfeuchtigkeit von 60-65%. Die Beleuchtung erfolgte auch hier mittels Zeitschaltuhr im 12 Stunden-Hell-Dunkel-Wechsel. Als Futtermittel dienten Bananen, Heimchen und Grillen. Auch diese Tiere wurden nach Beendigung der Versuchsreihe und einer Nachbeobachtungszeit von 21 Tagen den Besuchern des Zoos präsentiert.

Alle drei Tierarten wurden täglich – auch am Tag der Narkose – gefüttert.

#### 3.2.4. Messgeräte

##### **Gesamt-/Karbonathärte**

Die Gesamt-/Karbonathärte wurde mit Hilfe eines handelsüblichen Tropftests der Reihe Tetratest der Firma Tetrawerke ermittelt.

##### **Nitrat-, Phosphatgehalt**

Hierfür wurden ebenfalls Tetratests verwendet.

##### **Nitrit-, Calciumgehalt**

Zur Bestimmung dieser Werte kamen Tropftests der Firma Sera zum Einsatz.

### **pH-Wert**

Der pH-Wert wurde elektronisch mit dem PH Controller PH 2001 C der Firma Aqua Medic gemessen.

### **Temperatur der Becken**

Die Wassertemperatur in den Becken (Narkose-, Aufwachbecken und Hälterung) wurde mit einem T-Controller T 2001 HC, einem digitalen Messgerät zur Temperaturbestimmung in Aquarien der Firma Aqua Medic gemessen. Die Temperatur wird hier im Messbereich von 0 – 50 °C auf 0,1 °C genau geregelt. Zusätzlich wurden mehrere handelsübliche Alkoholthermometer für Aquarien eingesetzt, um einen kontinuierlichen Überblick über etwaige Temperaturschwankungen zu bekommen.

### **Aquariumheizer**

Beim Beheizen der Narkose- und Aufwachbecken wurden Aquariumsheizstäbe der Firma Jäger verwendet (25-60 Liter/ 50W).

### **Länge**

Die Länge wurde mit einem handelsüblichen 30cm Lineal ermittelt. Bei den Fröschen wurde von der Maulspitze bis zum kaudalen Ende des Abdomens gemessen. Eine Messung vom Maul bis zum Ende der Hinterextremitäten hätte genauere Ergebnisse geliefert, wäre aber nur bei den narkotisierten Tieren möglich gewesen, da die wachen oder nur leicht sedierten Tiere ihre Gliedmaßen nicht ruhig gehalten haben. Somit wurde, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, die erstgenannte Messmethode vorgezogen. Bei den Grünlichen Wassermolchen wurde von der äußersten Spitze des Kopfes bis zum Schwanzende gemessen.

### **Gewicht**

Zur Gewichtsbestimmung der Amphibien kam die Waage Kern 440-47 (s. Foto 1) der gleichnamigen Firma zum Einsatz (Messgenauigkeit von  $\pm 0,1\text{g}$ ).

### **Abwiegen des MS 222**

Zum genauen Abwiegen des MS 222-Pulvers wurde ebenfalls die Waage Kern 440-47 (s. Foto 1) benutzt.



Foto 1: Waage

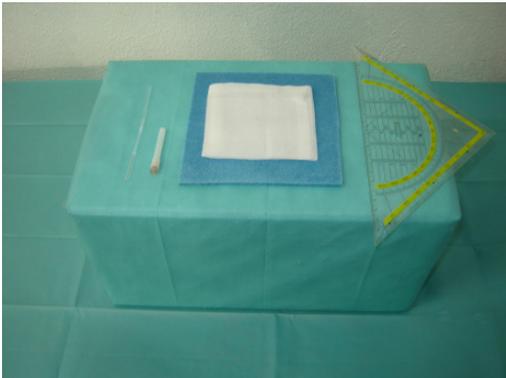


Foto 2: Station zum Untersuchen, Vermessen, Wiegen und zur Reflexprüfung

### 3.2.5. Pharmaka

#### 3.2.5.1. Ketaminhydrochlorid

Verwendet wurde das Präparat Ketamin 10%® der Wirtschaftsgenossenschaft deutscher Tierärzte eG. Ein ml der wässrigen Injektionslösung enthält 115,34mg Ketaminhydrochlorid, entsprechend 100mg Ketamin.

#### 3.2.5.2. Xylazinhydrochlorid

Beim eingesetzten Xylazin handelte es sich um Rompun® TS von der Bayer HealthCare. Eine Durchstichflasche enthält 583,0mg Xylazinhydrochlorid, entsprechend 500mg Xylazin.

### 3.2.5.3. Ketamin-Xylazin-Kombination / Hellabrunner Mischung = HM

Aus den beiden oben genannten Präparaten wurde die HM hergestellt, indem 500mg Xylazin-Trockensubstanz mit 4ml Ketamin 10% gelöst wurde (näheres s. Kapitel 2.2.4.11). So entstand eine farb- und geruchlose wässrige Lösung, die pro Milliliter ca. 125mg Xylazin und 100mg Ketamin enthielt.

### 3.2.5.4. Tricainmethansulfonat / MS 222

Das Tricain wird unter dem Handelsnamen MS 222® von der Firma Thomson & Joseph Limited, UK, hergestellt und war für diesen Versuch über eine internationale Apotheke aus Großbritannien importiert worden.

### 3.2.5.5. Natriumbicarbonat

Zur Pufferung der Narkosebadlösung wurde ein in der Tiermedizin übliches 8,4%iges Natriumbicarbonat der Firma Braun verwendet. Die Molarität betrug 1 mol/l.

## 3.2.6. Versuchsaufbau

### 3.2.6.1. Vorversuche

Zweck der Vorversuche war die Ermittlung der optimalen Dosis der HM. Hierfür waren maximal 50 Tiere und 5 Ersatztiere je Versuchstierart vorgesehen. Der Versuchsaufbau war bei allen drei Amphibienarten der gleiche. Der einzige Unterschied bestand in der Wassertemperatur der Versuchsbecken (s.a. Tabelle 3).

Tabelle 3: Wassertemperaturen der Versuchsbecken

Amphibienart	Wassertemperatur Versuchsbecken
Zwergkrallenfrösche	23°C ±1°C
Grünliche Wassermolche	20°C ±1°C
Bananenfrösche	26°C ±1°C

Auf dem Versuchstisch wurden nebeneinander das Narkose- und das Aufwachbecken aufgestellt. Als Narkose- und Aufwachbecken dienten zwei Plexiglasaquarien von 25cm x 25cm x 40cm. Beide waren mit selbstregulierenden Aquarienheizstäben der Firma Jäger mit 75 Watt Leistung ausgestattet (s.d. Foto 3 u. 4).

Jedes der Becken wurden mit 3 Litern Süßwasser befüllt. In beiden Becken waren handelsübliche Alkoholthermometer angebracht, und die Temperatur wurde zusätzlich digital kontrolliert; ebenso der pH-Wert des Narkosebeckens (s. Kapitel 3.2.4). Auf dem Tisch befand sich zudem ein ca. 33cm x 20cm x 18cm mit wasserabweisender Folie (einem grünen Einmal-Operations-Abdecktuch der Firma BUSTER) überzogener Styroporblock, auf dem sich zusätzlich eine ca. 10cm x 10cm angefeuchtete Gaze befand (s. Foto 2). Hierauf wurden die narkotisierten Tiere während ihres Aufenthaltes außerhalb der Becken gelegt. Zusätzlich befanden sich noch die Waage, das Lineal, die Einmalkanüle, der Plastikstab sowie die Stoppuhr mit auf dem Tisch.



Foto 3: Versuchsaufbau Vor-/Hauptversuche komplett



Foto 4: Versuchsaufbau Narkose- und Aufwachbecken

### 3.2.6.2. Hauptversuche

Der Versuchsaufbau für die Hauptversuche war exakt identisch mit dem der jeweiligen Vorversuche (s. Foto 3 u. 4). Der einzige Unterschied bestand darin, dass hier laut Versuchsantrag nur 20 Versuchstiere und 5 Ersatztiere pro Art zur Verfügung standen.

### 3.2.7. Versuchsablauf

#### 3.2.7.1. Vorversuche

##### 3.2.7.1.1. Arbeitsgang allgemein

Vor Versuchsbeginn wurde die Narkosebadlösung hergestellt. Hierzu wurde das Narkosebecken mit 3 Litern Wasser aufgefüllt. Hier erfolgte die erste pH-Messung. Daraufhin wurde eine entsprechende Dosis der, einige Tage zuvor hergestellten HM mit Einwegspritzen (Firma Braun) in die abgemessene Wassermenge gegeben. Das Medikament wurde durch Rühren mit der behandschuhten Hand gleichmäßig verteilt und der pH-Wert ein zweites Mal abgelesen. Wenn das Wasser mit Hilfe der Heizstäbe die der Versuchstierart entsprechende Temperatur erreicht hatte, wurde mit dem ersten Versuchstier begonnen. Die Versuchstiergruppen wurden am Morgen eines jeden Versuchstages mit einem extra hierfür entworfenen präanästhetischen Protokoll (s. Abbildung 1) adspektorisch untersucht und der allgemeine Gesundheitszustand beurteilt. Falls eine Kotprobe gewonnen werden konnte, wurde diese parasitologisch untersucht. Das Umsetzen der Tiere aus den Haltungsbecken bzw. Terrarien in das Narkosebecken erfolgte möglichst schonend und rein zufällig mit 2 feinmaschigen Keschern. Der zweite Kescher diente dazu, ein Herausspringen der Amphibien aus dem Fangkescher zu verhindern. Um die Amphibien einem möglichst geringen Stress auszusetzen, wurden die Tiere abwechselnd aus unterschiedlichen Bereichen der Becken entnommen. Mit dem Einsetzen des Tieres in das Narkosebad wurde eine Stoppuhr gestartet. Beim Erreichen des erwünschten Narkosestadiums wurde das Tier aus dem Becken gehoben und auf eine zuvor angefeuchtete und tarierte Gaze gelegt und gewogen. Um eine starke Auskühlung zu verhindern, wurde das Tier anschließend mit dem Tuch auf die Styroporunterlage gelegt. Hier wurden die Tiere vermessen, nach exakt 5 Minuten in das Aufwachbecken gelegt und die Stoppuhr neu gestartet um die Aufwachzeit zu ermitteln. Sobald das Tier gezielte Bewegungsabläufe zeigte, wurde es mit einem Kescher, der keinen Kontakt mit dem Narkosebad hatte, aus dem Aufwachbecken in ein neues Hälterungsbecken umgesetzt. In einem solchen, frischen Becken wurden alle Tiere gesammelt, die am gleichen Tag einer Narkose unterzogen worden waren.

Das Erreichen des gewünschten Narkosestadiums wurde anhand verschiedener Parameter beurteilt. Hierzu zählten der komplette Verlust der Schwimmfähigkeit und des Gleichgewichts, ein Ausbleiben des Umkehrreflexes sowie das Fehlen von Reaktionen auf Reize von außen. Dabei handelte es sich um optische, akustische, taktile oder Vibrationsreize. Als letzter Beurteilungspunkt wurde durch Stechen mit einer

Einmalkanüle in die Oberschenkelmuskulatur das Aussetzen des Schmerzreizes getestet. Zeigte das Tier keinerlei Abwehrreaktionen wurde es aus dem Narkosebecken gehoben.

Während der Narkose und der Aufwachphase wurden alle diese Parameter auf einem speziell dafür entworfenem Narkoseprotokoll notiert (s. Punkt 3.2.8.1.1. und Abbildung 3 u. 4). Viele der Daten ergaben sich aus der Beobachtung der Tiere, aber drei andere Punkte, wie die Reaktion auf optische Reize, Vibration und Berührung, mussten provoziert werden. Wenn das Bewegen der Handfläche von außen zum Narkosebecken hin keine Fluchtreaktion mehr verursachte (optischer Reiz), wurde mit dem Zeigefinger an die Beckenwand geklopft (akustischer Reiz und Vibration). Wenn auch dieser Reiz nicht mehr oder nicht sofort beantwortet wurde, erfolgte ein vorsichtiges Berühren des Tieres am Rücken und bei nur noch schwacher Reaktion auch im Kopfbereich mit einem Plastikstab. Zeitpunkt und Reaktion der Tiere wurden dann aufgezeichnet. Zur Überprüfung des Umkehrreflexes wurden die Tiere auf den Rücken gedreht. Blieb der Versuch, sich wieder in Ausgangslage (Brustlage) zurück zu drehen, aus, wurde dieser Reflex als negativ beurteilt. Zuletzt wurde der Schmerzreflex überprüft. Erfolgte auf das Stechen mit einer Einmalkanüle Größe 26G (0,45x13mm) der Firma NEOJECT in die Oberschenkelmuskulatur keine Reaktion, wurde das Tier aus dem Narkosebecken herausgenommen.

Um die empfindliche Haut der Amphibien nicht zu verletzen wurden die Tiere ausschließlich mit Einmalgummihandschuhen berührt oder mit Hilfe des Tuches umgesetzt.

Unabhängig von der Dosierung und ihrer Wirkung wurden die Narkoselösung sowie das Wasser im Aufwachbecken bei allen Amphibienarten nach spätestens fünf Tieren neu angesetzt.

Abbildung 1: Protokoll zur präanästhetischen Untersuchung

**Präanästhetische Untersuchung**

Datum: .....

Versuchsart: .....

Tierart: .....

Gruppe Nr.: .....

Anzahl Tiere: .....

Bewegung: träge  aktiv  hyperaktiv

Ernährungszustand: mager  normal  adipös

Fressverhalten: normal  reduziert  nicht gefressen

Augen: klar  trübe  feucht  trocken  sonstiges  .....

Haut: Farbe: .....

Verletzungen: ja  → wo: ..... nein

Ulzerationen: ja  → wo: ..... nein

Atembewegung (Oszillation der Kehle): .....

Kotuntersuchung: negativ

positiv  → welche: .....

.....

.....

.....

.....

---

(Leiter des Versuchsvorhabens)

---

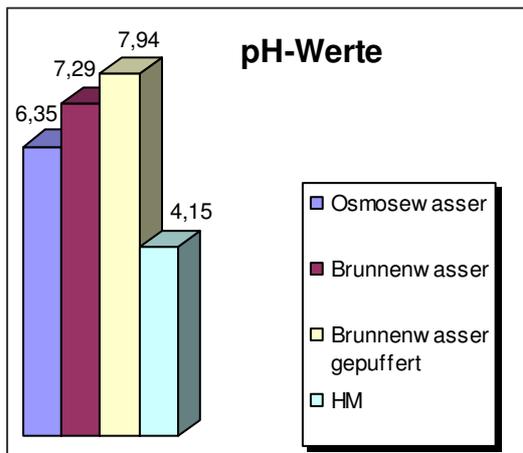
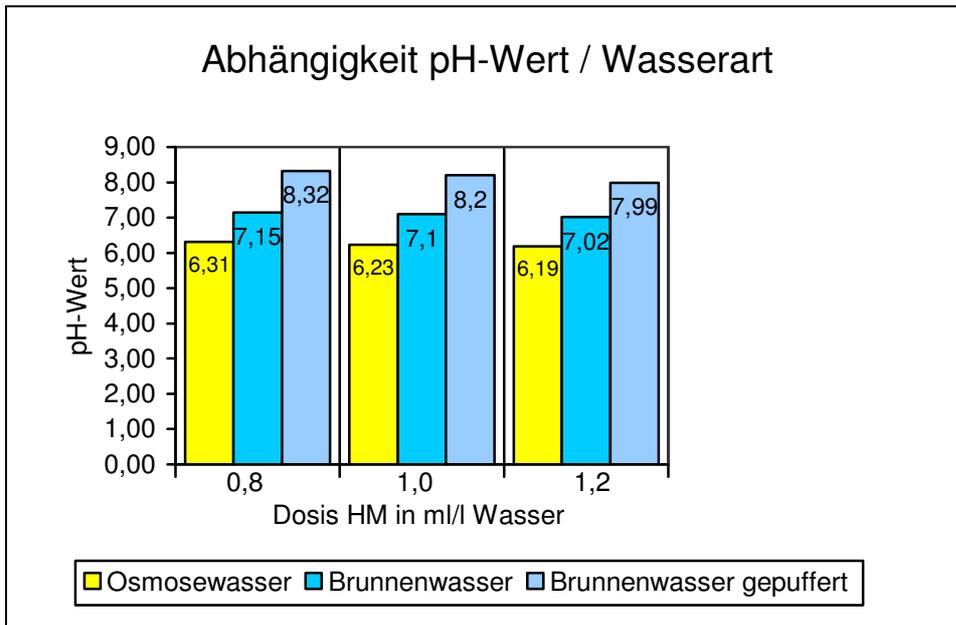
(Versuch durchführende Person)

### 3.2.7.1.2. Abhängigkeit Wasserart und pH-Wert

Die Wahl des richtigen Wassers für das Narkosebad stellte sich als ein nicht vorhersehbares Problem dar. Begonnen wurden die Vorversuche mit einem eigens im Aquarium des Tierparks hergestellten Osmosewasser. Obwohl in der Literatur Osmosewasser als optimales Medium für Tauchbadnarkosen bei Amphibien erwähnt wird (SCHAEFFER 1997), zeigten die Zwergkrallenfrösche bei der Verwendung dieses Wassers, auch bei sehr hohen HM Dosen (bis zu 2.4ml HM/l Wasser) und einer verlängerten Versuchsdauer von 60 statt 30min., außer geringen Gleichgewichtsstörungen keinerlei Wirkung. Ausschlaggebend hierfür scheint der niedrige pH-Wert des Narkosebades zu sein. Dadurch, dass die Ausgangs-pH-Werte des Osmosewassers mit im Schnitt 6,35 und der HM mit durchschnittlich 4,15 sehr niedrig waren, wies die fertige Narkosebadlösung ebenfalls einen sehr niedrigen Wert auf (s.d. Graphik 1). Aus diesem Grund wurde das Osmosewasser durch reines im Tierpark gewonnenes Brunnenwasser ersetzt, das im Durchschnitt einen Ausgangs-pH von 7,29 aufwies und normalem Leitungswasser entspricht. Hiermit zeigte sich schon bei deutlich niedrigeren Dosierungen nach 30min. eine stärkere Wirkung. Dennoch konnte auch hiermit nicht das gewünschte Narkosestadium erreicht werden. Die Tiere zeigten zwar keinerlei Bewegung und ließen sich problemlos auf den Rücken drehen, jedoch konnte der Schmerzreflex nicht ausgeschaltet werden. Bevor die Dosis weiter erhöht wurde, was ein größeres Risiko für die Tiere dargestellt hätte, wurde der pH-Wert durch Pufferung mit Natriumbicarbonat erhöht. Dieses Verfahren wird bei Tauchbadnarkosen mit MS-222 von HILKEN et al. (1997), HALLIDAY (1999), HENKE & KÖLLE (2004) sowie CRAWSHAW (1992, 2003) zur Schonung der empfindlichen Amphibienhaut und zur Reduzierung von Narkosemittel empfohlen. Zur Pufferung wurden, wie von HILKEN et al. (1997) empfohlen, 75ml einer einmolaren Natriumbicarbonatlösung mit 2,25 Litern Brunnenwasser vermischt. Dies ergab einen Ausgangs-pH-Wert von durchschnittlich 7,94. Erst dadurch zeigten sich befriedigende Ergebnisse. Für die Versuche bei den Wassermolchen und Bananenfröschen wurde eine Pufferung der Narkosebadlösung entsprechend durchgeführt.

Graphik 1 verdeutlicht die unterschiedlichen pH-Werte in Abhängigkeit von der gewählten Wasserart bei den HM-Dosierungen von 0,8ml/l, 1,0ml/l und 1,2ml/l.

Graphik 1: Abhängigkeit des pH-Wertes von der Wasserart



Graphik 2: pH-Werte der reinen Wasserarten und der HM

### 3.2.7.1.3. Ermittlung der Wirksamkeitsgrenze und optimalen Dosis

Eine Dosis wurde aus praktischen Gründen als unwirksam erachtet, wenn innerhalb von 30 Minuten das Schmerzempfinden nicht völlig ausgeschaltet wurde, auch wenn sonst alle anderen in Betracht gezogenen Parameter auf eine ausreichende Narkosetiefe hindeuteten (s.d. Punkt 3.2.7.1.1.).

Da es sich um einen klinischen Versuch handelte und keinerlei Anhaltspunkte für die Orientierung hinsichtlich der Dosierung vorlagen, wurde willkürlich bei jeder Amphibienart mit 0,2ml HM/l Wasser begonnen und diese

Dosis jeweils um 0,2ml HM gesteigert, bis eine Wirkung innerhalb des geforderten Zeitraumes zu erkennen war. Laut statistischem Gutachten waren in der Versuchsplanung nur maximal 50 Tiere + 5 Ersatztiere für die Vorversuche vorgesehen. Pro Dosisstufe sollten 10 Tiere in Narkose versetzt werden, um eine statistische Aussagekraft zu erreichen. Die Anzahl der Tiere pro Dosisstufe wurde jedoch deutlich unterschritten, wenn innerhalb von 30min. noch keinerlei oder nur sehr schwache Reaktionen erkennbar waren. Erst bei einer eindeutig wirksamen Dosis, die unter 30min. deutliche Wirkungen zeigte, wurden die Versuche mit 10 Tieren durchgeführt.

