

Aus dem Tierpark Hellabrunn, München  
Zoologischer Direktor: Prof. Dr. H. Wiesner

und

der Klinik für Fische und Reptilien  
der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. R. Hoffmann

---

**Die „Hellabrunner Mischung“ im Vergleich mit MS 222  
als Tauchbadnarkose bei verschiedenen Fischen**

---

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

von  
Christina Geiger  
aus Heidelberg

München 2007

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

Dekan: Univ.- Prof. Dr. E. Märtlbauer

Referent: Univ.- Prof. Dr. R. Hoffmann

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

Tag der Promotion: 09. Februar 2007

meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis	Seite
<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Literaturübersicht .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1. Fische .....</b>	<b>2</b>
2.1.1. Zoologie / Systematik .....	2
2.1.1.1. Euteleostei / Echte Knochenfische.....	2
2.1.1.2. Koikarpfen .....	3
2.1.1.3. Regenbogenforelle .....	4
2.1.1.4. Kaiserbuntbarsch .....	4
2.1.2. Physiologie.....	4
2.1.2.1. Atmung bei Fischen .....	4
2.1.2.2. Stoffaustausch über die Kiemen .....	6
2.1.2.3. Schmerz und Stress bei Fischen .....	7
2.1.2.3.1. Schmerz .....	7
2.1.2.3.2. Stress .....	8
<b>2.2. Narkose bei Fischen .....</b>	<b>9</b>
2.2.1. allgemeine Begriffsdefinitionen .....	9
2.2.2. Indikationen .....	10
2.2.3. Methoden .....	11
2.2.4. Wirkstoffe .....	13
2.2.4.1. MS 222 .....	13
2.2.4.2. Benzocain .....	16
2.2.4.3. Metomidat / Etomidat .....	16
2.2.4.4. Chloralhydrat .....	17
2.2.4.5. Quinaldinsulfat (2-Methylquinolon) .....	17
2.2.4.6. 2-Phenoxyethanol .....	17
2.2.4.7. Eugenol / Nelkenöl / AQUI-S® .....	17
2.2.4.8. Ketaminhydrochlorid .....	18
2.2.4.9. Xylazinhydrochlorid .....	20
2.2.4.10. Ketamin-Xylazin-Kombinationen / Hellabrunner Mischung .....	22
2.2.5. Narkoseüberwachung .....	25
2.2.6. Narkosestadien .....	26
2.2.7. Einflussparameter .....	27
2.2.8. Kriterien für die Auswahl eines Betäubungsverfahrens .....	28
<b>2.3. Rechtsgrundlagen .....</b>	<b>29</b>
2.3.1. Arzneimittelrecht .....	29
2.3.1.1. bei Zierfischen .....	30
2.3.1.2. bei Lebensmittel liefernden Fischen .....	31
2.3.2. Lebensmittelrecht .....	31
2.3.3. Tierschutz .....	31
<b>3. Eigene Untersuchungen .....</b>	<b>33</b>
<b>3.1. Problematik und Zielsetzung .....</b>	<b>33</b>
<b>3.2. Material und Methoden .....</b>	<b>34</b>