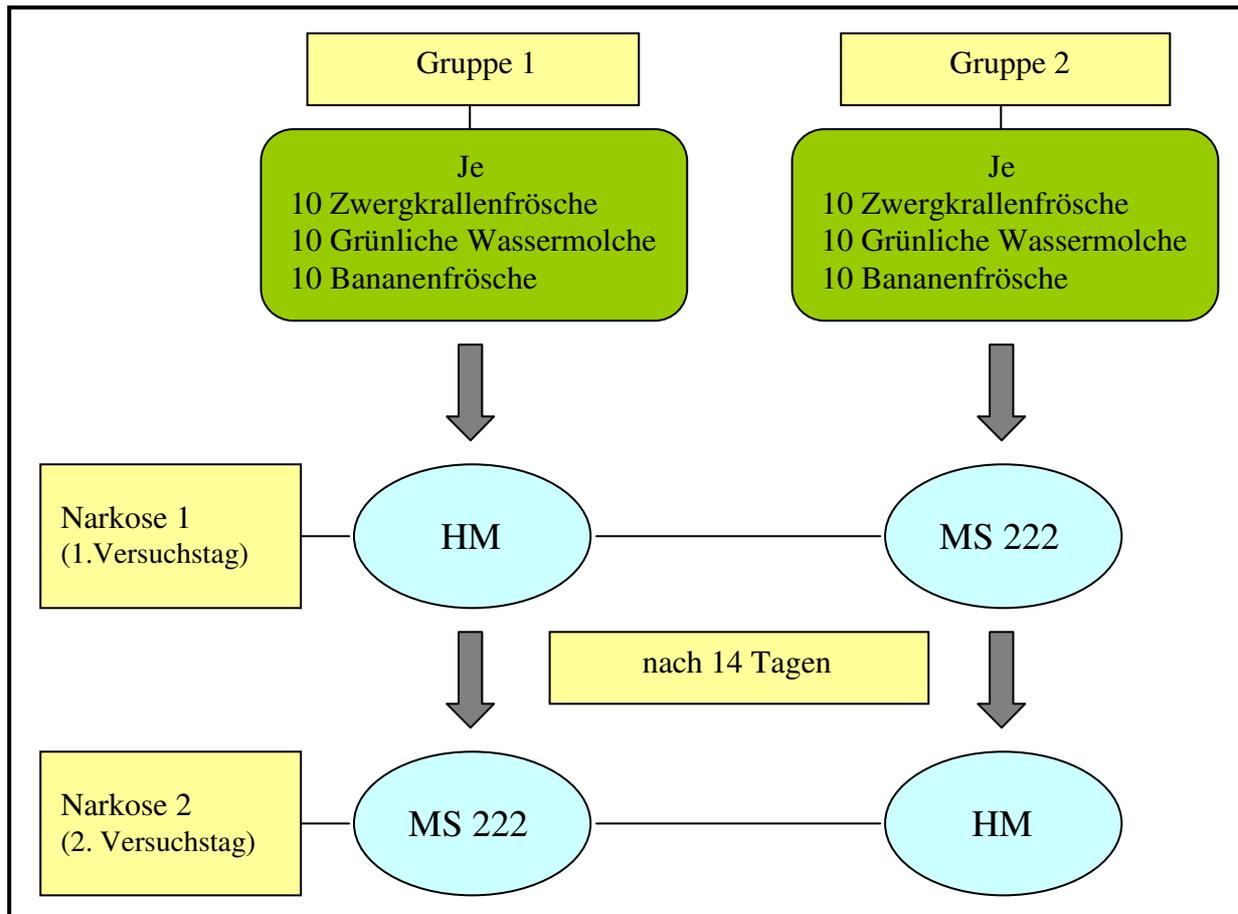
### 3.2.7.2. Hauptversuche

#### 3.2.7.2.1. Vergleich mit MS 222

Im Aufbau und technischen Ablauf entsprachen die Hauptversuche den Vorversuchen, nur dass hier die in den Vorversuchen für die jeweilige Amphibienart als optimal ermittelte Dosis der HM zum Einsatz kam und die hierbei gewonnenen Ergebnisse mit einer Tauchbadnarkose unter MS 222 verglichen wurden. Die verwendeten MS 222 Dosierungen wurden anhand von mittleren Werten aus verschiedenen Literaturquellen, praktischen Erfahrungen der Tierklinik der LMU München und des Tierparks festgelegt. Für die Zwergkrallenfrösche wurde aufgrund ihrer geringen Größe eine Dosis von 0,25g/l festgelegt. Für die Bananenfrösche wurde die Standarddosis von 1,5g/l und für die Grünlichen Wassermolche von 0,5g/l Wasser verwendet. In den Hauptversuchen wurde eine Gruppe von 10 Amphibien jeder Art zuerst einer Narkose mit HM und im Abstand von 14 Tagen einer Narkose mit MS 222 unterzogen. Bei jeweils einer zweiten Gruppe derselben Art und Anzahl wurde umgekehrt verfahren. Sie wurden zuerst mit MS 222 anästhesiert und zwei Wochen später mit HM (s.a. Schema 3). Dabei wurden alle Narkosen einer Amphibienart am gleichen Tag durchgeführt. Nach jeweils fünf Tieren wurde die Narkoselösung frisch angesetzt und das Wasser im Aufwachbecken erneuert. Die HM wurde hier wie in den Vorversuchen mit Hilfe von Einwegspritzen dosiert. Zum Abwiegen der für die jeweils 3 Liter Wasser benötigten Menge MS 222 wurde eine Waage mit der Bezeichnung Kern 440-47 der gleichnamigen Firma (Messgenauigkeit von  $\pm 0,1g$ ) verwendet (s.a. Foto 1).

Das abgewogene Narkosemittel wurde anschließend in die bereits abgemessene Wassermenge des Narkosebeckens gegeben. Anschließend wurde durch Rühren mit einem Plastikhandschuh eine komplette Durchmischung der Narkoselösung im Becken erreicht.

Schema 3: Narkoseplan Hauptversuche



### 3.2.8. Datenerfassung

#### 3.2.8.1. Narkosen

##### 3.2.8.1.1. Narkoseprotokoll

Um alle wichtigen Daten jedes einzelnen Versuches schriftlich zu erfassen, wurde ein zweiseitiges Narkoseprotokoll erstellt (s. Abbildung 2 u. 3). Dieses wurde für jedes einzelne Tier sorgfältig ausgefüllt. Vor Narkosebeginn wurden Narkosenummer, Versuchsart, Datum, Amphibienart, Gruppe, Außentemperatur, Wassertemperatur, Wasser-pH-Wert, Menge an NaBic, Wasser-pH-Wert mit NaBic, Wasser-pH-Wert mit NaBic und HM bzw. MS 222, Nitratmenge sowie die Dosierung eingetragen. Während der Einleitungsphase wurde dann auf der Protokollrückseite die vergangene Zeit seit dem Einbringen ins Narkosebecken, das Auftauchen zur Atmung, die Spontanbewegung, Reaktion auf Berührung, Vibration, optische/akustische Reize, das Einsetzen

von Gleichgewichtsverlust, das Ausbleiben des Umkehrreflexes, Schmerzreflexes sowie das Auftreten von Exzitationen festgehalten. Mit dem Erreichen des gewünschten Narkosestadiums (s.d. 3.2.7.1.1.) wurde das Tier aus dem Wasser genommen und die Eintragungen auf der Vorderseite des Protokolls fortgesetzt. Dort wurden der Zeitpunkt des Wirkungseintritts, die Zeit bis zum Herausnehmen aus dem Narkosebad, eventuelle Abwehrbewegungen, die Größe, das Gewicht, die Gesamtzeit außerhalb des Beckens sowie die tatsächlich erreichte OP-Toleranz (Operationstoleranz = Duldung eines möglicherweise schmerzhaften Eingriffes) eingetragen. Letzteres erfolgte in fünf Stufen:

Schema 4: OP-Toleranz Stufenplan

OP-Toleranz	Zahlencode	Merkmale	Bewertung
Unzureichend	1	-Das Amphibium bewegt sich normal im Narkosebecken -Deutliche Spontanbewegung -Heftige Abwehr, Tier nicht zu handhaben -Tier steigt zum Luftholen auf -Keine bis geringe Gleichgewichtsprobleme -Schmerz- und Umkehrreflex vorhanden (+)	1 bis 2,5 = zu schwach
schwach	2	-Spontanbewegung gedämpft -Leichte Abwehr, Handhabung mit Schwierigkeiten verbunden -Deutliche Gleichgewichtsprobleme -Schmerzreflex (+) -Umkehrreflex (+/-)	
ausreichend	3	-Keine Spontanbewegung -Höchstens einmaliges kurzes Bewegen -Keine Abwehr, gut zu handhaben -Kein Gleichgewichtsbewusstsein mehr vorhanden -Muskulatur relaxiert -Umkehrreflex (-) -Schmerzreflex (+/-) (einmaliges kurzes Zucken)	> 2,5 bis 4,5 = ideal
tief	4	-Absolut keine Bewegung und Spontanbewegung -Keine Abwehr, gut zu handhaben -Komplette Muskelrelaxation, -Völlig reflexfreies Anästhesiestadium -Umkehrreflex (-) -Schmerzreflex (-)	
Zu tief	5	-Sehr lange und kritische Aufwachphase -Teilweise Hilfsmaßnahmen nötig (z.B. Beatmung, Antagonisierung, Kreislaufstabilisierung...) -Gefahr des irreversiblen Narkosestadiums mit Tod des Tieres	> 4,5 = zu tief

Um die statistische Auswertung übersichtlicher gestalten zu können, wurden die OP-Toleranz-Stufen in Gruppen zusammengefasst, wobei 1 bis 2,5 als „zu schwach“, über 2,5 bis 4,5 als „ideal“ und ab 4,5 als „zu tief“ eingeteilt wurden.

*„Zu schwach“*

Das Amphibium zeigte zwar Beeinträchtigungen des Gleichgewichtssinnes, bewegte sich jedoch mehr oder weniger spontan (Auftauchen zum Luftholen) oder nach von außen gesetzten Reizen. Umkehr- und Schmerzreflex waren noch voll ausgeprägt. Das Tier war nicht ausreichend relaxiert, um eine sichere Handhabung zu gewährleisten. Durch die Abwehrbewegungen bestand eine deutliche Verletzungsgefahr für das Versuchstier.

*„ideal“*

Als „ideal“ wurde ein Gesamtzustand betrachtet, in dem die Muskulatur des Tieres entspannt war und keine eigenständigen Bewegungen mehr erfolgten. Die Amphibien zeigten einen negativen Umkehrreflex, indem sie sich problemlos auf den Rücken drehen ließen und in dieser Stellung reglos liegen blieben. Auch das Stechen mit einer Einmalkanüle in die Oberschenkelmuskulatur löste keinerlei Abwehrreaktionen aus (Ausnahme: einmaliges kurzes Zucken beim Einstich), was einen ausgeschalteten Schmerzreflex bedeutete. Von einer ausreichenden Analgesie in diesem Stadium wurde ausgegangen, nachdem wie unter 2.1.2.3. beschrieben, laut Untersuchungen von MACHIN (1999), BRENNER et al. (1994), LEE & FRANK (1991) und LETCHER (1992), Medikamente wie  $\alpha$ 2-Agonisten (Xylazin), Ketamin und MS 222 auch bei Amphibien analgetische Wirkung zeigen. Das Ausbleiben einer Abwehrbewegung beim Setzen eines Schmerzreizes bestätigt dies zusätzlich, stellt jedoch keinen eindeutigen Beweis dar. Aus dem „idealen“ Narkosestadium erwachten die Tiere sicher und selbständig.

*„Zu tief“*

Zu tief bedeutete für eine Narkose, wenn zwar Muskelrelaxation und Analgesie gegeben waren, dieses Stadium aber so tief war, dass die Aufwachphase über mehrere Stunden dauerte, teilweise Hilfsmassnahmen nötig waren und ein hohes Mortalitätsrisiko für die Tiere bestand. Dieses Stadium wurde von uns nie erreicht, da die Dosis in sehr kleinen Stufen erhöht, und beim Erreichen des gewünschten Narkosestadiums aufgehört wurde.

Während der Aufwachphase wurden das Wiedereinsetzen des Schmerzempfindens und der Spontanbewegungen sowie die Reaktion auf Reize von außen (Berührung, Vibration, optisch, akustisch), das Wiedererlangen des Gleichgewichts, der Beginn gezielter Bewegungen und die Gesamtzeit bis zum vollständigen Erwachen in Minuten ab dem Einsetzen ins Aufwachbecken vermerkt.

Das Auftreten von Exzitationen wurde mit 0= nein oder 1= ja bewertet. Dabei wurden sowohl deutlich auffällige Verhaltensweisen, wie schnelle, hektisch wirkende Schwimmbewegungen und Versuche, aus dem Becken zu entkommen, als auch subtilere Anzeichen von Erregung, wie das Auftreten leichter Muskelzuckungen der Extremitäten, als Exzitation beurteilt. Dies wurde jedoch so gut wie nie beobachtet und deshalb nicht in die Bewertung einbezogen.

Auf der Rückseite des Protokolls (s. Abbildung 3) wurden die Verhaltensänderungen in Anlehnung an das klinische Vorgehen zu dem Zeitpunkt vermerkt, an dem sie beobachtet wurden. Dabei wurde nicht die Ausprägung verschiedener Verhaltensweisen vermerkt, sondern nur das Auftreten mit „+“ und „-“ angegeben. Diese Vereinfachung diente der besseren statistischen Auswertbarkeit. Zusätzliche, schriftliche Vermerke über individuelle Besonderheiten konnten deshalb nicht in die Auswertungen miteinbezogen werden.

Abbildung 2: Narkoseprotokoll Vorderseite

**Narkose Protokoll „Hellabrunner Mischung / MS 222 bei Amphibien“**

Narkose-Nr.: ..... Versuchsart: ..... München, den .....

Amphibienart: ..... Gruppe: .....

Vorbesitzer: Import-Export Peter Hoch, August Jeanmaire Str. 12, 79183 Waldkirch

Versuchsort: Tierpark Hellabrunn

Gewicht (g): ..... Größe (cm): .....

Außentemperatur (°C): ..... Wassertemperatur (°C): ..... Wasser-pH: .....

NaBic (ml/l): ..... Wasser-pH mit NaBic: ..... Wasser-pH mit HM: .....

Dosierung ml HM / l Wasser: ..... Nitrat (mg/l): .....

**Anflutungszeit**

Wirkungseintritt nach (min.): ..... Besonderheiten:

Ataxie nach (min.): .....

Exzitationen: ja  nein

Anflutungszeit bis zu optimalem OP-Stadium gesamt (min.): .....

**OP-Stadium**

Herausnehmen aus Narkosebecken (min.): ..... Besonderheiten:

Abwehr: ja  nein

OP-Toleranz:            unzureichend      schwach      ausreichend      tief      zu tief  
                                                                                                                  

Gesamtzeit außerhalb Becken (min.): .....

**Aufwachphase**

Umsetzen in Aufwachbecken nach (min.): ..... Besonderheiten:

Reaktion auf Berührung / Wiedererlangen Schmerzempfinden nach (min.):..... / .....

Beginn Spontanbewegung nach (min.): .....

Reaktion auf akustische Reize/Vibration nach (min.): .....

Reaktion auf optische Reize nach (min.): .....

Wiedererlangen Gleichgewicht nach (min.): .....

Gezielte (Normale) Bewegungen nach (min.): .....

Gesamtzeit bis vollständig wach (min.): .....

Exzitationen: ja  nein

---

(Leiter des Versuchsvorhabens)

---

(Versuch durchführende Person)

Abbildung 3: Narkoseprotokoll Rückseite

**Narkoseprotokoll „Hellabrunner Mischung / MS 222 bei Amphibien“**

Zeit (min. nach Beginn)	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	30
Auftauchen zum Luftholen															
Spontanbewegung															
Reaktion auf Berührung															
Reaktion auf akustische Reize/Vibration															
Reaktion auf optische Reize															
Einsetzen von Gleichgewichtsverlust															
Umkehrreflex															
Lidchluss-/ Kornealreflex															
Schmerzreflex															
Exzitationen															
Mundbodenatmung															

Anmerkungen:

#### 3.2.8.1.2. Digitalfotos / Videosequenzen

Zusätzlich zu den schriftlichen Aufzeichnungen wurden auch digitale Fotos und kurze Videosequenzen mit einigen Minuten Länge erstellt. Dazu dienten die digitale Fotokamera Cybershot DSC-S60 der Firma Sony mit einer Auflösung von 4,1 Megapixeln, sowie die Handycam DCR-DVD106E der gleichen Firma. Während der Vorversuche wurde nur fotografiert und gefilmt, wenn Besonderheiten auftraten. Bei den Hauptversuchen wurde von jedem einzelnen Versuchstier mindestens ein Foto aufgenommen und bei einer Vielzahl der Tiere die entsprechenden Narkosestadien in repräsentativen Abschnitten gefilmt. Anhand dieser Aufnahmen konnten subjektive Wahrnehmungen bei der Aufarbeitung bestätigt oder widerlegt werden.

#### 3.2.8.2. Wasserproben

Über den gesamten Versuchszeitraum wurden Wasserproben entnommen und untersucht. Zu Beginn jeder Versuchsreihe wurden jeweils eine Probe des Narkose- und eine des Aufwachbeckens direkt vor Ort kontrolliert. Zudem wurden auch die Haltungsbecken in regelmäßigen Abständen auf einwandfreie Bedingungen sowie die gleichbleibende Qualität des Leitungswassers stichprobenartig überprüft. Zum Einsatz kamen hier einerseits handelsübliche Tropftests, andererseits digitale Messgeräte. Die dazu verwendeten Hilfsmittel sind in Kapitel 3.2.4 aufgelistet. Getestet wurden der Nitrit-, Nitrat- und Ammoniumgehalt in mg/l. Zudem wurde zu verschiedenen Zeitpunkten der Versuche der pH-Wert des reinen Wassers im Aufwachbecken, der des mit NaBic gepufferten Brunnenwassers sowie der der gebrauchsfertigen Narkosebadlösung gemessen. Außerdem wurde auch die Gesamt-/Karbonathärte in °dH bzw. °KH bestimmt. Sporadisch wurden der Calciumgehalt und der Magnesiumgehalt in mg/l ermittelt. Die erhaltenen Ergebnisse wurden tabellarisch protokolliert.

#### 3.2.9. Statistik

Die aus den Versuchen gewonnenen Daten wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel 2003 zusammengefasst. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 17.0 im Statistischen Beratungslabor der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte, die Standardabweichungen, Maxima (Max) und Minima (Min) herangezogen. Aufgrund der Tatsache, dass die Tiere nicht eindeutig identifizierbar waren, wurden die beiden Gruppen A und B der Hauptversuche jeweils zusammengelegt. Aus demselben Grund erfolgte der Vergleich der beiden

Narkosemittel ausschließlich anhand der jeweiligen 95%-Konfidenzintervalle. Zusammenhänge zwischen den einzelnen Variablen wurden mit dem Pearson Korrelationskoeffizienten untersucht.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Vorversuche

#### 4.1.1. Allgemein

Jede Versuchsreihe der Vorversuche wurde mit 0,2ml HM pro Liter Wasser begonnen und jeweils um 0,2ml HM/l Wasser erhöht, bis das gewünschte Toleranzstadium erreicht wurde. Trat bei mehreren Dosierungsschritten von 0,2ml/l keinerlei Wirkung ein, so wurde in größeren Schritten gesteigert. Pro Dosis wurde mit einem Versuchstier begonnen. Trat überhaupt keine Wirkung ein, wurde ein weiterer Frosch mit der um 0,2ml HM/l Wasser erhöhten Dosis narkotisiert. Zeigten sich erste Anzeichen einer Wirkung, wie leichte Ataxien oder Reflexverluste so wurden 5 Tiere mit dieser Dosisstufe anästhesiert. Bei Annäherung an das gewünschte Toleranzstadium wurden immer 10 Tiere mit einer Dosis narkotisiert bis die OP-Toleranz erreicht wurde. Dies war nötig, da laut Versuchsantrag für die Vorversuche nur eine Versuchstieranzahl von 50 plus 5 Ersatztiere zur Verfügung stand, aber deutlich mehr Dosisstufen nötig waren, als vorgesehen.

#### 4.1.2. Zwergkrallenfrösche

Bei den Zwergkrallenfröschen handelte es sich um die erste Versuchstierart mit der die Vorversuche gestartet wurden. Hier stellte die richtige Wasserwahl und der daraus resultierende pH-Wert ein unvorhergesehenes Problem dar (s.d. Punkt 3.2.7.1.2.).

##### 4.1.2.1. Osmosewasser

Bei dem anfangs verwendeten Osmosewasser wurde mit der Dosis von 0,2ml HM/l Wasser gestartet und jeweils um 0,2ml HM/l gesteigert, wenn sich bei den Tieren keinerlei Wirkung erkennen ließ. Die ersten 9 Tiere zeigten trotz kontinuierlicher Dosissteigerung keinerlei Wirkung (s.a. Tabelle 4). Erst bei einer Dosis von 2,0ml HM/l Wasser zeigte ein Zwergkrallenfrosch mit der Größe von 2,0cm und einem Gewicht von 0,3g nach 28,0min. eine schwache Wirkung des Narkosemittels in Form leichter Ataxien. Es wurde noch ein Frosch (2,0cm und 0,4g) mit der Dosis 2,2ml HM/l Wasser und ein weiterer (2,1cm und 0,5g) mit 2,4ml HM/l in das Narkosebecken gesetzt. Bei beiden Tieren konnten nur sehr leichte Gleichgewichtsstörungen hervorgerufen werden, wobei sich die

Zeiten des Wirkungseintritts nicht verkürzten. Bei 2,2ml HM/l Wasser dauerte es 23,5min., bei 2,4ml HM/l 27,5min. Auch wenn die Tiere 60min. statt der vorgesehenen 30min. im Narkosebad belassen wurden, war keinerlei Vertiefung mehr erkennbar. Die OP-Toleranz wurde bei allen 12 Tieren als zu schwach bewertet (s.a. Tabelle 4). Aufgrund dieser unbefriedigenden Ergebnisse wurde eine neue Versuchsreihe mit Wasser aus dem eigenen Brunnen des Tierparks (entspricht normalem Leitungswasser) gestartet.

Tabelle 4: Tauchbadnarkosen mit HM und Osmosewasser bei Zwergkrallenfröschen

Dosis HM (ml/l)	Größe (cm)	Gewicht (g)	Wirkungseintritt (min.)	Anflutungszeit (min.)	OP-Toleranz	Aufwachzeit (min.)
0,2	2,0	0,4	-	>30	1	-
0,4	2,0	0,4	-	>30	1	-
0,6	2,0	0,4	-	>30	1	-
0,8	2,2	0,4	-	>30	1	-
1,0	2,3	0,5	-	>30	1	-
1,2	2,0	0,4	-	>30	1	-
1,4	2,1	0,5	-	>30	1	-
1,6	2,5	0,7	-	>30	1	-
1,8	1,8	0,4	-	>30	1	-
2,0	2,0	0,3	28	>30	1,5	-
2,2	2,0	0,4	23,5	>30	1,5	-
2,4	2,1	0,5	27,5	>30	1,5	-

#### 4.1.2.2. Brunnenwasser (Aqua fontis)

Begonnen wurde mit einem 2,3cm großen und 0,6g schweren Versuchstier und einer Dosis von 0,2ml HM/l Wasser. Es zeigte keinerlei Wirkung. Auch beim nächsten Frosch (2,6cm und 0,7g) blieb bei einer Dosis von 0,4ml HM/l Wasser eine anästhetische Wirkung aus. Daraufhin wurden 5 Zwergkrallenfrösche mit einer durchschnittlichen Größe von 2,04cm und einem mittleren Gewicht von 0,52g in ein Bad mit der doppelten Dosis von 0,8ml/l gesetzt. Hier zeigte sich nach durchschnittlich 14,3min. eine beginnende Wirkung in Form von deutlichen Ataxien und nach im Mittel 18,43min. ein negativer Umkehrreflex. Das Schmerzempfinden blieb dauerhaft erhalten. Die OP-Tiefe lag bei ~2 und somit unterhalb des angestrebten Bereichs von über 2,5 bis 4,5. Bei weiteren Steigerungen der Dosis zeigte sich eine deutliche Verkürzung der Zeiten bis zum Wirkungseintritt, sowie bis zum Erlöschen des Umkehrreflexes. Ein Verschwinden des Schmerzreflexes konnte jedoch auch hiermit nicht erreicht werden. So dauerte es bei 5 Tieren (~ 2,12cm und 0,48g) und einer Dosis von 1,0ml/l ~11,2min. bis zum Wirkungseintritt und ~15,13min. bis zum negativen Umkehrreflex sowie bei 5 weiteren Fröschen (~ 2,14cm und 0,54g) und einer Dosis von 1,2ml/l - 11,07min. und 14,97min. Die erreichte OP-Toleranz lag bei ~2,1 bzw. bei ~2,2, also weiterhin knapp unter dem angestrebten Intervall. Nachdem das

Schmerzempfinden dauerhaft erhalten blieb, wurde ein neuer Versuch mit einer Dosis von 0,8ml/l gestartet, wobei jedoch dem Brunnenwasser zusätzlich Natriumbicarbonat als Puffer zugesetzt wurde. Bei den 10 verwendeten Tieren zeigte sich im Vergleich zum Versuch mit gleicher Dosis, aber ohne Pufferung sofort eine deutlich verstärkte Wirkung des Anästhetikums. So war bei den, im Schnitt 2,12cm großen und 0,53g schweren, Tieren schon nach ~7,16min. ein Wirkungseintritt, nach ~13,87min. ein Erlöschen des Umkehrreflexes, sowie bei 9 der 10 Tiere zusätzlich nach ~19,93min. ein Erlöschen des Schmerzempfindens feststellbar. Nur ein Zwergkrallenfrosch (2,0cm und 0,5g) zeigte dauerhaft deutliche Schmerzreaktionen. Es wurde im Durchschnitt eine OP-Tiefe von 2,55 erreicht. Bei den nächsten 10 Versuchstieren (~2,08cm und ~0,45g) und einer Dosis von 1,0ml/l zeigten alle Tiere nach ~16,05min. keinerlei Schmerzreaktionen und die übrigen Zeiten verkürzten sich deutlich. So zeigte sich schon nach ~6,00min. ein Wirkungseintritt und zum Verlust des Umkehrreflexes kam es nach ~10,47min. Mit einer OP-Toleranz von ~3,7 konnte ein fast ideales Narkosestadium erreicht werden. Die mittlere Anflutungszeit von 16,05min. lag knapp über den angestrebten 15min. Mit einer Dosis von 1,2ml/l konnte bei den nächsten 10 Versuchstieren (~2,39cm und 0,77g) das gewünschte Zeitoptimum erreicht werden. So dauerte es bis zum Wirkungseintritt ~5,47min., bis zum Erlöschen des Umkehrreflexes ~7,78min.; eine negative Antwort auf einen Schmerzreiz erfolgte nach ~11,72min., und die OP-Toleranz betrug ~4,2. Somit wurde die optimale Dosis auf 1,2ml HM/l Wasser festgesetzt.

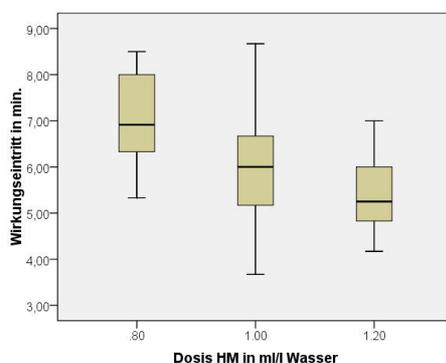
### Wirkungseintritt

Bei den Vorversuchen der Krallenfrösche nahm der durchschnittliche Zeitpunkt des Wirkungseintritts mit steigender Dosis deutlich ab.

Dosis 0,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 7,02min. (95%, Konfidenzintervall: 6,23-7,8)

Dosis 1,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 6min. (95%, Konfidenzintervall: 5,02-6,98)

Dosis 1,2ml HM/l Wasser: Mittelwert 5,47min. (95%, Konfidenzintervall: 4,82-6,11)



Graphik 3: Wirkungseintritt, Zwergkrallenfrösche

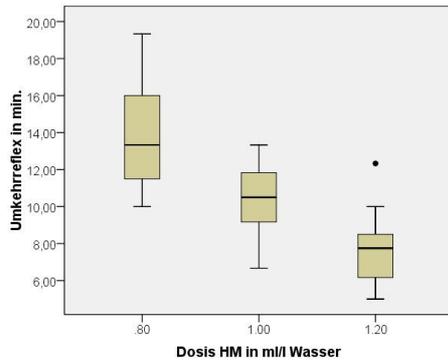
### Umkehrreflex

Der Zeitpunkt an dem der Umkehrreflex erlosch nahm ebenfalls mit steigender Dosis ab.

Dosis 0,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 13,87min. (95%, Konfidenzintervall: 11,68-16,06)

Dosis 1,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 10,47min. (95%, Konfidenzintervall: 9,03-11,91)

Dosis 1,2ml HM/l Wasser: Mittelwert 7,78min. (95%, Konfidenzintervall: 6,19-9,37)



Graphik 4: Umkehrreflex, Zwergkrallenfrösche

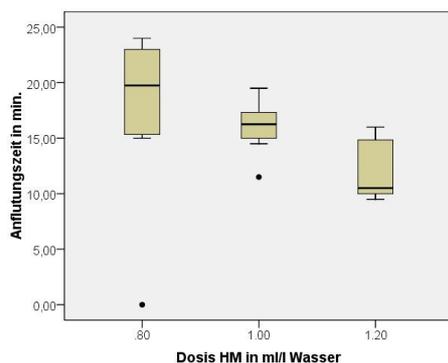
### Anflutungszeit / Ausbleiben des Schmerzreflexes

Auch die Anflutungszeit nahm mit steigender Dosis ab, allerdings gab es erst mit der Dosis 1,2ml HM/l Wasser deutliche Unterschiede.

Dosis 0,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 17,93min. (95%, Konfidenzintervall: 12,89-22,97)

Dosis 1,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 16,05min. (95%, Konfidenzintervall: 14,52-17,58)

Dosis 1,2ml HM/l Wasser: Mittelwert 11,72min. (95%, Konfidenzintervall: 9,95-13,48)



Graphik 5: Anflutungszeit / Ausbleiben des Schmerzreflexes, Zwergkrallenfrösche

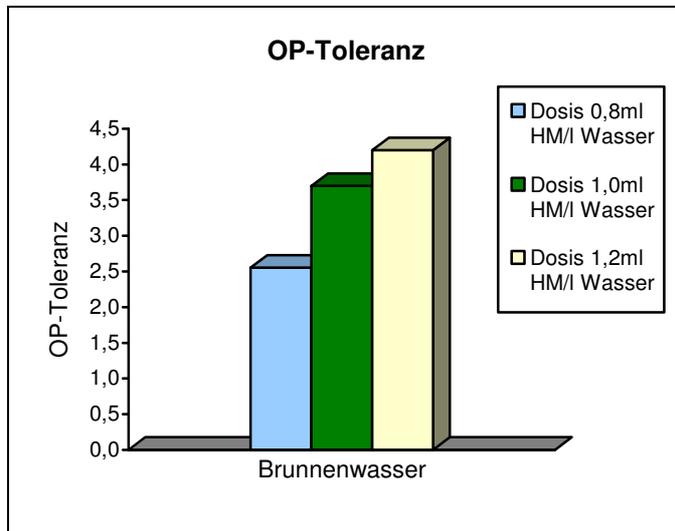
### OP-Toleranz

Die OP-Toleranz nahm mit steigender Dosis zu.

Dosis 0,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 2,55.

Dosis 1,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 3,7.

Dosis 1,2ml HM/l Wasser: Mittelwert 4,2.



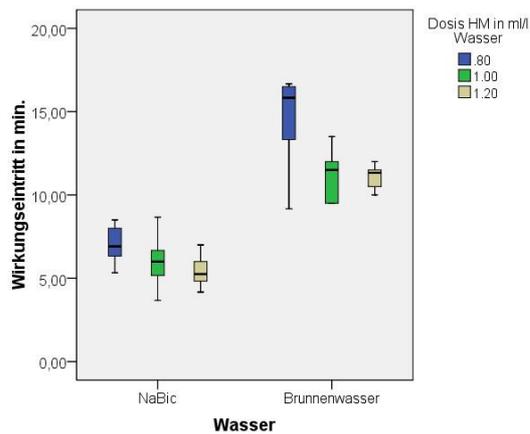
Graphik 6: OP-Toleranz, Zwergkrallenfrösche

#### 4.1.2.3. Statistischer Vergleich der Narkosen ohne / mit NaBic-Pufferung

Verglichen wurden jeweils die drei Dosen 0,8ml, 1,0ml und 1,2ml HM/l Wasser.

### Wirkungseintritt

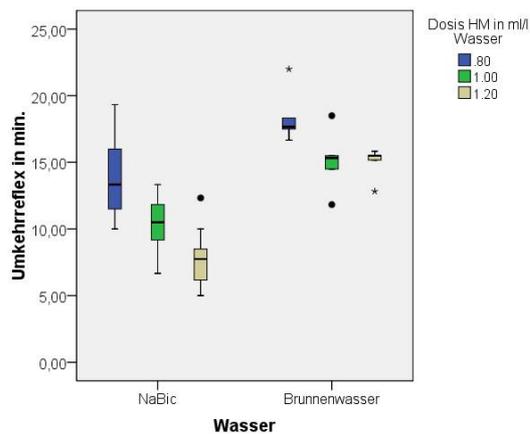
Wenn man die beiden Wasserarten (Brunnenwasser & NaBic) vergleicht, sieht man, dass die Wirkung bei NaBic im Schnitt deutlich schneller eintrat als beim Brunnenwasser. Bei einer Dosis von 1,2ml HM/l Wasser brauchte es bei NaBic durchschnittlich 5,47min. (95% Konfidenzintervall: 4,82-6,11) und beim Brunnenwasser 11,07min. (95% Konfidenzintervall: 10,07-12,07) bis zu ersten Anzeichen einer Wirkung.



Graphik 7: Wirkungseintritt mit und ohne NaBic, Zwergkrallenfrösche

### Umkehrreflex

Bei einer Dosis von 1,2ml HM/l Wasser waren die Umkehrreflexe bei NaBic im Schnitt nach 7,78min. (95%, Konfidenzintervall: 6,19-9,37) und beim Brunnenwasser erst nach 14,97min. (95%, Konfidenzintervall: 13,46-16,48) erloschen.



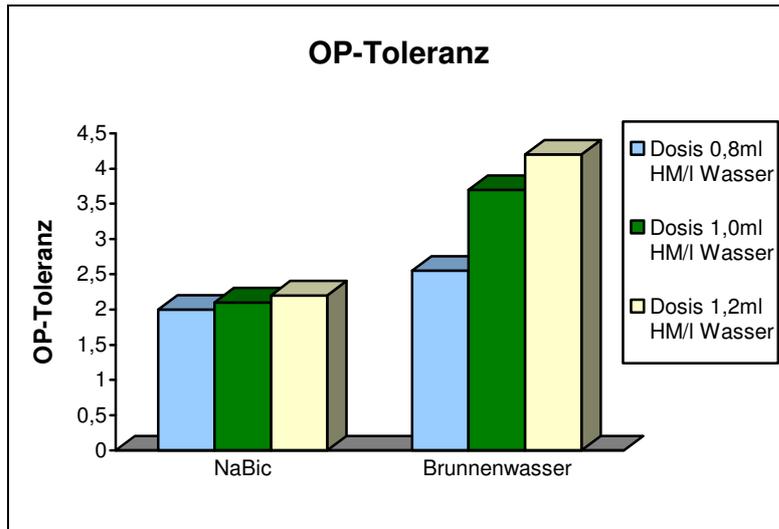
Graphik 8: Umkehrreflex mit und ohne NaBic, Zwergkrallenfrösche

### Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes

Bei der Verwendung von Brunnenwasser wurden die Tiere gar nicht aus dem Wasser genommen, da nach 30min. bei keinem der Tiere alle Reflexe erloschen waren.

### OP-Toleranz

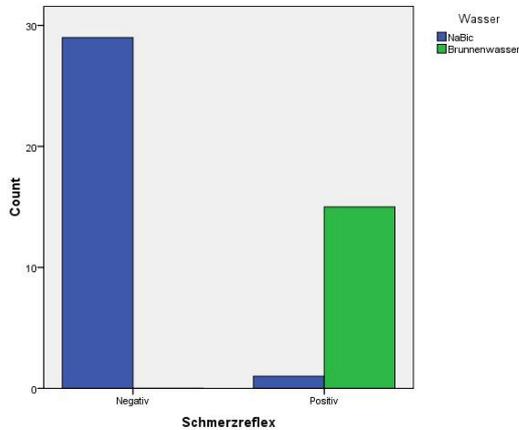
Auch bei der Betrachtung der OP-Toleranz zeigte die Narkose mit Brunnenwasser keine ausreichende Wirkung.



Graphik 9: OP-Toleranz mit und ohne NaBic, Zwergkrallenfrösche

#### Ausbleiben des Schmerzreflexes

Während der Narkosen mit gepuffertem (NaBic) Brunnenwasser ist nur bei einem einzigen Tier der Schmerzreflex nicht erloschen. Im Gegensatz dazu blieb das Schmerzempfinden während der Narkosen mit reinem Brunnenwasser bei allen Tieren erhalten.



Graphik 10: Ausbleiben des Schmerzreflexes mit und ohne NaBic, Zwergkrallenfrösche

#### 4.1.2.4. Zusätzliche Parameter

Die Mittelwerte weiterer Versuchsdaten wie Raum-, Wassertemperatur und pH-Wert der Narkosebadlösung sind in den Tabellen 5, 6 und 7 aufgeführt.

Tabelle 5: Beziehung HM Dosis, pH-Wert, Wasser-, Raumtemperatur, bei Osmosewasser, Zwergkrallenfrösche

Dosis HM (ml/l)	Raumtemperatur (°C)	Wassertemperatur (°C)	pH-Wert Narkoselösung
0,2	19,5	22,5	6,62
0,4	19,8	23,3	6,55
0,6	19,9	22,9	6,47
0,8	19,9	22,9	6,31
1,0	19,5	22,9	6,23
1,2	19,7	22,9	6,19
1,4	20,0	23,0	6,04
1,6	20,1	22,9	5,86
1,8	20,1	22,9	5,74
2,0	20,2	22,9	5,76
2,2	19,8	22,9	5,59
2,4	19,5	23,2	5,36

Tabelle 6: Beziehung HM Dosis, pH-Wert, Wasser-, Raumtemperatur, bei Brunnenwasser, Zwergkrallenfrösche

Dosis HM (ml/l)	Raumtemperatur (°C)	Wassertemperatur (°C)	pH-Wert Narkoselösung
0,2	20,1	22,8	7,27
0,4	19,9	22,7	7,19
0,8	19,7	23,2	7,15
1,0	19,2	22,9	7,10
1,2	19,6	23,0	7,02

Tabelle 7: Beziehung HM Dosis, pH-Wert, Wasser-, Raumtemperatur, bei Brunnenwasser mit NaBic, Zwergkrallenfrösche

Dosis HM (ml/l)	Raumtemperatur (°C)	Wassertemperatur (°C)	pH-Wert Narkoselösung
0,8	19,9	23,0	8,32
1,0	20,0	22,9	8,20
1,2	20,0	22,9	7,99

#### 4.1.3. Bananenfrösche

Für diese Versuchsreihe wurde von Anfang an gepuffertes Brunnenwasser verwendet.

Bei den Bananenfröschen wurde zu Beginn ein 2,6cm großer und 1,8 g schwerer Frosch mit 0,2ml HM/l Wasser narkotisiert. Das Tier zeigte keinerlei Anzeichen einer Wirkung. Daraufhin wurde ein weiterer Frosch (3,4cm und 2,9g) mit 0,4ml HM/l Wasser und ein Frosch (3,6cm und 3,0g) mit 0,6ml HM/l narkotisiert, jedoch ebenso wirkungslos. Auch eine Dosis von 0.8ml HM/l Wasser rief bei 5 Tieren mit durchschnittlich 3,46cm und 2,94g keinerlei Wirkung hervor. Weitere 5 Tiere wurden mit 1,0ml HM/l Wasser anästhesiert. Hier zeigte nur ein Frosch mit 3,5cm und 2,9g nach 28min. leichte Ataxien. Bei den übrigen Tieren (im Mittel 3,53cm und 2,93g) trat keine Wirkung ein. Ab diesem Zeitpunkt wurden jeweils 10 Tiere pro Versuchsreihe verwendet. Es erfolgte eine Dosiserhöhung in größeren Stufen. Getestet wurden 10 Tiere mit durchschnittlich 3,13cm und 2,35g mit der

Dosierung von 1,5ml HM/l Wasser, 10 Tiere (~3,33cm und ~2,66g) mit 2,0ml HM/l, 10 Tiere (~3,41cm und ~3,14g) mit 3,0ml HM/l und 10 Tiere (~3,39cm und ~2,98g) mit 4,0ml HM/l. Trotz der deutlichen Erhöhung des Narkosemittels konnte keine Vertiefung der Narkose erreicht werden. Die Tiere zeigten als einziges Zeichen einer Wirkung ggr. Ataxien. Zwischen den untersuchten Dosen gab es keine großen Abweichungen im Bezug auf den Wirkungseintritt. Die OP-Toleranz lag bei allen Tieren zwischen 1 und 1,5, also deutlich zu tief. Eine weitere Steigerung wurde nicht vorgenommen, da die benötigten großen Mengen an HM aus finanziellen Gründen in der Praxis nicht zum Einsatz kommen und zusätzlich ein großes Risiko für die Gesundheit der Tiere darstellen würden. Somit konnte keine wirkungsvolle Dosis ermittelt werden.

### Wirkungseintritt

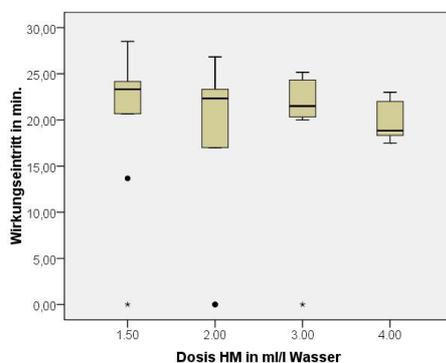
Bei den Vorversuchen der Bananenfrösche gab es zwischen den untersuchten Dosen (1,5 / 2,0 / 3,0 / 4,0ml HM/l Wasser) keine großen Abweichungen im Bezug auf den Wirkungseintritt

Dosis 1,5ml HM/l Wasser: Mittelwert 20,43min. (95%, Konfidenzintervall: 14,59-26,28)

Dosis 2,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 18,15min. (95%, Konfidenzintervall: 11,08-25,22)

Dosis 3,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 20,02min. (95%, Konfidenzintervall: 14,83-25,21)

Dosis 4,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 18,28min. (95%, Konfidenzintervall: 18,28-21,19)



Graphik 11: Wirkungseintritt, Bananenfrösche

#### 4.1.3.1. Zusätzliche Parameter

Die Mittelwerte weiterer Versuchsdaten wie Raum-/ Wassertemperatur und pH-Wert der Narkosebadlösung sind in der Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8: Beziehung HM Dosis, pH-Wert, Wasser-, Raumtemperatur, bei Brunnenwasser mit NaBic, Bananenfrösche

Dosis HM (ml/l)	Raumtemperatur (°C)	Wassertemperatur (°C)	pH-Wert Narkoselösung
0,2	20,8	25,3	8,25
0,4	21,7	26,2	8,14
0,6	21,5	26,0	8,05
0,8	21,2	25,9	7,79
1,0	21,7	26,1	7,68
1,5	21,6	25,8	7,57
2,0	21,4	26,2	7,54
3,0	21,4	26,1	7,41
4,0	21,5	26,1	7,34

#### 4.1.4. Grünliche Wassermolche

Die Anfangsdosis von 0,2ml HM/l gepuffertes Brunnenwasser zeigte bei einem Wassermolch der Größe 7,5cm und einem Gewicht von 2,0g ebenso wie die nächst höhere Dosis von 0,4ml HM/l bei 5 weiteren Tieren (im Mittel 8,4cm und 3,04g) keinerlei Wirkung. Die ermittelte OP-Tiefe lag bei 1. Nach einer weiteren Steigerung auf 0,6ml HM/l Wasser traten erste Anzeichen einer Wirkung auf. Bei den 5 verwendeten Versuchstieren zeigte sich bei 4 Tieren mit durchschnittlich 8,25cm und 2,5g nach im Schnitt 26,38min. der Wirkungseintritt in Form sehr leichter Ataxien. Ein Tier (11cm und 5,1g) zeigte jedoch noch keinerlei Wirkung, die mittlere OP-Toleranz betrug 1,1. Es erfolgte eine weitere Steigerung auf 0,8ml HM/l Wasser. Bei den 5 grünlichen Wassermolchen (~9,4cm und ~4,22g) kam es im Mittel nach 16,6min. zum Wirkungseintritt und 4 dieser Tiere (~9cm und ~3,58g) zeigten nach ~22,25min. zusätzlich einen negativen Umkehrreflex. Beim Testen des Schmerzreflexes zeigten sie deutliche Abwehrbewegungen. Die OP-Toleranz lag mit ~1,8 noch deutlich unter den optimalen Werten über 2,5 und unter 4,5. Auch bei der Dosis von 1,0ml HM/l Wasser zeigte sich ein ähnliches Bild. Nur die Zeit bis zum Wirkungseintritt wurde deutlich kürzer. So zeigten die 5 Tiere (~10,16cm und ~3,9g) schon nach durchschnittlich 11,5min. deutliche Ataxien. Bei 4 dieser Tiere (~10,63cm und ~4,38g) erfolgte zusätzlich nach ~21,13min. beim Testen des Umkehrreflexes keine Reaktion mehr. Der Schmerzreflex blieb auch hier erhalten. Die Tiere erreichten nur eine unzureichende OP-Tiefe von ~1,9. Bei 5 weiteren Tieren (~10,34cm und ~4g) und der Dosis von 1,2ml HM/l Wasser kam es im Mittel nach 11,4min. zum Wirkungseintritt und nach durchschnittlich 15,4min. zum Erlöschen des Umkehrreflexes. Bei 2 dieser Versuchstiere (~9,1cm und ~3,3g) wurde nach durchschnittlich 22min. ein negativer Schmerzreflex festgestellt. Das Schmerzempfinden blieb jedoch nicht lange ausgeschaltet. Sobald die Tiere aus dem Narkosebecken genommen wurden, war es wieder vorhanden. Mit ~2,2 näherte sich die OP-Toleranz der unteren angestrebten Grenze. Somit erfolgte eine weitere Dosis-Steigerung auf 1,4ml HM/l Wasser womit wiederum 5 Tiere (~9,6cm und ~3,32g) narkotisiert wurden.