3.2.1. Tiermaterial .....	34
3.2.1.1. Koikarpfen .....	34
3.2.1.2. Regenbogenforelle .....	34
3.2.1.3. Kaiserbuntbarsch .....	34
3.2.2. Tierversuchsgenehmigung .....	34
3.2.3. Haltungsbedingungen .....	34
3.2.4. Messgeräte .....	35
3.2.5. Pharmaka .....	36
3.2.5.1. Ketaminhydrochlorid .....	36
3.2.5.2. Xylazinhydrochlorid .....	36
3.2.5.3. Ketamin-Xylazin-Kombination / Hellabrunner Mischung .....	36
3.2.5.4. Tricainmethansulfonat / MS 222 .....	37
3.2.6. Versuchsaufbau .....	37
3.2.6.1. Vorversuche .....	37
3.2.6.1.1. Regenbogenforelle.....	37
3.2.6.1.2. Koikarpfen .....	37
3.2.6.1.3. Kaiserbuntbarsch .....	38
3.2.6.2. Hauptversuche .....	38
3.2.7. Versuchsablauf .....	38
3.2.7.1. Vorversuche .....	38
3.2.7.1.1. Arbeitsgang allgemein .....	38
3.2.7.1.2. Ermittlung der Wirksamkeitsgrenze und der optimalen Dosis	40
3.2.7.2. Hauptversuche .....	40
3.2.7.2.1. Vergleich mit MS 222 .....	40
3.2.8. Erfassung der Daten .....	41
3.2.8.1. Narkosen .....	41
3.2.8.1.1. Narkoseprotokoll .....	41
3.2.8.1.2. Digitalfotos / Videosequenzen .....	46
3.2.8.2. Wasserproben .....	46
3.2.9. Statistik .....	46
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>48</b>
<b>4.1. Vorversuche .....</b>	<b>48</b>
4.1.1. Koikarpfen .....	48
4.1.1.1. Wirksamkeitsgrenze .....	48
4.1.1.2. Ermittlung der optimalen Dosis .....	48
4.1.2. Regenbogenforellen .....	51
4.1.2.1. Wirksamkeitsgrenze .....	51
4.1.2.2. Ermittlung der optimalen Dosis .....	52
4.1.3. Kaiserbuntbarsche .....	55
4.1.3.1. Wirksamkeitsgrenze .....	55
4.1.3.2. Ermittlung der optimalen Dosis .....	56
<b>4.2. Hauptversuche .....</b>	<b>59</b>
4.2.1. Vergleich Hellabrunner Mischung und MS 222 .....	59
4.2.1.1. Koikarpfen .....	59
4.2.1.1.1. Anflutungszeit .....	59
4.2.1.1.2. Aufwachzeit .....	59
4.2.1.1.3. OP-Toleranz .....	60
4.2.1.1.4. Auftreten von Exzitationen .....	61

4.2.1.1.5. Korrelationen .....	61
4.2.1.1.5.1. HM: Anflutungszeit/Aufwachzeit mit Gewicht /Länge	61
4.2.1.1.5.2. MS 222: Anflutungszeit /Aufwachzeit mit Gewicht /Länge	62
4.2.1.1.5.3. Einfluss der Tageszeit .....	62
4.2.1.1.6. weitere Beobachtungen .....	63
4.2.1.2. Regenbogenforelle .....	63
4.2.1.2.1. Anflutungszeit .....	63
4.2.1.2.2. Aufwachzeit .....	64
4.2.1.2.3. OP-Toleranz .....	64
4.2.1.2.4. Auftreten von Exzitationen .....	65
4.2.1.2.5. Korrelationen .....	65
4.2.1.2.5.1. HM: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge	65
4.2.1.2.5.2. MS 222:Anflutungszeit /Aufwachzeit mit Gewicht /Länge	66
4.2.1.2.5.3. Einfluss der Tageszeit .....	66
4.2.1.2.6. Farbveränderungen .....	66
4.2.1.2.7. weitere Beobachtungen .....	67
4.2.1.3. Kaiserbuntbarsch .....	67
4.2.1.3.1. Anflutungszeit .....	67
4.2.1.3.2. Aufwachzeit .....	68
4.2.1.3.3. OP-Toleranz .....	69
4.2.1.3.4. Auftreten von Exzitationen .....	69
4.2.1.3.5. Korrelationen .....	70
4.2.1.3.5.1. HM: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge	70
4.2.1.3.5.2. MS 222:Anflutungszeit /Aufwachzeit mit Gewicht /Länge	71
4.2.1.3.5.3. Einfluss der Tageszeit .....	71
4.2.1.3.5.4. HM: Anflutungszeit und Aufwachzeit mit Geschlecht ...	71
4.2.1.3.5.5. MS 222:Anflutungszeit und Aufwachzeit mit Geschlecht	72
4.2.1.3.6. Farbveränderungen .....	73
4.2.1.3.7. weitere Beobachtungen .....	73
4.2.2. Vergleich Fischarten .....	74
4.2.2.1. Hellabrunner Mischung .....	75
4.2.2.1.1. 0,6 ml/l .....	75
4.2.2.1.1.1. Anflutungszeit .....	75
4.2.2.1.1.2. Aufwachzeit .....	75
4.2.2.1.1.3. OP-Toleranz .....	76
4.2.2.1.1.4. Exzitationen .....	76
4.2.2.1.2. 0,8 ml/l .....	77
4.2.2.1.2.1. Anflutungszeit .....	77
4.2.2.1.2.2. Aufwachzeit .....	77
4.2.2.1.2.3. OP-Toleranz .....	78
4.2.2.1.2.4. Exzitationen .....	78
4.2.2.1.3. 1,0ml/l .....	79
4.2.2.1.3.1. Anflutungszeit .....	79
4.2.2.1.3.2. Aufwachzeit .....	79
4.2.2.1.3.3. OP-Toleranz .....	80
4.2.2.1.3.4. Exzitationen .....	80
4.2.2.2. MS 222 70 mg/l .....	81
4.2.2.2.1. Anflutungszeit .....	81
4.2.2.2.2. Aufwachzeit .....	81
4.2.2.2.3. OP-Toleranz .....	82
4.2.2.2.4. Exzitationen .....	82