Zum Wirkungseintritt kam es nach durchschnittlich 8,13min., zu einem Erlöschen des Umkehrreflexes nach ~11,57min. Das Schmerzempfinden konnte wiederum nicht bei allen Tieren ausgeschaltet werden. Nur bei 4 dieser Tiere (~8,93cm und ~2,8g) erlosch er nach ~19,92min. Die OP-Toleranz wurde mit ~2,4, als noch nicht ideal beurteilt. Die Dosis von 1,6ml HM/l Wasser rief bei 5 Tieren (~10,1cm und ~3,92g) nach ~8min. erste Anzeichen einer Wirkung hervor. Nach ~11,6min. zeigte sich bei allen ein negativer Umkehrreflex und nach ~19,8min. auch kein Schmerzreflex mehr. Die OP-Tiefe wurde nach den Kriterien in Kapitel 3.2.8.1.1. mit ~3,1 als ausreichend bewertet. Nachdem aber als Ziel eine Anflutungszeit von maximal 15 Minuten angestrebt war, wurden weitere 10 Wassermolche mit durchschnittlich 10,39cm und 4,08g mit einer Dosis von 1,8ml HM/l Wasser in das Narkosebad gesetzt. Der Wirkungseintritt erfolgte nach ~7,28min., der Umkehrreflex erlosch nach ~10,1min. und es erfolgte nach ~15,52min. keine Reaktion auf einen Schmerzreiz mehr. Die Tiere erreichten mit ~3,4 eine ausreichende OP-Tiefe. Dies entsprach weitgehend den als optimal bestimmten Werten. Zuletzt wurden noch einmal weitere 10 Versuchstiere (~10,57cm und ~4,52g) mit 2,0ml HM/l Wasser narkotisiert. Die Wirkung trat nach ~6,73min. ein. Ein negativer Umkehrreflex zeigte sich nach ~10,72min., und ein negativer Schmerzreflex nach ~13,93min. Die durchschnittliche OP-Toleranz betrug 3,55. Diese Ergebnisse entsprachen den angestrebten Werten und somit wurde die optimale Dosis auf 2,0ml/l HM festgelegt.

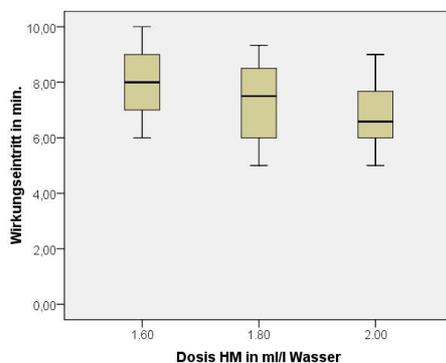
### Wirkungseintritt

Bei den Vorversuchen der Grünlichen Wassermolche nahm der durchschnittliche Zeitpunkt des Wirkungseintritts mit steigender Dosis ab.

Dosis 1,6ml HM/l Wasser: Mittelwert 8min. (95%, Konfidenzintervall: 6,04-9,96)

Dosis 1,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 7,28min. (95%, Konfidenzintervall: 6,22-8,35)

Dosis 2,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 6,74min. (95%, Konfidenzintervall: 5,88-7,59)



Graphik 12: Wirkungseintritt, Grünliche Wassermolche

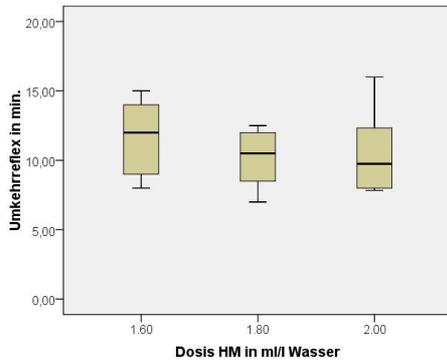
### Umkehrreflex

Beim Umkehrreflex traten zwischen den einzelnen Dosen keine großen Abweichungen auf.

Dosis 1,6ml HM/l Wasser: Mittelwert 11,6min. (95%, Konfidenzintervall: 7,81-15,39)

Dosis 1,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 10,1min. (95%, Konfidenzintervall: 8,67-11,53)

Dosis 2,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 10,72min. (95%, Konfidenzintervall: 8,51-12,92)



Graphik 13: Umkehrreflex, Grünliche Wassermolche

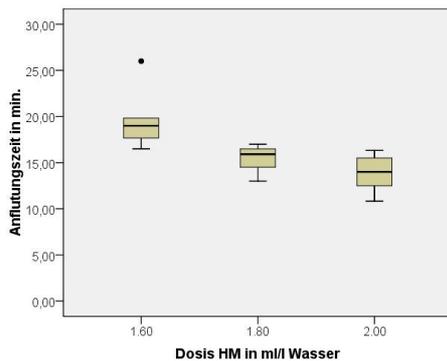
### Anflutungszeit

Auch die durchschnittliche Anflutungszeit nahm mit steigender Dosis ab.

Dosis 1,6ml HM/l Wasser: Mittelwert 19,8min. (95%, Konfidenzintervall: 15,22-24,38)

Dosis 1,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 15,52min. (95%, Konfidenzintervall: 14,51-16,52)

Dosis 2,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 13,93min. (95%, Konfidenzintervall: 12,67-15,2)



Graphik 14: Anflutungszeit, Grünliche Wassermolche

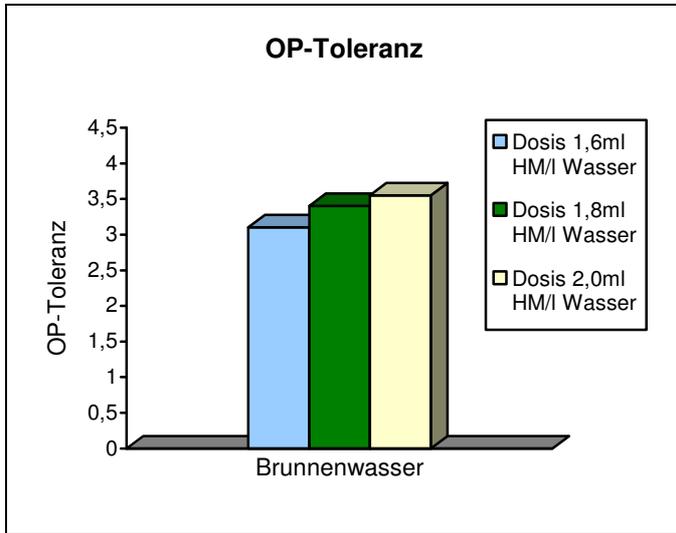
**OP-Toleranz**

Die OP-Toleranz nahm mit steigender Dosis leicht zu.

Dosis 1,6ml HM/l Wasser: Mittelwert 3,1

Dosis 1,8ml HM/l Wasser: Mittelwert 3,4

Dosis 2,0ml HM/l Wasser: Mittelwert 3,55



Graphik 15: OP-Toleranz, Grünliche Wassermolche

4.1.4.1. Zusätzliche Parameter

Die Mittelwerte weiterer Versuchsdaten wie Raum-/ Wassertemperatur und pH-Wert der Narkosebadlösung sind in der Tabelle 9 aufgeführt.

Tabelle 9: Beziehung HM Dosis, pH-Wert, Wasser-, Raumtemperatur, bei Brunnenwasser mit NaBic, Grünliche Wassermolche

Dosis HM (ml/l)	Raumtemperatur (°C)	Wassertemperatur (°C)	pH-Wert Narkoselösung
0,2	19,4	20,1	8,52
0,4	19,2	20,1	8,44
0,6	20,0	20,0	8,35
0,8	19,4	20,1	8,19
1,0	20,0	20,0	8,01
1,2	20,4	20,3	7,62
1,4	20,2	20,1	7,8
1,6	19,7	20,4	7,79
1,8	19,6	20,3	7,56
2,0	20,3	20,1	7,52

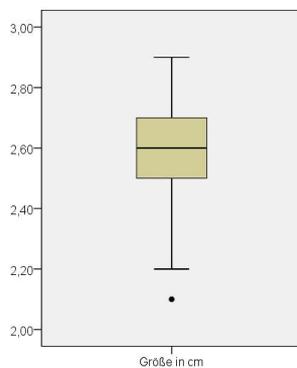
## 4.2. Hauptversuche

### 4.2.1. Vergleich Hellabrunner Mischung und MS 222

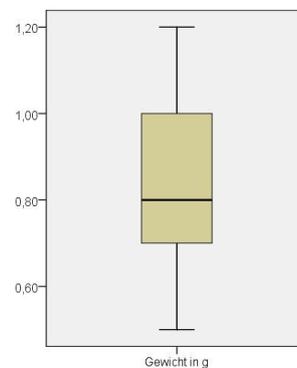
#### 4.2.1.1 Zwergkrallenfrösche

##### Größe/ Gewicht

Die im Hauptversuch verwendeten Zwergkrallenfrösche waren im Schnitt 2,57cm groß (Min 2,1 – Max 2,9; Standardabweichung: 0,179) und hatten im Mittelwert ein Gewicht von 0,83g (Min 0,5 – Max 1,2; Standardabweichung: 0,165).



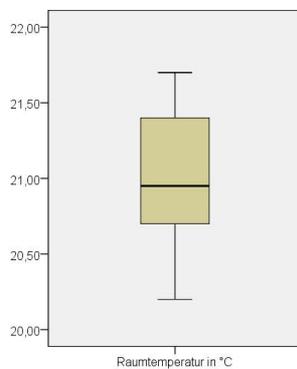
Graphik 16: Größe, Zwergkrallenfrösche



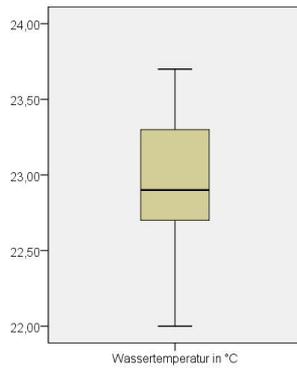
Graphik 17: Gewicht, Zwergkrallenfrösche

##### Temperatur

Die Raumtemperatur lag im Durchschnitt bei 21°C (Min 20,2 - Max 21,7°C; Standardabweichung: 0,442), die Wassertemperatur bei 22,95°C (Min 22 - Max 23,7°C; Standardabweichung: 0,44)



Graphik 18: Raumtemperatur, Zwergkrallenfrösche



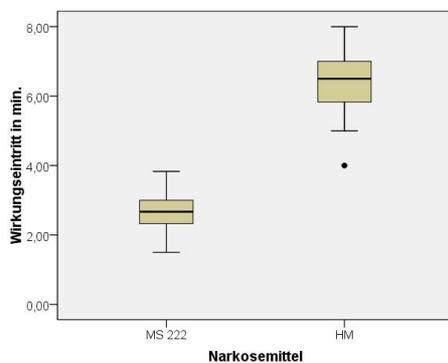
Graphik 19: Wassertemperatur, Zwergkrallenfrösche

### pH-Wert

Der pH-Wert der angemischten Narkoselösungen lag bei 1,2ml HM/l Wasser bei ~7,93 (Min 7,64 - Max 8,2) und bei einer MS 222 Dosis von 0,25g/l Wasser bei ~7,52 (Min 7,42 - Max 7,56).

### Wirkungseintritt

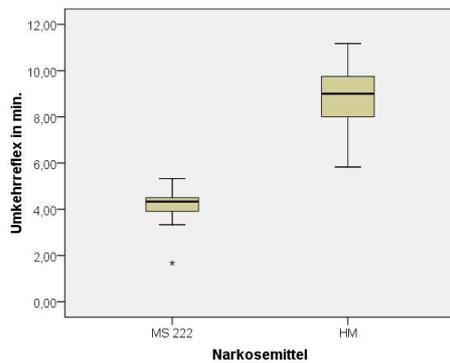
Vergleicht man den Wirkungseintritt zwischen den beiden Gruppen (MS 222 und HM) trat die Wirkung bei der HM nach durchschnittlich 6,44min. (95%, Konfidenzintervall 5,97-6,92), und damit deutlich später auf als bei MS 222 mit einem Mittelwert von 2,66min. (95%, Konfidenzintervall 2,4-2,92) ein.



Graphik 20: Wirkungseintritt, Zwergkrallenfrösche

### Umkehrreflex

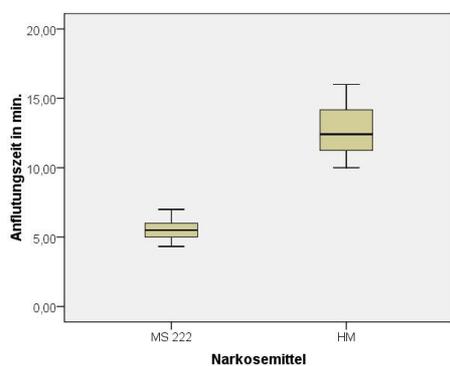
Bei der HM erlosch der Umkehrreflex im Schnitt nach 8,8min. (95%, Konfidenzintervall: 8,14-9,46), bei MS 222 schon nach durchschnittlich 4,12min. (95%, Konfidenzintervall: 3,76-4,47).



Graphik 21: Umkehrreflex, Zwergkrallenfrösche

### Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes

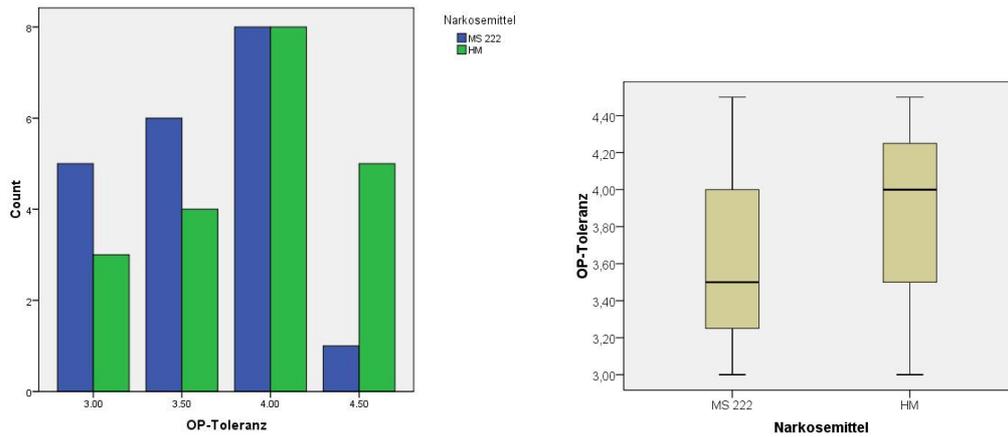
Auch in der Anflutungszeit gab es deutliche Unterschiede. Während die Tiere bei der HM im Schnitt nach 12,64min. (95%, Konfidenzintervall: 11,83-13,46) aus dem Becken genommen wurden, geschah dies bei MS 222 schon nach durchschnittlich 5,53min. (95%, Konfidenzintervall: 5,21-5,86). Diese Werte gelten ebenso für das Erlöschen des Schmerzempfindens, da das Ausbleiben des Schmerzreflexes als Erreichen der OP-Toleranz angesehen wurde.



Graphik 22: Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes, Zwergkrallenfrösche

### OP-Toleranz

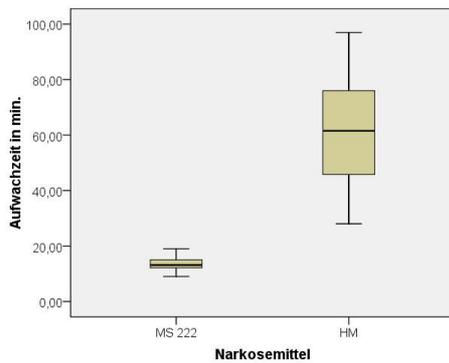
Bei der OP-Toleranz gab es zwischen den beiden Narkosemitteln keine starken Abweichungen, wobei sie bei MS 222 mit im Schnitt ~3,6 (Min.:3,0 – Max.:4,5) etwas geringer als bei HM mit ~3,9 (Min.:3,0 – Max.:4,5) lag.



Graphik 23 u. 24: OP-Toleranz, Zwergkrallenfrösche

### Aufwachzeit

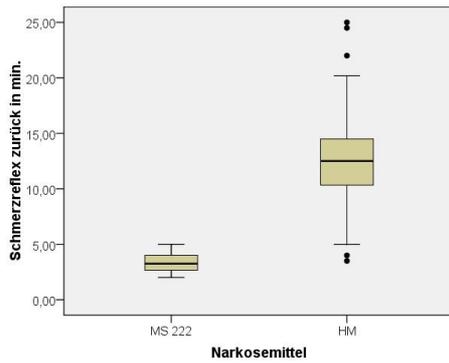
Die jeweiligen Aufwachzeiten unterschieden sich zwischen den beiden Narkosemitteln allerdings wieder deutlich. Im Schnitt waren die Tiere bei der Verwendung der HM nach 61,33min. (95%, Konfidenzintervall: 52,66-67) und bei MS 222 bereits nach 13,61min. (95%, Konfidenzintervall: 12,32-14,9) wieder völlig wach.



Graphik 25: Aufwachzeit, Zwergkrallenfrösche

### Wiederauftreten des Schmerzreflexes

Auch bei der Rückkehr des Schmerzreflexes gab es deutliche Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bei HM war der Schmerzreflex im Schnitt nach 13,07min. (95%, Konfidenzintervall: 10,24-15,9) wieder auslösbar, bei MS 222 bereits nach durchschnittlich 3,34min. (95%, Konfidenzintervall: 2,96-3,72).



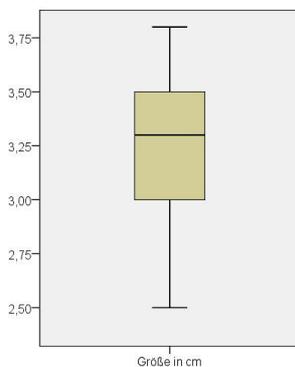
Graphik 26: Wiederauftreten des Schmerzreflexes, Zwergkrallenfrösche

#### 4.2.1.2. Bananenfrösche

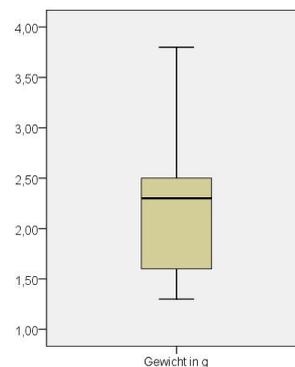
Nachdem in den Vorversuchen keine deutlich anästhetisch wirksame Dosis der HM ermittelt werden konnte, wurde bei diesen Tieren der Hauptversuch nur mit MS 222 durchgeführt, um dessen Wirkung zu bestätigen.

#### Größe/ Gewicht

Die 10 untersuchten Bananenfrösche waren im Schnitt 3,24cm groß (Min 2,5 – Max 3,8; Standardabweichung: 0,366) und hatten im Schnitt ein Gewicht von 2,25g (Min 1,3 – Max 3,8; Standardabweichung:0,737)



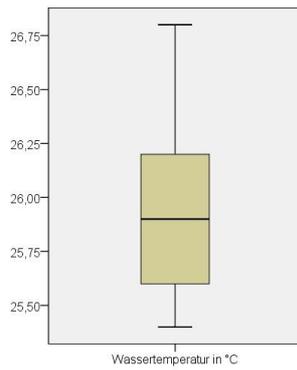
Graphik 27: Größe, Bananenfrösche



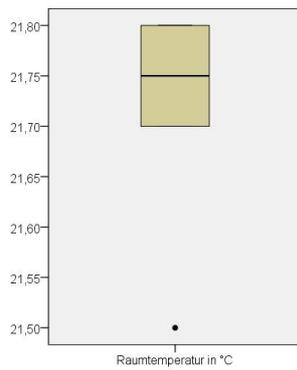
Graphik 28: Gewicht, Bananenfrösche

#### Temperatur

Die Wassertemperatur lag im Schnitt bei 25,97°C (Min 25,4 – Max 26,8°C; Standardabweichung: 0,452), die Raumtemperatur durchschnittlich bei 21,73°C (Min 21,5 – Max 21,8°C; Standardabweichung: 0,095) und wies kaum Schwankungen auf.



Graphik 29: Wassertemperatur, Bananenfrösche



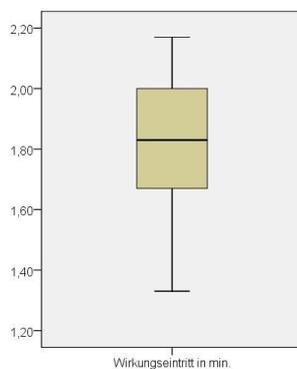
Graphik 30: Raumtemperatur, Bananenfrösche

### pH-Wert

Der pH-Wert der Narkoselösung betrug bei einer MS 222 Dosis von 1,5g/l im Durchschnitt 6,89 (Min 6,83 - Max 6,94).

### Wirkungseintritt

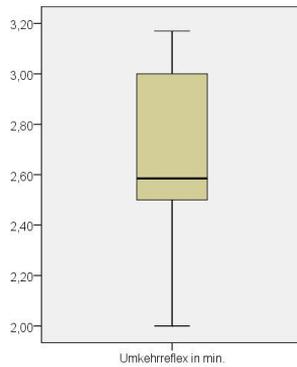
Die Wirkung trat im Schnitt nach 1,8min. (Min 1,33 – Max 2,17; Standardabweichung: 0,259) ein.



Graphik 31: Wirkungseintritt, Bananenfrösche

### Umkehrreflex

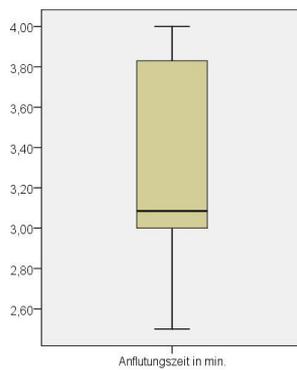
Der Umkehrreflex erlosch im Schnitt nach 2,67min. (Min 2 – Max 3,17; Standardabweichung: 0,378).



Graphik 32: Umkehrreflex, Bananenfrösche

### Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes

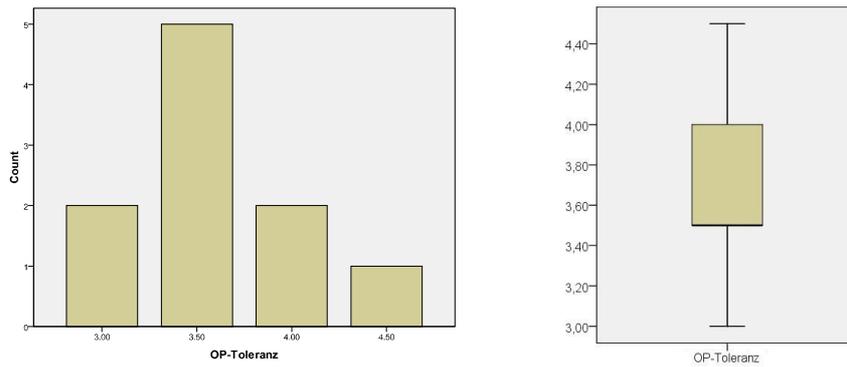
Der Schmerzreflex erlosch durchschnittlich nach 3,27min. (Min 2,5 – Max 4; Standardabweichung: 0,478), woraufhin die Tiere aus dem Wasser genommen wurden.



Graphik 33: Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes, Bananenfrösche

### OP-Toleranz

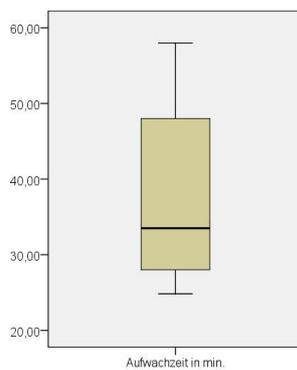
Die OP-Toleranz lag im Mittel bei 3,6 (Min 3 – Max 4,5; Standardabweichung: 0,46).



Graphik 34 u. 35: OP-Toleranz, Bananenfrosche

### Aufwachzeit

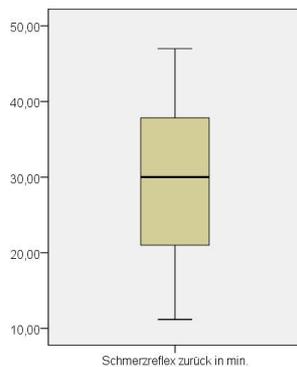
Die Tiere waren im Schnitt nach 36,98min. (Min 24,83 – Max 58; Standardabweichung: 11,31) wieder vollständig wach.



Graphik 36: Aufwachzeit, Bananenfrosche

### Wiederauftreten des Schmerzreflexes

Die Tiere zeigten durchschnittlich nach 29,61min. (Min 11,17 – Max 47; Standardabweichung: 11,47) wieder einen positiven Schmerzreflex.

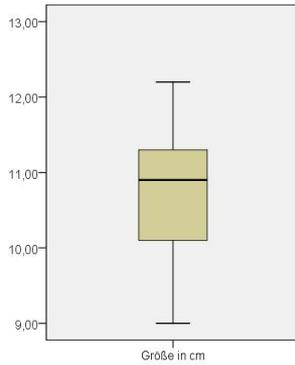


Graphik 37: Wiederauftreten des Schmerzreflexes, Bananenfrosche

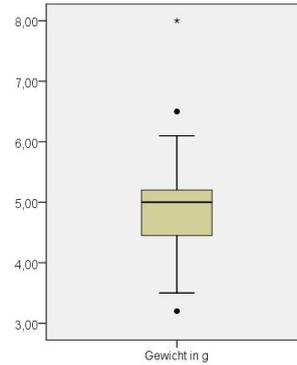
### 4.2.1.3. Grünliche Wassermolche

#### Größe/ Gewicht

Die 40 untersuchten Grünlichen Wassermolche waren im Schnitt 10,74cm groß (Min 9 – Max 12,2; Standardabweichung: 0,777) und hatten im Schnitt ein Gewicht von 4,9g (Min 3,2 – Max 8; Standardabweichung:0,868).



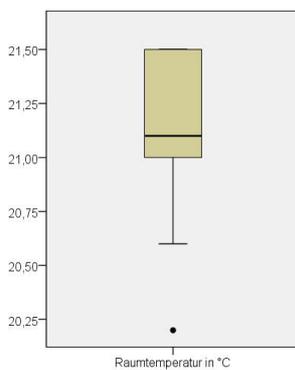
Graphik 38: Größe, Grünliche Wassermolche



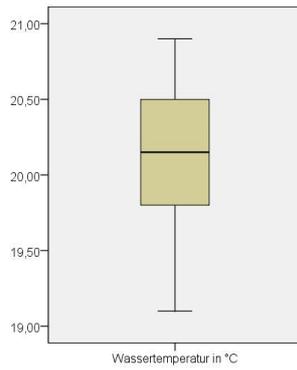
Graphik 39: Gewicht, Grünliche Wassermolche

#### Temperatur

Die Raumtemperatur betrug durchschnittlich 21,11°C (Min 20,20 – Max 21,5°C; Standardabweichung:0,362), die Wassertemperatur im Mittelwert 20,16°C (Min 19,10 – Max 20,90°C; Standardabweichung:0,463).



Graphik 40: Raumtemperatur, Grünliche Wassermolche



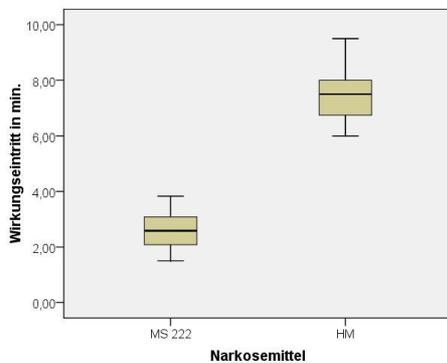
Graphik 41: Wassertemperatur, Grünliche Wassermolche

### pH-Wert

Der pH-Wert der angemischten Narkoselösungen lag bei 2,0ml HM/l Wasser bei ~7,92 (Min 7,73 – Max 8,21) und bei einer MS 222 Dosis von 0,5g/l Wasser bei ~7,28 (Min 7,14 – Max 7,42).

### Wirkungseintritt

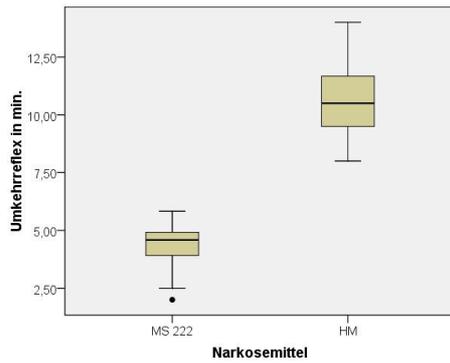
Vergleicht man den Wirkungseintritt zwischen den beiden Gruppen (MS 222 und HM), trat die Wirkung bei der HM nach durchschnittlich 7,47min. (95%, Konfidenzintervall 7,03-7,9) und damit deutlich später als bei MS 222 (Mittelwert 2,63min.; 95%, Konfidenzintervall 2,35-3,92) ein.



Graphik 42: Wirkungseintritt, Grünliche Wassermolche

### Umkehrreflex

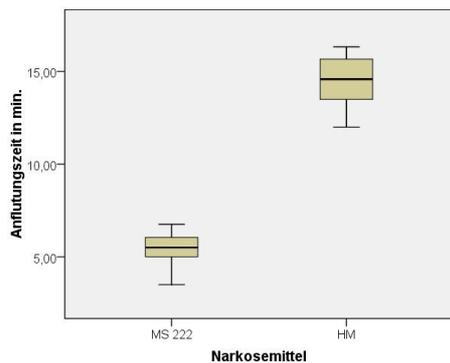
Bei der HM erlosch der Umkehrreflex im Schnitt nach 10,59min. (95%, Konfidenzintervall: 9,82-11,37), bei MS 222 schon nach durchschnittlich 4,33min. (95%, Konfidenzintervall: 3,84-4,83).



Graphik 43: Umkehrreflex, Grünliche Wassermolche

### Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes

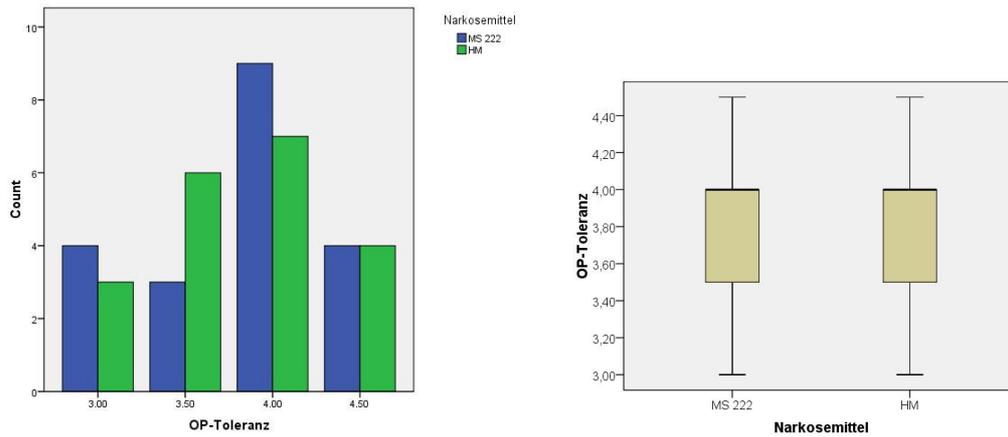
Auch in der Anflutungszeit gab es deutliche Unterschiede. Während die Tiere bei der HM im Schnitt nach 14,44min. (95%, Konfidenzintervall: 13,84-15,05) mit negativem Schmerzempfinden aus dem Becken genommen wurden, geschah dies bei MS 222 schon nach durchschnittlich 5,49min. (95%, Konfidenzintervall: 5,1-5,88).



Graphik 44: Anflutungszeit/ Ausbleiben des Schmerzreflexes, Grünliche Wassermolche

### OP-Toleranz

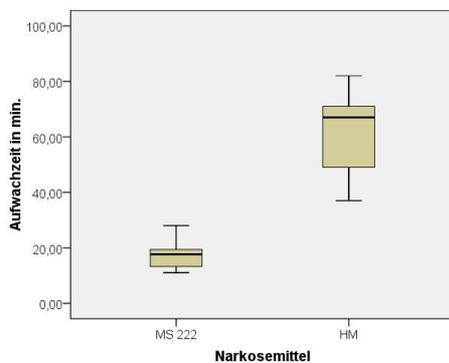
Auch hier gab es bei der OP-Toleranz zwischen den beiden Narkosemitteln keine starken Abweichungen. Sie betrug sowohl bei der HM als auch bei MS 222 im Schnitt 3,8 (Min 3,0 - Max 4,5).



Graphik 45 u. 46: OP-Toleranz, Grünliche Wassermolche

### Aufwachzeit

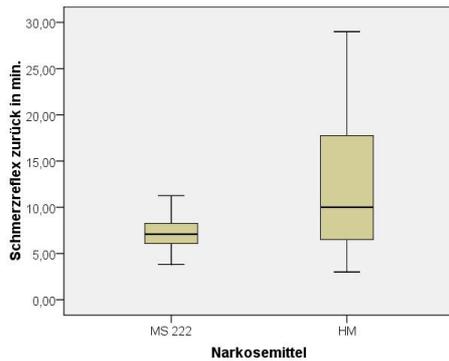
Die jeweiligen Aufwachzeiten unterschieden sich zwischen den beiden Narkosemitteln allerdings wieder deutlich. Im Schnitt waren die Tiere bei der Verwendung der HM nach 61,1min. (95%, Konfidenzintervall: 54,8-67,4) und bei der Verwendung von MS 222 bereits nach 16,71min. (95%, Konfidenzintervall: 14,77-18,67) wieder wach.



Graphik 47: Aufwachzeit, Grünliche Wassermolche

### Wiederauftreten des Schmerzreflexes

Der Zeitpunkt der Schmerzreflex-Rückkehr unterschied sich in den beiden Gruppen ebenfalls wieder. Bei der HM zeigten die Tiere im Schnitt nach 12,65min. (95%, Konfidenzintervall: 8,89-16,42) wieder eine Reaktion auf das Setzen eines Schmerzreizes, bei MS 222 bereits nach 7,26min. (95%, Konfidenzintervall: 6,33-8,19).



Graphik 48: Wiederauftreten des Schmerzreflexes, Grünliche Wassermolche

### 4.3. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

#### 4.3.1. Zwergkrallenfrösche

Als optimale Dosis der HM im Narkosebad ergab sich für die Zwergkrallenfrösche 1,2ml/l Wasser. Hiermit kam es nach durchschnittlich 6,44min. zu einem Wirkungseintritt. Der Umkehrreflex erlosch im Schnitt nach 8,8min. Die Anflutungszeit bis zum Ausbleiben sichtbarer Reaktionen auf einen Schmerzreiz dauerte bei dieser Dosis im Mittel 12,64min. Zu einer Rückkehr des Schmerzreflexes kam es im Durchschnitt nach 13,07min. Nach durchschnittlich 61,33min. waren die Tiere wieder völlig wach.

Mit einer MS 222 Dosis von 0,25g/l Wasser liefen die Narkosen im Allgemeinen deutlich schneller ab. Somit kam es nach im Schnitt 2,66min. deutlich schneller zu einem Wirkungseintritt. Auch mit einer durchschnittlichen Dauer von 4,12min. bis zum Verschwinden des Umkehrreflexes und 5,53min. bis zum Ausbleiben des Schmerzreflexes zeigte dieses Mittel eine schnellere Wirkung. Schmerzfrei blieben die Tiere im Mittel nach 3,34min. und waren im Schnitt nach 13,61min. wieder vollständig wach. Die OP-Toleranz war bei beiden Narkosemitteln fast gleich stark und sehr zufrieden stellend: mit einem Mittelwert von 3,9 lag die HM gegenüber MS 222 mit 3,6 etwas höher.

#### 4.3.2. Bananenfrösche

Es konnte keine ausreichende Dosierung für eine Tauchbad-Narkose mit HM gefunden werden. Nach einer erfolglosen Versuchsreihe mit 4,0ml HM/l Wasser wurden die Vorversuche wegen des erhöhten Risikos für die Tiere sowie aus Kostengründen abgebrochen.

Die Versuche mit 1,5g/l MS 222 führten zu einer zufriedenstellenden Narkose. Hier kam es nach durchschnittlich 1,8min. zu einem Wirkungseintritt. Nach im Schnitt 2,67min. verschwand der Umkehrreflex. Die Anflutungszeit bis zum Ausbleiben sichtbarer Reaktionen auf einen Schmerzreiz dauerte bei dieser Dosis im Mittel 3,27min. Die Tiere erreichten mit im Durchschnitt 3,6 eine zufriedenstellende OP-Toleranz. Nach durchschnittlich 29,61min. erlangten die Bananenfrösche ihr Schmerzempfinden zurück und waren im Schnitt nach 36,98min. wieder völlig wach.

#### 4.3.3. Grünliche Wassermolche

Bei dieser Amphibienart wurde eine HM Dosis von 2,0ml/l Wasser ermittelt und im Hauptversuch verwendet. Die Einleitung dauerte durchschnittlich 7,47min. Zum Verlust des Umkehrreflexes kam es im Durchschnitt nach 10,59min.; zum Verschwinden des Schmerzempfindens nach 14,44min. Im Schnitt trat nach 12,65min. das Schmerzempfinden wieder ein, und die Tiere wachten nach durchschnittlich nach 61,1min. wieder auf.

Bei 0,5g MS 222 /l Wasser trat eine Wirkung schon nach durchschnittlich 2,63min. ein. Der Umkehrreflex erlosch im Schnitt nach 4,33min. und der Schmerzreflex nach 5,49min. Ein Wiedererlangen des Schmerzempfindens zeigten die Molche im Schnitt nach 7,26min. Die Aufwachzeit betrug im Mittel 16,71min. Bei der OP-Toleranz gab es bei beiden Narkosemitteln keine starken Abweichungen. Sie war bei beiden Mitteln mit jeweils durchschnittlich 3,8 vollkommen ausreichend.

4.3.4. Fotos



Foto 5: Schwimmender Zwergkrallenfrosch 0,7g, 2min. nach dem Einsetzen ins Narkosebecken mit 1,2ml HM/l Wasser



Foto 6: Zwergkrallenfrosch beim Aufsteigen zum Lufthohlen

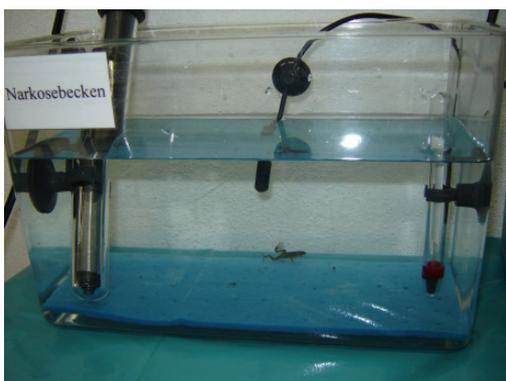


Foto 7: Zwergkrallenfrosch 0,6g kurz nach dem Einsetzen ins Narkosebad mit 1,2ml HM/l Wasser



Foto 8: Zwergkrallenfrosch 0,9g, nach 5min. 30sek. bei 1,2ml HM/l Wasser



Foto 9 u.10: Zwergkrallenfrosch 0,7g, mit negativem Umkehrreflex nach 10min. 45sek., bei 1,2ml HM/l Wasser

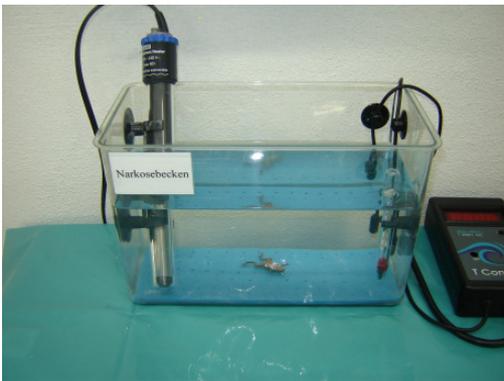


Foto 11 u. 12: Zwergkrallenfrosch 0,9g, mit negativem Umkehrreflex nach 5min. 30sek., bei 0,25g MS 222/l Wasser



Foto 13: Zwergkrallenfrosch 1,1g, mit ausreichender OP-Toleranz nach 13min. 20sek. bei 1,2ml HM/l Wasser

## 5. Diskussion

### 5.1. Diskussion der Methode

#### 5.1.1. Auswahl der Amphibienarten

Die drei Amphibienarten Zwergkrallenfrösche, Grünliche Wassermolche und Bananenfrösche wurden ausgewählt, um sowohl häufige Vertreter der Hobby- als auch der Versuchstierhaltung zu erfassen, aber auch um die verschiedenen Lebensräume und Klimabedingungen der Amphibien abzudecken. Bei Krallenfröschen handelt es sich neben dem Axolotl um die am häufigsten für Tierversuche gezüchteten und verwendeten Frösche, sie werden aber auch sehr gerne von Privatpersonen gehalten. Aufgrund einer zu erreichenden Körpergröße von bis zu 15cm und dem dadurch resultierenden Platzmangel wurde auf Zwergkrallenfrösche zurückgegriffen. In freier Wildbahn findet man diese Tiere in krautreichen Regenwald-Gewässern aller Art, wo sie eine ganzjährig aquatile Lebensweise führen. Sie bevorzugen Temperaturen von 20-28°C.

Der Grünliche Wassermolch wird häufig im Zoofachhandel zur Aquarienhaltung angeboten und gekauft. Die ersten Jahre verbringt er an Land. Die geschlechtsreifen Tiere leben überwiegend im Wasser und kommen nur gelegentlich an Land, während die Jungtiere die ersten Jahre ausschließlich an Land verbringen. In Freiheit findet man diese Tiere vom südöstlichen Kanada über den gesamten Osten und die Mitte der USA bis zum Golf von Mexiko, wo sie bei Temperaturen von 18-22°C in Laub- und Nadelwäldern leben.

Der Bananenfrosch gehört zu den beliebtesten in Terrarien gehaltenen Frösche. Er ist in natura ein Bewohner der ostafrikanischen Savannen, wo er von der Küste bis auf 1300m. Höhe anzutreffen ist. Er bevorzugt mit hohem Gras und Büschen dicht bewachsene Gebiete. Er ist nachtaktiv Tagsüber versteckt er sich bei Temperaturen von 24-28°C unter Laub. Er gehört zu den reinen Landbewohnern.

Mit diesen drei Arten wurden somit sehr häufig gehaltene Exemplare, aber gleichzeitig auch die drei unterschiedlichen Lebensformen der Amphibien abgedeckt. Die reinen Wasserbewohner, die reinen Landbewohner und solche, die sowohl das Wasser als auch das Land bewohnen. Die unterschiedlichen Umgebungstemperaturen der einzelnen Arten haben bei der Wahl der Versuchstiere eine zusätzliche Rolle gespielt, um auch hier ein möglichst großes Spektrum zu erfassen. Bei den durchgeführten Versuchen handelte es sich nicht um Letalversuche. Für diese drei Amphibienarten waren die Voraussetzungen zur anschließenden Haltung unter optimalen Bedingungen im Tierpark Hellabrunn gegeben.

### 5.1.2. Versuchsablauf und Beurteilung

Die Vorversuche dienten der Bestimmung einer optimalen HM Dosierung zur Narkose der 3 Amphibienarten.

Im Hauptversuch wurde die ermittelte Dosierung mit einer Standarddosis des Narkosemittels MS 222 verglichen.

Wie bereits in Kapitel 3.2.8.1.1. beschrieben wurde zur Datenerfassung ein eigens erstelltes Narkoseprotokoll verwendet. Eine Einteilung der einzelnen unter 2.2.8. beschriebenen Narkosestadien war selten möglich und wurde somit nicht ins Narkoseprotokoll übernommen. Dies lag einerseits daran, dass nicht immer alle Stadien nachvollziehbar bzw. klar von einander abzugrenzen waren, andererseits weil sich der Zeitraum zwischen dem Einsetzen ins Narkosebad und dem Herausnehmen besonders bei den sehr schnell ablaufenden MS 222 Narkosen zu kurz darstellte, um alle für eine genaue Zuordnung nötigen Kriterien zu überprüfen und zu notieren. Um dennoch einheitlich das Erreichen der geforderten OP-Toleranz beurteilen zu können, wurde das unter 3.2.8.1.1. dargestellte vereinfachte fünfstufige Schema entwickelt. Die Beurteilung der erreichten Narkosetiefe erfolgte anhand der unter 3.2.7.1.1. beschriebenen Kriterien. Hierzu zählten der komplette Verlust von Schwimmfähigkeit und Gleichgewicht, ein Ausbleiben des Umkehrreflexes sowie das Fehlen von Reaktionen auf Reize von außen. Die Bewertungskriterien Lidschluss-/Kornealreflex sowie die Mundbodenatmung wurden nicht mit in die Auswertung eingebracht, da deren Beurteilung nicht bei allen Versuchstieren möglich war, teilweise aufgrund der geringen Körpergröße, andererseits wegen des Ausbleibens einer Reaktion. So zeigten die Zwergkrallenfrösche, selbst im völlig wachen Zustand, keinerlei Reaktion bei Berührung der Augenlider mit einem Plastikstäbchen. Die Bananenfrösche hingegen reagierten bei Kontakt mit einem schnellen Schließen der Augen. Dieser Reflex ging mit Erreichen eines tieferen Narkosestadiums verloren. Ein gemischtes Verhalten zeigten die Wassermolche. Manche Tiere zeigten keinerlei, andere sofort eine Reaktion. Die Mundbodenatmung war bei den Zwergkrallenfröschen nur sehr schwach erkennbar und zudem durch große Atempausen gekennzeichnet. Sie war aufgrund der geringen Körpergröße und schwachen Intensität kaum zu erkennen. Bei den Wassermolchen und Bananenfröschen hingegen konnte diese von Beginn bis Ende des Versuchablaufs sehr gut überwacht werden. Als letzter Beurteilungspunkt wurde durch Stechen mit einer Einmalkanüle in die Oberschenkelmuskulatur das Aussetzen des Schmerzempfindens getestet. Zeigte das Tier keinerlei Abwehrreaktionen, wurde es aus dem Narkosebecken gehoben.

Obwohl schon allein deutlich auffällige Verhaltensweisen wie schnelle, hektisch wirkende Schwimmbewegungen und Versuche, aus dem Becken zu entkommen und subtilere Anzeichen von Erregung, wie das Auftreten leichter Muskelzuckungen, der Extremitäten als Exzitation beurteilt wurden, waren diese so

gut wie nie zu beobachten. BONATH (1977) beschreibt derartige Bewegungen erst in Verbindung mit Kotabsatz und vermehrtem Speichelfluß als Exzitationserscheinungen. Dieses Phänomen wurde jedoch auch von ihm nur selten beobachtet. Sowohl unter der HM als auch unter MS 222 verliefen die Einschlaf- sowie die Aufwachphase völlig ruhig.

Die genannten Parameter dienen gleichzeitig als einzige und ausreichende Methode zur Narkoseüberwachung. Ein Ultraschall-Dopplergerät, EKG oder Pulsoxymeter wie von CRAWSHAW 2003 oder HENKE & KÖLLE 2004 empfohlen, wurde nicht eingesetzt. Einerseits hätte sich ihr Einsatz, wie von HENKE & KÖLLE 2004 beschrieben, wegen der geringen Körpergröße der Tiere als sehr schwierig dargestellt, andererseits sollten die Narkosen auch für Tierärzte durchführbar sein, die keine solchen hochtechnisierten Geräte besitzen.

Die 5 Minuten außerhalb des Narkosebeckens nach Erreichen des geforderten Toleranzstadiums reichten aus, um alle nötigen Untersuchungen wie Wiegen, Vermessen und Reflexprüfung durchzuführen, sowie zum Erstellen von Foto- und Videoaufnahmen. Dies lässt vermuten, dass auch kleinere Eingriffe (OPs) ohne Probleme hätten durchgeführt werden können. Selbst nach Ablauf dieser Zeitvorgabe und beim Einsetzen ins Aufwachbecken zeigten alle Versuchstiere eine völlige Reflexlosigkeit. Erst nach kurzer Zeit im klaren Wasser ließ dieser Zustand nach. Aus Gründen der Praktikabilität wurde die niedrigste Dosis der HM als optimale Dosis festgelegt, bei der die Amphibien innerhalb von maximal 15 Minuten das geforderte OP-Toleranzstadium erreichten und innerhalb 60-90 Minuten wieder vollständig wach waren. Eine längere Einleitungs- und Aufwachphase würde einerseits einen größeren Personalaufwand zur Überwachung dieser kritischen Phasen bedeuten, andererseits, umso länger die Tiere in der Einleitung dem Narkosemittel ausgesetzt sind, desto größer ist die Belastung für den Stoffwechsel. Zudem steigen durch die Anhäufung des Pharmakons im Körper die Risiken für Komplikationen in der Aufwachphase. Mit zunehmender Aufenthaltsdauer fallen mehr und mehr von den Amphibien produzierte Stoffwechselprodukte und Ausscheidungen im Narkosewasser an, was eine zusätzliche Belastung für die Tiere bedeutet und die Anzahl der zu narkotisierenden Tiere deutlich einschränkt. Während der Vorversuche zeigte sich, wie unter 4.1.2. beschrieben, dass sich ein - bei niedrigen Dosen erreichtes - Narkosestadium auch durch ein längeres Belassen im Narkosebecken nicht weiter vertiefen ließ. Ein tieferes Stadium konnte erst durch eine weitere Dosissteigerung erreicht werden. Eine Anflutungszeit von viel weniger als 15 Minuten wurde nicht angestrebt, um die Tiere während der Einleitung genau beobachten und beurteilen zu können, was bei einem schnelleren Narkoseablauf nicht möglich gewesen wäre, wie es bei den sehr schnell ablaufenden MS 222 Narkosen der Fall war. Zudem hätte dies eine höhere Dosierung der HM bedeutet, was wiederum eine größere Belastung für das Tier und somit ein höheres Narkoserisiko dargestellt hätte.

Im Hauptversuch wurden, zum Vergleich mit dem seit langem in der Amphibienanästhesie verwendeten MS 222, alle Versuchstiere mit beiden Narkosemitteln narkotisiert. Da das Ziel dieser Arbeit nicht darin bestand, die optimale MS 222 Dosierung für die verwendeten Arten zu ermitteln, sondern nur zu vergleichen, ob eine HM Narkose eine Alternative zur bewährten Methode darstellt, wurden bei MS 222 Standarddosierungen aus Literatur, Erfahrungen der Tierklinik LMU München und des Tierparks Hellabrunn angewendet.

Laut statistischer Planung und Tierversuchsantrag standen für die Vorversuche je Amphibienart 50 Versuchstiere und 5 Ersatztiere, für die Hauptversuche 20 Versuchstiere und 5 Reservetiere zur Verfügung. Da bei den Vorversuchen mehr Dosisstufen zur Ermittlung der optimalen Dosis nötig waren wurden teilweise die Ersatztiere aus den Hauptversuchen mit einbezogen. So wurden in den Vorversuchen 59 Zwergkrallenfrösche, 53 Bananenfrösche und 56 Grünliche Wassermolche verwendet. Die Gesamtzahl von 80 Tieren pro Art musste aber nie überschritten werden, da für die Hauptversuche keinerlei zusätzliche Tiere benötigt wurden. Im Hauptteil wurden 10 Tiere mit MS 222 und 10 Tiere mit HM anästhesiert. Nach einer Ruhezeit von 14 Tagen wurden diese Gruppen mit jeweils dem anderen Anästhetikum ein zweites Mal narkotisiert. Somit konnten pro Narkotikum 20 Ergebnisse in die Auswertung eingehen. Zudem konnten dadurch individuelle Narkoseempfindlichkeiten einzelner Tiere ausgeschlossen werden. Eine Vorbelastung durch die erste Narkose konnte nach der Erholungsphase von 14 Tagen nahezu ausgeschlossen werden.

Nachdem in den Vorversuchen der Bananenfrösche keine ausreichende HM Dosierung gefunden werden konnte, wurden im Hauptversuch nur einmal 10 Tiere mit MS 222 betäubt, um dessen Wirkung zu bestätigen.

Eine wie unter 2.2.4.10. und 2.2.4.11. beschriebene Antagonisierung der HM wurde nicht in Betracht gezogen. Einerseits sollte ein direkter Vergleich mit MS 222 gezogen werden, für welches jedoch keine Möglichkeit der Antagonisierung besteht, andererseits würde diese Möglichkeit in der Praxis aus Kostengründen vermutlich kaum Anwendung finden.

## **5.2. Diskussion der Ergebnisse**

### 5.2.1. Zwergkrallenfrösche

Die Vorversuche bei den Zwergkrallenfröschen ergaben, dass die Verwendung von Osmosewasser zur Herstellung des Narkosebades ungeeignet ist. Auch bei kontinuierlichen Dosiserhöhungen der HM von 0,2ml/l auf 2,4ml/l konnte keine stärkere Wirkung erzielt werden als sehr leichte Gleichgewichtsstörungen. Selbst wenn die Tiere 60 statt die vorgeschriebenen 30min. im Narkosebad belassen wurden, fand keine Vertiefung der

Narkose statt. Daraufhin wurde eine neue Versuchsreihe mit Leitungswasser aus dem eigenen Brunnen des Tierparks (Aqua fontis) durchgeführt. Hier zeigten 5 Frösche mit einer Dosis von 0,8ml HM/l Wasser nach durchschnittlich 14,3min. eine beginnende Wirkung in Form von deutlichen Ataxien und nach im Mittel 18,43min. einen negativen Umkehrreflex. Das Schmerzempfinden blieb dauerhaft erhalten. Bei weiteren Steigerungen der Dosis auf 1,0 und 1,2ml HM/l Wasser zeigte sich eine deutliche Verkürzung der Zeiten bis zum Wirkungseintritt, sowie bis zum Erlöschen des Umkehrreflexes. Ein Verschwinden des Schmerzreflexes und die gewünschte OP-Toleranz konnten jedoch auch hiermit nicht erreicht werden.

Da auch die HM wie MS 222 den pH-Wert des Narkosewassers senkt, wurde eine letzte Vorversuchsreihe gestartet, wobei das Narkosebad, wie in Kapitel 2.2.4.1. und 3.2.7.1.2. beschrieben, mit Natriumbicarbonat gepuffert wurde (HENKE & KÖLLE 2004, LONGLEY 2008, CRAWSHAW 1992, CRAWSHAW 2003, HILKEN et al. 1997, HALLIDAY 1999). Laut DOWNES (1995) ist eine ungepufferte MS 222 Narkosebadlösung aufgrund der hohen Ionenanzahl schwer bis überhaupt nicht über die Haut absorbierbar. Dies gilt vermutlich auch für eine Lösung mit HM. „Eingehende Untersuchungen über den Einfluß der Wasserbeschaffenheit auf die Tauchbadnarkose liegen nicht vor. [...] Im Zusammenhang mit der Narkose der Fische gibt es zahlreiche Beobachtungen, wonach durch Änderung der Wasserzusammensetzung (Ca, NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, pH-Wert) die Reaktion auf ein und dieselbe Konzentration eines Narkotikums völlig unterschiedlich sein können (BONATH 1977). Für die Zukunft wäre es interessant, den Zusammenhang zwischen Resorbierbarkeit des Narkosemittels und dem pH-Wert der Narkosebadlösung bzw. anderen Wasserparametern näher zu untersuchen.

Bei den ersten 10 Tieren zeigte sich schon bei einer Dosis von 0,8ml HM/l Wasser im Vergleich zum ungepufferten Narkosebad eine deutlich stärkere Wirkung. Hier erfolgte der Wirkungseintritt nach durchschnittlich 7,16min. Nach ~13,87min. kam es zum Erlöschen des Umkehrreflexes. Zusätzlich konnte bei 90% der Tiere nach ~19,93min. bei der Überprüfung des Schmerzempfindens keine Reaktion mehr festgestellt werden. Die gewünschte OP-Toleranz konnte dennoch nur bei 20% der Tiere erreicht werden. Eine Dosis von 1,0ml HM/l Wasser führte bei 10 weiteren Versuchstieren nach ~6,00min. zu ersten Ataxien, nach ~10,47min. zum Verlustes des Umkehrreflexes und nach ~16,05min. bei allen Versuchstieren zu einem Ausbleiben des Schmerzreflexes. Auch wenn bei 100% der Frösche die geforderte OP-Toleranz erreicht werden konnte, so lag bei 70% die Anflutungszeit noch knapp über 15min. Erst mit einer Dosis von 1,2ml HM/l Wasser erreichten alle Tiere die geforderte OP-Toleranz innerhalb von 15min. Hier erfolgte der Wirkungseintritt innerhalb ~5,47min., das Erlöschen des Umkehrreflexes nach ~7,78min. und das Verschwinden des Schmerzempfindens nach ~11,72min. Somit wurde die optimale Dosis auf 1,2ml/l HM festgesetzt und im Hauptversuch verwendet. Hier wurden 20 Tiere einmal mit 1,2ml HM/l Wasser und ein weiteres Mal mit einer MS 222 Dosis von 0,25g/l

Wasser narkotisiert. Vergleicht man den Narkoseverlauf unter HM mit dem unter MS 222, so zeichnete sich unter HM ein signifikant langsamerer Ablauf ab. Erfolgte der Wirkungseintritt bei den Narkosen mit 1,2ml HM/l Wasser nach durchschnittlich 6,44min., so trat dieser unter MS 222 mit 2,66min. etwa doppelt so schnell ein. Auch bis zum Ausbleiben des Umkehrreflexes und dem Erlöschen des Schmerzreflexes, was mit der Abflutungszeit gleich zu setzen ist, benötigten die Versuchstiere unter HM mit 8,8min. und 12,64min. wiederum doppelt so lange wie Versuchsgruppen unter MS 222 mit 4,12min. und 5,53min. Bei der erreichten OP-Toleranz zeigte sich kaum ein Unterschied. Sowohl unter HM als auch unter MS 222 konnte mit den verwendeten Dosierungen bei allen Tieren eine ausreichende OP-Tiefe erreicht werden. Bei der Aufwachzeit und der Wiederkehr des Schmerzempfindens waren die Zeitabstände bei einer Narkose mit 0,25g MS 222 hingegen wieder deutlich kürzer. Während die Zwergkrallenfrösche unter MS 222 nach 3min. wieder ein Schmerzempfinden zeigten und nach 13,6min. wieder völlig wach waren, dauerte es bei der HM mit 13min. und 61min. mehr als viermal so lang. Auffallend waren hier die großen zeitlichen Schwankungen der Aufwachzeiten unter der HM von bis zu 14min. Unter MS 222 betrug diese nur maximal 3min.

#### 5.2.2. Grünliche Wassermolche

Die Vorversuche wurden - wie bei allen Amphibienarten - mit einer Anfangsdosis von 0,2ml HM/l Wasser begonnen. Die Dosierung wurde auch hier jeweils um 0,2ml HM/l Wasser gesteigert. Erste Annäherungen an die angestrebte Narkosetiefe konnte mit einer Dosis von 1,2ml HM/l Wasser erreicht werden. Bei den 5 Tieren setzte nach 11,4min. die Wirkung der HM ein. Nach 15,4min. zeigten 100% einen negativen Umkehrreflex, und 40% dieser Versuchstiere zeigten zudem nach 22min. auch keinerlei Schmerzempfinden mehr. Dieses Stadium hielt allerdings nur bis zum Herausnehmen der Tiere aus dem Narkosebecken an. Bei den übrigen 60% löste das Stechen mit einer Kanüle sofort heftige Abwehrbewegungen aus. Auch bei einer Dosierung von 1,4ml HM/l Wasser konnte nur bei 80% der Tiere eine Schmerzfreiheit erzielt werden. Die angestrebte OP-Toleranz konnte bis zu diesem Zeitpunkt bei keinem der untersuchten Tiere festgestellt werden. Schon mit der nächsten Dosisstufe von 1,6ml HM/l Wasser konnte bei allen Versuchstieren eine Schmerzfreiheit zusammen mit der angestrebten OP-Toleranz erreicht werden. Alleine die Anflutungszeit von 19,8min. lag noch deutlich über den geforderten 15min. Letztlich konnte mit einer Dosis von 2,0ml HM/l Wasser die Anflutungszeit auf 13,93min. verkürzt werden, ohne dass die Tiere in ein zu tiefes Narkosestadium fielen. Nachdem hier alle 10 Tiere trotz Dosiserhöhung einen zufriedenstellenden operationsfähigen Narkoseverlauf zeigten, wurde diese Dosierung für den Hauptversuch als optimal bewertet.

Im Hauptversuch wurde die HM-Dosis von 2,0ml HM/l Wasser mit einer MS 222 Dosis von 0,5 g/l verglichen. Unter der HM dauerte die Narkoseeinleitung wie bei den Zwergkrallenfröschen deutlich länger als bei der Narkose mit MS 222. Im Schnitt waren die Zeiten bis zum Wirkungseintritt, einem negativen Umkehr- und Schmerzreflex sowie die Anflutungszeit mehr als doppelt bis fast dreimal so lang. Unter MS 222 vergingen 2,63min., bis erst Anzeichen einer Wirkung zu erkennen waren, sowie 4,33min. bis zum Ausbleiben des Umkehrreflexes und 5,49min. bis zum Erlöschen des Schmerzempfindens, was mit der Anflutungszeit gleichgesetzt wurde. Die deutlich längeren Zeiten unter der HM betragen 7,47min. bis zum Wirkungseintritt. Nach 10,59min. erfolgte kein selbstständiges Zurückdrehen aus der Rückenlage mehr, und nach 14,44min. konnten die Tiere ausreichend narkotisiert aus dem Becken genommen werden. Bei der erreichten OP-Toleranz gab es keinerlei Unterschiede zwischen der HM und MS 222. Alle 20 Versuchstiere erreichten ohne Probleme ein operationsfähiges Stadium. Bei der Aufwachzeit und dem Ausbleiben des Schmerzreflexes ergaben sich wieder deutliche Zeitunterschiede. Unter den Narkosen mit 2,0ml HM/l Wasser dauerte es im Schnitt 16,65min. bis zur Rückkehr des Schmerzempfindens und 61,1min. bis die Tiere wieder völlig aus der Narkose erwacht waren. Diese Zeiten wurden mit der MS 222 Dosierung von 0,5g/l Wasser deutlich unterschritten. Hier zeigten die Molche nach durchschnittlich 7,26min., also nach etwa halb so langer Zeit, eine positive Reaktion beim Setzen eines Schmerzreizes und waren mit einer Aufwachzeit von 16,71min. mehr als dreimal so schnell wieder vollständig wach. Auch hier zeigten die Tiere unter der HM deutliche Schwankungen in den Aufwachzeiten, teilweise bis zu 13min.

### 5.2.3. Bananenfrösche

Wie bei den anderen beiden Versuchstierarten wurde auch bei den Bananenfröschen mit einer Dosis von 0,2ml HM/l Leitungswasser begonnen und kontinuierlich gesteigert. Erst ab einer Dosis von 1,0ml HM/l Wasser zeigten 20% der Versuchstiere schwache Anzeichen einer Wirkung in Form von leichten Gleichgewichtsstörungen. Daraufhin erfolgte eine Erhöhung in größeren Schritten. Es wurden jeweils 10 Tiere in Bäder mit einer HM-Dosierung von 1,5ml/l, 2,0ml/l, 3,0ml/l und 4,0ml/l Wasser gesetzt. Trotz der großen Mengen an HM konnte bei allen Dosierungen im Vergleich zum Durchgang mit 1,0ml HM/l Wasser keinerlei Vertiefung festgestellt werden. Die Tiere zeigten ebenfalls ausschließlich ggr. Ataxien. Laut HENKE & KÖLLE (2004) ist bekannt, dass Tiere wie z.B. Krötenartige (Bufonidae) mit dicker, trockener und weniger vaskularisierter Haut, Narkotika deutlich langsamer aus dem Wasser aufnehmen und deshalb die doppelte Menge an MS 222 benötigen. Auch BONATH (1977) beschreibt dieses Phänomen und rät dazu die „lange

Verzögerung der Einleitungsphase durch hohe Narkosemittelkonzentrationen im Tauchbad auszugleichen“. Mit der HM konnte jedoch trotz höherer Dosierungen keinerlei Narkosevertiefung erreicht werden. Aus finanziellen, vor allem aber aus Tierschutzgründen wurden daraufhin die Vorversuche mit dem Ergebnis abgebrochen, dass bei Bananenfröschen die Aufnahme der HM über die Haut zu gering ist oder zu langsam erfolgt, um eine ausreichende Narkose zu erzielen.

Anmerkung:

Eine Narkose mit HM ist dennoch möglich, allerdings nicht in Form eines Narkosebades. Eine intramuskuläre Injektion, wie sie von BONATH (1977) als Alternative bei anderen Narkosmitteln empfohlen wird, lieferte sehr gute Ergebnisse. Dies zeigte zumindest die Anwendung bei einem Bananenfrosch, der nach Abschluss der Versuchsreihe, während der dreiwöchigen Beobachtungszeit, eine Verletzung am Rücken erlitten hatte. Zu diesem Zeitpunkt stand kein MS 222 zur Verfügung und eine Bestellung dauert in der Regel mindestens 2 Tage. Dem 3,1g schweren Tier wurde eine Dosis von 0,5ml HM/kg (Verdünnung 1:20) in die Oberschenkelmuskulatur injiziert. Der Wirkungseintritt zeigte sich nach 2,75min. in Form von unkoordinierten Bewegungen. Ein Verlust des Umkehrreflexes stellte sich nach 5,6min. ein. Nach 13,75min. zeigte ein negativer Schmerzreflex das Erreichen der OP-Toleranz an, und die Wunde konnte ohne Probleme chirurgisch versorgt werden. Nach etwa 90min. war das Tier wieder vollständig wach. Auch 3 Monate nach diesem Eingriff konnten keine Spätfolgen festgestellt werden, und das Tier erfreut sich bester Gesundheit. Trotz der geringen Fallzahl (n=1) lässt dies vermuten, dass bei Tieren, bei denen ein Tauchbad mit HM keine Wirkung zeigt, die Möglichkeit besteht, diese Tiere durch Injektion der HM sicher in Narkose zu versetzen. Für eine einfachere Dosierbarkeit (größeres Volumen) empfiehlt sich jedoch eventuell die Verwendung von 5%igem Ketaminhydrochlorid und 2%igem Xylazinhydrochlorid anstelle des 10%igen Ketamins und der Xylazintrockensubstanz. Eine Injektionsanästhesie sollte jedoch nach Ansicht des Autors nur zum Einsatz kommen, wenn eine Tauchbadnarkose nicht möglich ist, da die Injektion eine Fixation der Tiere erforderlich macht, wodurch es wiederum zu Verletzungen der empfindlichen Amphibienhaut kommen kann.

Um die Wirkung von MS 222 zu bestätigen, wurden im Hauptversuch 10 Tiere mit einer Dosis von 1,5g MS 222/l Wasser narkotisiert. Erste Anzeichen einer Wirkung zeigten die Tiere schon nach 1,8min. Nach 2,67min. setzte der Umkehrreflex und nach 3,27min. das Schmerzempfinden aus, worauf die Tiere aus dem Becken genommen wurden. Die OP-Toleranz war bei all diesen Tieren ausreichend. Mit 29,61min. bis zur Rückkehr des Schmerzreflexes und einer Aufwachzeit von 36,89min. dauerten diese Phasen im Vergleich zu den MS 222

Narkosen der anderen zwei Amphibienarten deutlich länger. Auffallend sind ebenfalls die großen zeitlichen Schwankungen innerhalb dieser beiden Parameter. So dauerte es bei einigen Tieren nur 11min., bei anderen bis zu 47min. bis zum Wiedererlangen des Schmerzempfindens und bis zum vollständigen Erwachen zwischen 25 und 58min. Die sehr schnelle Anflutungszeit und die teilweise sehr lang andauernde Wirkung lassen vermuten, dass die Dosierung von 1,5g MS 222/l Wasser etwas zu hoch angesetzt war. Gegen eine Überdosierung spricht wiederum die konstante Einleitungszeit von 3 bis 4min. Diese Zeiten entsprachen denen der anderen zwei Versuchstierarten. Es wurde eine Standarddosierung für Frösche (s.a. Tabelle 1) verwendet.

### **5.3. Schlussbetrachtung**

Betrachtet man die Ergebnisse aller in den Vor- und Hauptversuchen mit der HM durchgeführten Narkosen, so zeigen diese, dass die HM durchaus eine sehr gute Alternative zu der seit Jahren gängigen Narkose mit MS 222 darstellt. Eine Ausnahme stellen laut unserer Versuchsergebnisse die Bananenfrösche dar, bei denen eine Tauchbadnarkose nicht möglich war. Auch bei Tauchbadnarkosen mit MS 222 gibt es laut BONATH (1977) einige Amphibienarten, wie z.B. die Feuersalamander (*Salamandra terrestris*), bei denen MS 222 auch in höheren Dosierungen keine narkotisierende Wirkung zeigt. So führte bei diesen Tieren selbst eine Dosis von 3g MS 222/l Wasser nach einer Einwirkungsdauer von 50 Minuten zu keiner Anästhesie. Für eine grundlegende Empfehlung der Verwendung der HM bei Amphibien wäre es aus diesem Grund interessant, weitere Versuchsreihen mit anderen, besonders aber mit landlebenden Amphibienarten durchzuführen.

Die Narkosen mit der HM zeigten mit den von uns verwendeten Dosierungen eine deutlich langsamere Anflutung und längeren Verlauf als die MS 222 Narkosen. Dies erwies sich allerdings nicht als negativ, da dadurch - während der Einleitungsphase - eine sehr genaue Beobachtung und Überprüfung der unter 2.2.7. beschriebenen, für eine intensive Narkoseüberwachung wichtigen Kriterien, möglich war. Auch für den klinischen Einsatz scheint eine etwas langsamere Anflutungszeit durchaus von Vorteil, da dadurch die gewünschte Narkosetiefe sicher bestimmt werden kann und kaum die Gefahr besteht, die Tiere in ein zu tiefes und lebensgefährdendes Narkosestadium zu überführen. Dass die Tiere dabei länger dem Narkosemittel ausgesetzt sind, stellt nach unseren Untersuchungen keine zusätzliche Gefahr dar. Mit einer Anflutungszeit von maximal 15 Minuten, war die Dauer, die die Amphibien dem Narkosemittel ausgesetzt waren, immer noch so kurz, dass sie keine Gesundheitsgefährdung für die Tiere darstellte. THURMON et al. (1996) und MUTSCHMANN (1998, 2004) berichten für den Einsatz von MS 222 sogar von Induktionszeiten von bis zu 30 Minuten ohne Gefährdung der Amphibien.

Die Tatsache, dass alle 208 mit HM durchgeführten Narkosen ohne jegliche Komplikationen abliefen und auch weit über die dreiwöchige Nachbeobachtungszeit hinaus keinerlei Spätfolgen auftraten, spricht für eine sehr schonende Narkoseform. Alle Tiere erfreuen sich bester Gesundheit. Interessant wäre sicherlich auch die genaue Bestimmung der therapeutischen Breite der HM bei Amphibien. Um diese korrekt zu überprüfen, hätte jedoch die Letaldosis untersucht werden müssen, was keinesfalls im Sinne dieser Arbeit lag.

Die Vorversuche der Zwergkrallenfrösche haben gezeigt, dass der Erfolg der Tauchbadnarkose mit HM stark von der Wasserwahl und deren pH-Wert abhängt (s.d. Kapitel 4.1.2.1., 4.1.2.2. u. 4.1.2.3.). Durch die Pufferung des Leitungswassers mit NaBic wies das Narkosebad mit HM einen pH-Wert im neutralen Bereich von 7-8 auf, wie es von RAPHAEL (1993) und CRAWSHAW (2003) für Narkosen mit MS 222 empfohlen wird. Somit war das Narkosebad für die empfindliche Haut der Amphibien gut verträglich. Mit den Dosierungen von 1,2ml HM/l Wasser bei den Zwergkrallenfröschen und 2,0ml HM/l bei den Grünlichen Wassermolchen konnte eine gute Immobilisation, Muskelrelaxation und Analgesie erreicht werden. Wie unter 2.1.2.3. und 3.2.8.1.1. beschrieben, stützt sich die Annahme einer ausreichenden Analgesie auf Ausführungen von MACHIN (1999), BRENNER et al. (1994), LEE & FRANK (1991) und LETCHER (1992), wonach  $\alpha$ 2-Agonisten (Xylazin), Ketamin und MS 222 auch bei Amphibien eine analgetische Wirkung zeigen. Durch  $\alpha$ 2-Agonisten bzw. Ketamin vermittelte analgetische Effekte gelten bei Säugetieren als gesichert (LÖSCHER et al. 2006). Das alleinige Ausbleiben von Abwehrbewegungen unter Anästhesie, wie in der vorliegenden Arbeit beschrieben, ist für eine abschließende Beurteilung der analgetischen Wirksamkeit eines Anästhetikums jedoch nicht ausreichend. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit der Versuch unternommen, Veränderungen von Herz- und Atemfrequenz infolge der schmerzhaften Stimulation zu erfassen. Dies hätte weitergehende Rückschlüsse auf die jeweils vermittelte Analgesie zugelassen, jedoch erwiesen sich solche Untersuchungen, wie unter 5.1.2. beschrieben, als sehr schwierig und waren deshalb nur selten möglich. Festzuhalten ist jedoch, dass die Tiere, bei denen die Atmung gut zu erkennen war, keinerlei Frequenzsteigerung beim Setzen des Schmerzreizes zeigten. Die Untersuchung der analgetischen Wirksamkeit von MS 222 bzw. HM wäre Thema für weitere Arbeiten. Nachdem bei Säugetieren große Unterschiede in der Wirkung von Ketamin und vor allem Xylazin bestehen (EBERT et al. 2002), müssen auch bei Amphibien unterschiedliche und speziesspezifische Reaktionen erwartet werden. Um mit Sicherheit eine ausreichende Analgesie zu gewährleisten, empfiehlt sich bei schmerzhaften Eingriffen zusätzlich eine Lokalanästhesie. Ein Ausbleiben einer Reaktion auf den schmerzhaften Stimulus hielt im Vergleich zu MS 222 mit HM deutlich länger an, was bei längeren Eingriffen von Vorteil ist. Eine interessante Fragestellung für zukünftige Studien wäre womöglich, ob die Kombination von MS 222 und

Ketamin gegebenenfalls eine Narkose mit schneller Anflutung und länger andauernder Analgesie zu vermitteln vermag.

Eine Erhöhung der MS 222 Dosierung hätte möglicherweise auch die Analgesiedauer verlängert. Dies wurde jedoch in der vorliegenden Studie nicht untersucht. Es kann davon ausgegangen werden, dass, auch wenn bei den MS 222 Narkosen nur Standarddosierungen verwendet wurden, diese Dosierungen eher höher angesetzt waren. Dies ergibt sich daraus, dass die Tiere teilweise schon nach sehr kurzer Zeit das gewünschte Narkosestadium erreichten. Eine weitere Erhöhung hätte diese Zeiten noch weiter verkürzt, was die Überwachung und Beurteilung der Narkosetiefe unmöglich gestaltet und die Tiere zudem noch stärker belastet hätte. Unter der HM zeigten die Tiere innerhalb der Gruppen große zeitliche Schwankungen in den Aufwachzeiten, dennoch verlief die Aufwachphase bei allen Tieren entspannt und ohne Zwischenfälle, obwohl die Tiere durch das ständige Überprüfen der Reflexe und Reize von außen einem ständigen Stress ausgesetzt waren.

BONATH (1977) ist der Meinung, dass bei Amphibien auch in tiefer Narkose keine völlige Muskelrelaxation erreicht werden kann. Diese Ansicht konnte bei keiner der im Hauptversuch durchgeführten Narkosen bestätigt werden. Alle Tiere - sowohl unter Narkosen mit MS 222 als auch mit HM - zeigten eine völlige Relaxation.

Die HM bietet im Vergleich zu MS 222 den Vorteil, dass sie leicht zu beschaffen bzw. leicht selber herzustellen ist, da bei den meisten Tierärzten Ketamin und Xylazin zum Grundbestand der eigenen Hausapotheke zählt. Zudem ist die fertige Lösung, wie unter Punkt 2.2.4.11. beschrieben, sehr lange haltbar. Im Gegensatz zu MS 222 ist sie besonders thermostabil und muss nicht gegen Sonnenlicht geschützt werden. Die gute Wasserlöslichkeit der Komponenten Ketaminhydrochlorid und Xylazinhydrochlorid sowie der fertigen Mischung spielt bei der Verwendung als Narkosebad eine ebenso wichtige Rolle wie eine sichere und ungefährliche Handhabung für den Anwender. Die HM kann, wie MS 222, über die Schleimhaut oder kleinere Hautverletzungen resorbiert werden. Aus diesem Grund sollten bei ihrer Verwendung immer Einmalhandschuhe getragen werden. Für den Umgang mit Amphibien gilt dies generell, um die empfindliche Haut der Tiere nicht zu verletzen.

Während Ketamin schon öfter bei Amphibiennarkosen als Injektionsnarkose eingesetzt wurde, war die Kombination mit Xylazin, sowie die Anwendung per Bad bis jetzt relativ unerforscht. Auch das Medikament Xylazinhydrochlorid an sich wurde bei Amphibien bisher kaum benutzt. Dies zeigt sich daran, dass die Anwendung von Xylazin, wie unter Punkt 2.2.4.10. beschrieben, kaum in der Literatur erwähnt wird. Anhand dieser Arbeit konnte jedoch eine gute Wirkung und Verträglichkeit in Kombination mit Ketaminhydrochlorid bei Amphibien gezeigt werden.

Alle diese Punkte zeigen, dass die HM eine wirkliche Alternative zu den üblichen für Tauchbadnarkosen bei Amphibien verwendeten Medikamenten darstellt. Auch wenn durch diese Arbeit nur die gute Wirkung an Zwergkrallenfröschen und Grünlichen Wassermolchen belegt wurde, ist zu erwarten, dass diese Ergebnisse auf viele weitere Amphibienarten übertragen werden können. Bei Arten, wie z.B. den Bananenfröschen, bei denen mit der HM keine ausreichende Wirkung erzielt werden kann, kann der Einsatz der HM als Injektionsnarkose in Betracht gezogen werden. Da dies im Rahmen unserer Untersuchungen lediglich bei einem Tier durchgeführt wurde, wäre eine separate Arbeit zum Einsatz von Injektionsnarkosen mit HM bei Amphibien wünschenswert.

## 6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde die sogenannte „Hellabrunner Mischung“ (HM) - eine Kombination aus Ketamin- und Xylazinhydrochlorid - auf ihre Eignung zur Anwendung als Tauchbadnarkose bei Amphibien untersucht (1ml dieser Lösung enthält etwa 100mg Ketamin und 125mg Xylazin).

Die Wirksamkeit der HM wurde bei Zwergkrallenfröschen (*Hymenochirus böttgeri*), Bananenfröschen (*Afrixalus fornasini*) und Grünlichen Wassermolchen (*Notophthalmus viridescens*) überprüft und anschließend mit dem seit langem zur Tauchbadnarkose bei Amphibien verwendeten Narkosemittel MS 222 (Tricain) verglichen. Zur Ermittlung einer geeigneten Dosierung der HM wurden in Vorversuchen bei allen drei Amphibienarten die Parameter Wirkungseintritt, Erlöschen des Umkehr-/Schmerzreflexes, Anflutungszeit, Rückkehr des Schmerzempfindens, Aufwachzeit und die erreichte Narkosetiefe bei verschiedenen Konzentrationen der HM im Narkosebad bestimmt und bewertet. Die dadurch speziell für jede Versuchstierart als optimal erkannte Dosis wurde in den Hauptversuchen bei 20 Tieren pro Amphibienart mit einer Standarddosis von MS 222 verglichen. Dabei wurde die Hälfte der Amphibien zunächst mit der HM betäubt, die andere mit MS 222. Nach einer vierzehntägigen Ruhephase wurden diese Gruppen mit dem jeweils anderen Narkosemittel behandelt, sodass alle Tiere je einmal mit der HM und einmal mit MS 222 untersucht werden konnten. Die Temperatur des Narkosebades wurde dabei den jeweiligen Haltungsansprüchen der Amphibien angepasst und betrug für die Zwergkrallenfrösche ( $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), die Bananenfrösche ( $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) und die Grünlichen Wassermolche ( $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Als ideale Dosierungen der HM für Zwergkrallenfrösche wurden 1,2ml HM/l Wasser und für Grünliche Wassermolche 2,0ml HM/l ermittelt. Bei den Bananenfröschen war eine vollständige Narkose mittels der HM auch bei sehr hohen Dosierungen nicht möglich. Bei diesen Tieren besteht lediglich die Möglichkeit einer Injektionsnarkose mit der HM.

Bei den anderen beiden Amphibienarten ließ sich in den Hauptversuchen bei allen Tieren mit den jeweiligen Konzentrationen eine Anflutungszeit von maximal 15 Minuten erreichen (12-15 Minuten). Die Aufwachzeit dauerte zwischen 54 und 67 Minuten. Mit Ausnahme der Bananenfrösche konnte bei allen Tieren ein operationsfähiges Narkosestadium hervorgerufen werden. Die Analgesie hielt bei diesen Tieren mit 9 bis 19 Minuten im Vergleich zur Narkose mit MS 222 deutlich länger an. Eine Tauchbadnarkose mit MS 222 war bei allen drei Arten erfolgreich. Mit einer MS 222 Dosierung von 0,25g/l Wasser bei den Zwergkrallenfröschen, 1,5g/l Wasser bei den Bananenfröschen und 0,5g/l Wasser bei den Grünlichen Wassermolchen verliefen Anflutungs- und Aufwachphase deutlich schneller. Im Vergleich zur HM blieb der Schmerzreflex wesentlich kürzere Zeit ausgeschaltet. Während sich diese Zeiten unter MS 222 bei den Zwergkrallenfröschen und den

Grünlichen Wassermolchen mit einer Induktionszeit von 5 bis 6 Minuten, einer Schmerzausschaltung von 3 bis 8 Minuten und einer Aufwachdauer von 12 bis 19 Minuten einheitlich und ohne großen Abweichungen darstellten, zeigten die Bananenfrösche sehr große Schwankungen im Hinblick auf Analgesie und Wiedererwachen. So dauerte es hier bei einigen Tieren nur 11, bei anderen bis zu 47 Minuten bis zum Wiedererlangen des Schmerzempfindens und zwischen 25 und 58 Minuten bis zum vollständigen Erwachen. Mit MS 222 konnte bei allen Versuchstieren eine ausreichende OP-Toleranz erreicht werden.

Sowohl bei der HM als auch bei MS 222 traten während der Einschlaf- und Aufwachphase keinerlei Komplikationen auf. Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob die HM eine mögliche Alternative zu den herkömmlichen Tauchbadanästhetika darstellt. Die Ergebnisse zeigen, dass speziesabhängig mit der „Hellabrunner Mischung“ eine effektive und dennoch besonders schonende Möglichkeit der Tauchbadnarkose bei Amphibien zur Verfügung steht. Bei den Arten, bei denen mit einem Bad keine ausreichende Wirkung erzielt werden kann, sollte der Versuch einer Injektionsnarkose mit HM in Betracht gezogen werden.

## 7. Summary

In this study the so called „Hellabrunner Mischung“ (Hellabrunn mixture) (HM) - a combination of ketamine- and xylazinehydrochloride - was examined to find out, whether it is suitable to be applied in immersion bath anesthesia for amphibians. 1ml of this solution contains approximately 100mg ketamine and 125mg xylazine.

The effectiveness of this combination was tested on african dwarf frogs (*Hymenochirus böttgeri*), fornasini's spiny reed frogs (*Afrivalus fornasini*) and eastern newts (*Notophthalmus viridescens*) and compared with the long-serving anaesthetic MS 222 (tricaine) afterwards.

To establish a suitable dose of HM in the anaesthetic immersion bath the parameters onset of action, fading of the pain reflex, the ability of the animals to erect when being put on their backs, induction time, recurrence of pain perception, recovery time and the achieved depth of anaesthesia were measured and evaluated for all the three species. The best working dosage for each species was then used in the main trial on 20 animals per species and compared to a standard dose of MS 222. This was done by first anaesthetizing half of the group of each species with HM and the other half with MS 222. After a washout period of 14 days animals were treated with the second anaesthetic agent (crossover design) so that every animal was finally examined once under the influence of HM and once under the influence of MS 222. The temperature of the immersion bath was always adapted to the physiological habitat of the amphibians ( $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  for the African dwarf frogs,  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  for the fornasini's spiny reed frogs, and  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  for the eastern newts). For the African dwarf frogs a dosage of 1.2 mL HM per liter of water was found to be ideally suited for this species as well as a dosage of 2.0 mL HM per liter for the eastern newts. In the case of the fornasini's spiny reed frogs a general anaesthesia with HM was not possible, even under a very high dosage. For these amphibians the only remaining possibility to induce anaesthesia with HM was by intramuscular injection. In the case of the other two amphibian species it was possible to attain an induction time of at most 15 minutes (12 – 15 minutes) with the particular dose. The recovery time lay between 54 and 67 minutes. With all the African dwarf frogs and all the eastern newts it was possible to obtain a suitable condition for surgery. The analgesia following HM went on for 9-19 minutes, which is perspicuously longer than with MS 222.

An immersion bath anaesthesia was possible for all three species. With MS 222 dosages of 0.25 g/l of water for the African dwarf frogs, 1.5 g/l for the fornasini's spiny reed frogs, and 0.5 g/l for the eastern newts the phases of induction and recovery as well as the duration of elimination of pain perception were notably shorter compared to HM. While these periods were uniform and without significant aberrances for the african dwarf frogs and the eastern newts with an induction time of 5-6 minutes, an analgesia time of 3-8 minutes and a recovery period of

12-19 minutes, the fornasini's spiny reed frogs showed great discrepancies in terms of analgesia and recovery time. For some of the animals of this species it took 11 minutes to regain their pain perception, while it took others up to 47 minutes. The differences in time until full recovery and awakening were between 25 and 58 minutes. With MS 222 it was possible to gain a sufficient tolerance for surgery for all test animals. With both HM and MS 222 there were no complications during induction or recovery. The intention of this thesis was to determine whether HM would be a possible alternative to conventional immersion bath anaesthetics.

The results show that depending on the species the "Hellabrunner Mischung" is a very effective as well as sensitive alternative to conventional immersion bath anaesthesia for amphibians. For those species in which it is impossible to evoke sufficient effect by an immersion bath with HM intramuscular injection of HM should be considered.

## 8. Literaturverzeichnis

1. ADAMS H A, WERNER C (1997)  
Vom Razemat zum Eutomer: (S) - Ketamin, Renaissance einer Substanz?, *Anaesthesist*, 46, 1026-1042
2. AHNE W, LIEBICH H-G, STOHRER M, WOLF E (2000)  
*Zoologie, Lehrbuch für Studierende der Veterinärmedizin und Agrarwissenschaften*, F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 174, 241, 254-260
3. AHRENFELD R H (1953)  
The narcotic action of hexylresorcinol on two european species of Salientia, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 93, 33-45
4. ALPHARMA ANIMAL HEALTH Ltd (2001)  
Technical Bulletin 5/2001 revised 9/01. MS222 (tricaine methane sulphonate)
5. ANDERSON J B, WANG T (2002)  
Effects of anaesthesia on blood gases, acid-base status and ions in the toad *Bufo marinus*, *comp. biochem. Physiol. A.*, 131, 639-646
6. ARBEITSKREIS BERLINER TIERSCHUTZBEAUFTRAGTER (21.01.1997)  
Empfehlungen zum Umgang mit Krallenfröschen (*Xenopus laevis*) in der Forschung, Internet: <http://www.uni-giessen.de/tierschutz/4142.htm>, Seite2), Expertengespräch am 09.12.1996, Teilnehmer: A. ELEPFANDT, J. STRAKE, B. LANGE, A. OBEREMM).
7. BIETER R N, HARVEY A, BURGESS W W (1932)  
Spinal anesthesia in summer frogs, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 45, 291-298
8. BOLZ W (1961)  
*Allgemeinnarkosen beim Tier unter Berücksichtigung der Wild-, Zoo- und Laboratoriumstiere*, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
9. BONATH K (1977)  
Narkose der Reptilien, Amphibien u. Fische, In: *Schriftenreihe Versuchstierkunde*, Heft 4, Merckenschlager, M., K. Gärtner (Hrsg.), Verlag Paul Parey, 63-76, Berlin und Hamburg
10. BONATH K, ZSCHEGGE C (1977)  
Tauchbadnarkose mit MS 222® und Möglichkeiten der klinischen Überwachung bei Amphibien. *Verhandlungsber. Int. Symp. Erkrank. Zootiere*, 19, 131-139

11. BONICA J J (1990)

Definitions and taxonomy of pain, In: The Management of Pain, 2<sup>nd</sup> edition, Philadelphia, Lea and Febiger, 1990, 18-27

12. BOVÉ F J (o.J.)

MS-222 Sandoz, Das bevorzugte Anaesthetikum für Fische, Frösche und andere Kaltblüter, Recipe-Sandoz, 1, 1-12

13. BRENNER G M, KLOPP A J, DEASON L L (1994)

Analgesic potency of alpha adrenergic agents after systemic administration in amphibians, J Pharmacol Exp Ther 270, 540-545

14. BRETZINGER C (2001)

Einfluss unterschiedlicher Betäubungsmethoden auf Stressbelastung und Produktqualität bei der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Vet.Med.Diss., München

15. BROWN A L (1970)

The African Clawed Toad *Xenopus laevis*. Butterworth, London

16. COOPER J E (2003)

Urodela, In: Zoo and wild animal medicine, fifth edition, Saunders Missouri, Kapitel 3, 35/36

17. CRAWSHAW G J (1989)

Medical care of amphibians, Proc. Am Ass Zoo Vets, 155-165

18. CRAWSHAW G J (1992)

Medicine and diseases of amphibians In: The Care and Use of Amphibians, Reptiles and Fish in Research, Proc of a SCAW Conference, Scientists Center for Animal Welfare, Bethesda

19. CRAWSHAW G J (1993)

Amphibian medicine, In: Zoo and Wild Animal Medicine (M. E. Fowler, ed.), 3<sup>rd</sup> ed, Saunders, Philadelphia, 131-139

20. CRAWSHAW G J (2003)

Anurans, In: Murray E. Fowler, R. Eric Miller, Zoo & wild animal medicine fifth edition., W. B. Saunders Company

21. CZOPEK J (1959)

Skin and lung capillaries in European common newts, Copeia, 91-96

22. DOWNES H (1995)

Tricaine anesthesia in amphibia: A review Bull. Asso. Reptilian Amphibian Vet., 5, 11-16

23. DUELLMAN W E, TRUEB L (1994)  
Biology of Amphibians, The John Hopkins University Press, Baltimore, London
24. EBERT U, FREY H H, SCHULZ R (2002)  
Pharmakologie des zentralen Nervensystems, In: Frey H H, Löscher W, Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, Enke Verlag, Stuttgart
25. EICHBAUM F. W., A. T. LEAO (1948)  
Action narcoitque de l'hexylrésorcine sur des animaux à sang froid, Rev. bras. Biol., 8, 413-416
26. ENGELMANN W E (2006)  
Reptilien und Amphibien aus der Reihe Zootierhaltung Tiere in Menschlicher Obhut, Wissenschaftlicher Verlag Harri Deutsch, Frankfurt am Main, 449-501
27. ENSINGER H (2005)  
Narkose-Inhalationsanästhetika u. Injektionsanästhetika, In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 9. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München, Jena, 278/279
28. ERHARDT W, HENKE J, HABERSTROH J (2004):  
Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen.  
F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, New York
29. FOWLER M E (1986)  
Zoo & wild animal medicine second edition, W. B. Saunders Company, Philadelphia, 101
30. FOWLER M E (1993)  
Zoo & wild animal medicine current Therapy 3<sup>rd</sup> ed., W. B. Saunders Company, USA, 29
31. FOXON G E H (1964)  
Blood and respiration, aus: Moore, J. A.: Physiology of the Amphibia, Academic Press, London, 151-209
32. FRANK W (1976)  
Medikamentelle Ruhigstellung, In: Zootier Krankheiten, Krankheiten von Wildtieren im Zoo, Wildpark, Zirkus und in Privathand sowie ihre Therapie, H.-G. Klös und E. M. Lang (Hrsg.), Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 291
33. FRAZER J F D (1967)  
Frogs and toads, In: Lane Petter et al. (1967), The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals, Livingston, Edinburg, 853-866
34. FREY HH, LÖSCHER W (2002)  
Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 2.Aufl., Enke Verlag Stuttgart

35. FROST R D (1985)

Amphibian species of the world, All Press, Lawrence, Kansas

36. FRÜH H (1922)

Untersuchungen über die Wirkungsweise der gebräuchlichen Narkotika bei verschiedener Art der Zuführung, Naunyn-Schmiedeberg`s, Arch. Exp. Path. Pharmak., 95, 129-144

37. GÖLTENBOTH R (1995)

Anästhetika in: Krankheiten der Zoo und Wildtiere, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin, 5/6

38. GREEN C J, KNIGHT J, PRECIUOS S, SIMPKIN S (1981)

Ketamine, alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animal: a 10 year experience, Lab.anim., 15, 163-170

39. HAFFNER F, WIND F (1926)

Über Gewöhnung an Narkotika, Naunyn-Schmiedeberg`s Arch. Exp. Path. Pharmak., 116, 125-134

40. HALL L W, CLARKE K W, TRIM C M (2001)

Veterinary Anaesthesia, W.B. Saunders, London, Edinburgh, New York, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto

41. HALLIDAY T R (1999)

Amphibians, In: Poole, T. B. (Ed.), The UFAW Handbook on the care & management of laboratory animals, 7. Auflage, Blackwell Science Ltd., Japan, 95

42. HEILBRUNN L V (1952)

An Outline of General Physiology. 3. Ed., W. B. Saunders, Philadelphia

43. HENKE J, KÖLLE P (2004)

Amphibien, In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J., Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, Schattauer, Stuttgart

44. HERRMANN H J (1994)

Amphibien im Aquarium, Ulmer Verlag, Stuttgart

45. HEUSSER H R (1970)

Die Froschlurche. Aus: Grzimeks Tierleben, 5. Fische und Lurche, Kindler, Zürich, 359-402

46. HILKEN G, IGLAUER F, H-P RICHTER (1997)

Der Krallenfrosch *Xenopus laevis* als Labortier, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 45

47. HOBSON B M, TOWNSEND B G (1964)  
The Anaesthetic action of diethyl ether, ethyl carbamate and tricaine methansulfonate upon *Xenopus laevis*,  
In: Graham-Jones, O.: Small Animal Anaesthesia, Pergamon Press, Oxford, 47-58
48. IASP (INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF PAIN) (1979)  
Subcommittee on Taxonomy, Pain terms, A list with definitions and notes on usage, 6, 249-252
49. JALANKA H H (1991)  
Medetomidine, Medetomidine-Ketamine combinations and Atipamezole in nondomestic mammals, Vet  
Med Diss Helsinki, Finland
50. JIROVEC O (1958)  
Zool. Těcn., Stát. Pedag., Praha. Zit. Stefanová, Z. et al. (1962)
51. JOHNSON JH (1991)  
Anesthesia, analgesia and euthanasia in reptiles and amphibians. Proc. A. Ass. Zoo Vets., 132-8
52. JOHNSON J H (1992)  
Anesthesia, analgesia and euthanasia in reptiles and amphibians, In: The Care and Use of Amphibians,  
Reptiles and Fish in Research. Proc of a SCAW Conference, Bethesda, Scientists Center for Animal Welfare
53. KAPLAN H M, KAPLAN M (1961)  
Anesthesia of frogs with ethyl alcohol, Proc. Anim. Care Panel, 11, 31-36
54. KAPLAN H M (1969)  
Anesthesia in amphibians and reptiles, In: Anesthesia in invertebrates, Fed. Proc., 28
55. KARCZMAR A G, KOPPANYI T (1948)  
Action of central nervous system depressants at different growth periods of salamander (*Amblystoma  
punctatum*) larvae, Fed. Proc., 7, 231-232
56. KISCH (1948)  
Intracranial novocain anesthesia in frogs, Amer. J. Physiol., 154, 80-81
57. KRAMER L, DRESSER B L, MARUSKA E J (1983)  
Sexing aquatic salamanders by laparoscopy, In: American Association of Zoo Veterinarians, Tampa,  
Florida, 192
58. KROGH A (1904)  
On the cutaneous and pulmonary respiration of the frog, Scand. Arch. Physiol., 15, 328-419

59. KUHN J (1994)

Methoden der Anuren-Markierung für Freilandstudien: Übersicht-Knie-Ringetiketten – Erfahrungen mit der Phalangenamputation, Zeitschr. Feldherpetol., 1, 177-192

60. LAFORTUNE M, MITCHELL M A, SMITH J A (2000)

Evaluation of clinical and cardiopulmonary effects of clove oil (Eugenol) on Leopard Frogs, *Rana pipiens*, proc ARAV

61. LEE J H, FRANK G B (1991)

Effects of racemic ketamine on excitable membranes of frog, Korean J Pharmacol 27, 99-108

62. LETCHER J D (1992)

Intracelomic use of tricaine methanesulfonate for anesthesia of bullfrogs (*Rana catesbeiana*) and leopard frogs (*Rana pipiens*), Zoo Biol 11, 243-251

63. LETCHER J D, AMSEL (1989)

Practitioners guide to anaesthesia in anurans, Compend Anim Pract 1989, 19, 21-4

64. LÖSCHER W , UNGEMACH F R, KROCKER R (1994)

Grundlagen der Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 2. Auflage, Parey Verlag Berlin und Hamburg

65. LÖSCHER W, UNGEMACH F R, KROCKER R (2003)

Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 6. aktualisierte Aufl., Paul Parey Verlag, Berlin

66. LÖSCHER W, UNGEMACH F R, KROCKER R (2006)

Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 7. vollst. überarb. Auflage, 2006, Parey Verlag, Stuttgart

67. LONGLEY L A (2008)

Amphibian anaesthesia, In: Anaesthesia of exotic Pets, Elsevier Saunders, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto

68. MACHIN K L (1999)

Amphibian Pain and Analgesia, In: Journal of Zoo and Wildlife Medicine American Association of Zoo Veterinarians, Pennsylvania, 30(1), 2-10,

69. MÄRKLE J, VON HEGEL G, WIESNER H (1991)

Erfahrungen mit der "Hellabrunner Mischung" bei Zoo- und Wildtieren, 11.Arbeitstagung der Zootierärzte im dtspr. Raum, Stuttgart

70. MARCUS L C (1983)

Amphibien und Reptilien in Heim, Labor und Zoo, Biologie, Haltung und tierärztliche Versorgung, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 56

71. MEYER H (1901)

Zur Theorie der Alkoholnarkose. 3. Mitt.: Der Einfluß wechselnder Temperatur auf Wirkungsstärke und Theilungcoefficient der Narcotica, Naunyn-Schmiedeberg`s Arch. Exp. Path. Pharmac., 46, 338-346

72. MÖHLER H (2005)

Pharmakotherapie von Schlafstörungen und Erregungszuständen, In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 9. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München, Jena, 2877

73. MORAL H (1918)

Über die Wirkung von Narkoticis auf den Froschnerven unter den Einfluß von Temperaturveränderungen, Pflügers Arch. Ges. Physiol., 469-495

74. MUIR W M, HUBBELL J A E (1989)

Handbook of veterinary Anesthesia, The C. V. Mosby Company, Missouri, S. 247,248

75. MUIR W M, HUBBELL J A E, SKARDA R T, BADNARSKI R M (1995)

Handbook of veterinary Anesthesia second edition, The C. V. Mosby Company, Missouri, 357,359

76. MUTSCHMANN F (1998)

Erkrankungen der Amphibien, Paul Parey Buchverlag Berlin, 113-114

77. MUTSCHMANN F (2004)

In: Krankheiten der Heimtiere, 6., vollständig überarbeitete Auflage, Hrsg. K. Gabrisch, P. Zwart, Schlütersche Verlag, Hannover, 882

78. OHR E A (1976)

Tricaine methanesulfonate -I. pH and its effects on anaesthetic potency, Comp.Biochem.Physiol., 54C, 13-17

79. OVERTON E (1901)

Studien über die Narkose (zugleich ein Beitrag zur allgemeinen Pharmakologie), Fischer, Jena

80. PADDLEFORD R R, ERHARDT W (1992)

Anästhesie bei Kleintieren, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 52

81. PARKER G H (1993)

General anesthesia by cooling. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 42, 186

82. PENZLIN H (1970)

Kurzes Lehrbuch der Tierphysiologie, Fischer Verlag, Jena

83. PEZALLA P D (1983)

Morphine-induced analgesia and explosive motor behavior in an amphibian, Brain Research, 273, 297-305

84. POCZOPKO P, JUSIAK R (1972)  
The effect of ambient temperature and season on total and tissue metabolism of the frog (*Rana esculenta* L.)  
Bull, Acad. Pol. Sci. ce 2., 20, 437-441
85. RAPHAEL B L (1993)  
Amphibians, Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract, 23, 1271-1286
86. REDONNET T A (1919)  
Beiträge zur Theorie der Narkose, Naunyn-Schmiedeberg`s Arch. Exp. Path. Pharmak., 84, 339-359
87. REICHENBACH-KLINKE H, ELKAN E (1965)  
The Principal diseases of lower vertebrates, Academic Press, London, New York, 211
88. RICHTER H-P (1997)  
Der Krallenfrosch *Xenopus laevis* als Labortier, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 4-6
89. ROSS L, ROSS B (1999)  
Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals, Blackwell Science 1999
90. SCHAEFFER D O (1997)  
Amphibians, In: Anesthesia and analgesia in laboratory animals, Academic Press, California, London,  
360-361
91. SCHOLTON J M (1942)  
A few remarks on the respiratory movements of the frog, Arch. Néerl. Press, London
92. SKARDA R T (1993)  
Einführung in die Anästhesie, In: Muir William W., Hubbell John A. E., Skarda Roman T.  
Veterinäranaesthesie, Schattauer Verlagsgesellschaft, Stuttgart, New York, 210-213
93. SMITH M (1951)  
The British Amphibians and Reptiles, Collins, London
94. STETTER M D (2001)  
Fish and amphibian anesthesia, Vet Clin North Am Exotic Anim Pract 4(1), 69-82
95. STEVENS C W (1988)  
Opioid antinociception in amphibians, Brain Res Bull 21, 959-962
96. STEVENS C W, PEZALLA P D (1983)  
A spinal site mediates opiate analgesia in frogs, Life Sciences, 33, 2097-103

97. STEVENS C W, KLOPP A J, FACELLO J A (1994)  
Analgesic potency of  $\mu$ - and  $\kappa$ -opioids after systemic administration in amphibians, *J Pharmacol Exp. Ther.* 269, 1086-1093
98. STORCH V, WELSCH U (2005)  
Kurzes Lehrbuch der Zoologie, 8. neu bearbeitete Auflage, Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, München, 594-599
99. STOSKOPF M K (1994a)  
Pain and analgesia in birds, reptiles, amphibians and fish, *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 33(2), 775-80
100. STOSKOPF M K (1994b)  
Pain and analgesia in birds, reptiles, amphibians and fish, *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 35
101. THURMON J C, TRANQUILLI W J, BENSON G J (1996)  
Lumb and Jones' veterinary anesthesia, third edition, Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, Seite 683
102. UNGER R (1918)  
Über den Einfluß der Temperatur auf Wirkungsstärke und Oberflächenaktivität der Narkotika, *Biochem. Z.*, 89, 238-278
103. VAN ZUTPHEN L F M, BAUMANS V, BEYNEN A C (1995)  
Anästhesie, Analgesie und Euthanasie, In: Grundlagen der Versuchstierkunde, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 248
104. VERHOEFF DE FREMERY, R, GRIFFIN J, MACGREGOR H C (1986)  
Urodeles (newts and salamanders), In: Poole, T. B. (Ed.), *The UFAW Handbook on the care & management of laboratory animals*, 6. Auflage, Longman Scientific & Technikal, Essex, 759-772
105. WAGER V A (1965)  
The frog of South Africa, Purcell & Sons, Capetown
106. WALLACH J D, BOEVER W J (1983)  
Diseases of Exotic Animals, Medical and surgical management, W. B. Saunders Company, USA, 989 /990
107. WASS J A., KAPLAN H M (1974)  
Methoxyflurane anesthesia for *Rana pipiens*, *Lab. Anim. Sci.*, 24, 669
108. WERNER F F (1922)  
Physiologische und pharmakologische Studien an der Atmung des Kaltblütlers, *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, 196, 83-91

109. WESTHUES M, FRITSCH R (1961)

Die Narkose der Tiere, Bd I, Lokalanästhesie, Bd II, Allgemeinnarkose, Parey, Hamburg und Berlin

110. WESTHUES M, FRITSCH R (1965)

Animal Anesthesia, Oliver and Boyd Verlag, Edinburgh

111. WHITAKER B R, WRIGHT K M, BARNETT S L (1999)

Basic husbandry and clinical assessment of the amphibian patient, Vet Clin North Am Exot Anim Pract 2, 265-290

112. WIESER E, RIBBECK R (2000)

Lexikon der Veterinärmedizin, 4. völlig neu bearbeitete Auflage, Enke im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, 170

113. WIESNER H (1988)

Anästhesie von Zoo- und Wildtieren, Tierärztliche Umschau 43, 36-42

114. WIESNER H (1998)

Tierschutzrelevante Neuentwicklungen zur Optimierung der Distanzimmobilisation, Tierärztliche Praxis, 26(G), 225-233

115. WIESNER H (2004)

30 Jahre Erfahrung in der Wildtierimmobilisation mit der „Hellabrunner Mischung“, Vortrag Int. Tagung über Wildtiermedizin, Wildbrethygiene und Immobilisation von Wild- und Gehegetieren, vom 12.03.2004 in Schongau

116. WIESNER H, VON HEGEL G(1985)

Praktische Hinweise zur Immobilisation von Wild- und Zootieren, Tierärztliche Praxis 13, F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart-New York, 113-127

117. WINTERSTEIN H (1905)

Wärmelähmung und Narkose, Z. allg. Physiol., 5, 323-350

118. WOLFENSOHN S, LLOYD M (1998)

Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, second edition, Blackwell Science, 296

119. WRIGHT K M, WHITTAKER B R (2001)

Amphibian medicine and captive husbandry, Malabar, Fla, Krieger

## 9. Danksagung

Hiermit möchte ich allen herzlich danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein größter Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Wiesner für die Bereitstellung des Themas, die intensive Betreuung bei der Durchführung, einen stets freundlichen fachlichen Rat sowie das Bereitstellen von Mitteln.

Ganz herzlich möchte ich Frau Prof. Dr. U. Matis für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München danken.

Bei Frau Dr. J. von Maltzan möchte ich mich für ihre unermüdliche Hilfe in jeder Hinsicht, ihre Motivation und ein stets offenes Ohr bedanken.

Ein besonderes Dankeschön dem gesamten Personal des Aquariums im Tierpark Hellabrunn für die, durch ihre jahrelange Erfahrung, professionelle Betreuung und Pflege der Versuchstiere. Ein ganz besonderer Dank gilt Herrn F. Müller, ohne den es weder Versuchsmaterial noch Versuchstiere gäbe.

Ebenso danke ich Frau PD Dr. J. Henke für die Unterstützung bei der Versuchsplanung und Beantragung des Tierversuchsvorhabens.

Der Firma Bayer gilt für die Bereitstellung der Rompun® Trockensubstanz ein ganz besonderes Dankeschön.

Herrn Prof. Dr. H. Küchenhoff und Herrn G. Pfundstein aus dem Statistischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität in München möchte ich ganz besonders für die geduldige Unterstützung bei der zeitaufwendigen Erstellung der Statistiken und der Beantwortung der vielen Fragen danken.

Ein weiteres Dankeschön gilt meinem Vater, Verena, Wouter, Anna, Cornelia und Gerhard für Ihre große Hilfsbereitschaft bei der Korrektur dieser Arbeit.

Ganz besonders dankbar bin ich Dr. K. Pieper für seine intensive Betreuung gegen Ende dieser Arbeit.

## Danksagung

---

Unendlicher Dank gilt meiner Ehefrau Brigitte und meinem Sohn Niklas für die viele Geduld, die Hilfsbereitschaft, die gute Verpflegung und Aufmunterung auch in Krisenzeiten und zuletzt für das Verständnis für ein teilweise etwas zu kurz gekommenes Familienleben.