<b>4.3. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse .....</b>	<b>83</b>
4.3.1. Koikarpfen .....	83
4.3.2. Regenbogenforellen .....	83
4.3.3. Kaiserbuntbarsche .....	83
4.3.4. Vergleich Fischarten .....	84
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>85</b>
<b>5.1. Diskussion der Methode .....</b>	<b>85</b>
5.1.1. Auswahl der Fischarten .....	85
5.1.2. Vorgehensweise .....	85
5.1.3. Narkoseprotokoll .....	89
<b>5.2. Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>90</b>
5.2.1. Koikarpfen .....	90
5.2.2. Regenbogenforellen .....	92
5.2.3. Kaiserbuntbarsche .....	93
5.2.4. Vergleich Fischarten .....	97
<b>5.3. Schlussbetrachtungen .....</b>	<b>98</b>
<b>6. Zusammenfassung .....</b>	<b>101</b>
<b>7. Summary .....</b>	<b>102</b>
<b>8. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>103</b>
<b>9. Danksagung .....</b>	<b>112</b>

## Abkürzungen

---

$\alpha$	alpha
AMG	Arzneimittelgesetz
ANOVA	(= analysis of variance) Varianzanalyse
$\beta$	beta
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
°C	Grad Celsius
$\chi^2$	Chi-Quadrat
$\delta$	delta
d	Differenz
°dH	Grad deutsche Härte
EKG	Elektrokardiogramm
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
€	Euro
FischHV	Fischhygieneverordnung
$\gamma$	gamma
g	Gramm
HM	„Hellabrunner Mischung“
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität München
m	Meter
Max	Maximum
MCH	Melanin-concentrating-hormone
MSH	Melanophoren-stimulierendes Hormon
$\mu$ S	Mikrosiemens
mg	Milligramm
ml	Milliliter
Min	Minimum
Min.	Minute
N oder n	Anzahl
OP-Toleranz	Operationstoleranz
p	(= probability) Wahrscheinlichkeit
§	Paragraph
%	Prozent
s	Standardabweichung
s.c.	subkutan
TÄHAV	Verordnung über tierärztliche Hausapotheken
TierSchG	Tierschutzgesetz
TierSchlVO	Tierschutz-Schlachtverordnung
VO	Verordnung
♂	männliches Tier
♀	weibliches Tier



## 1 Einleitung

Mit der größer werdenden Bedeutung von Fisch als Bestandteil einer gesundheitsbewussten Ernährung, dem Ausbau der Aquakultur bei schwindenden Erträgen der Hochseefischerei und der zunehmenden Bereitschaft von Hobbyhaltern, tierärztliche Hilfe in Anspruch zu nehmen, wird für verschiedenste Indikationen der Einsatz von Anästhetika zur Immobilisation von Fischen immer häufiger nötig.

In Deutschland ist derzeit allerdings kein Tierarzneimittel zur Betäubung von Fischen zugelassen. Der einzige Wirkstoff, der nach der VO (EWG) 2377/90 zur Betäubung von Fischen eingesetzt werden darf, die der Lebensmittelgewinnung dienen, ist Tricainmesilat, der wirksame Inhaltsstoff im Präparat MS 222. Dieses wird jedoch innerhalb der Europäischen Union nur in Großbritannien hergestellt, wo das Arzneimittel zugelassen ist. 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. Dieser gesetzlichen Situation zufolge und aus tierschützerischen Gründen ergibt sich die Notwendigkeit, nach schonenden und anwenderfreundlichen Möglichkeiten zur Betäubung von Fischen zu suchen.

Die Verwendbarkeit von Injektionsanästhetika für andere Tierarten zur Tauchbadnarkose bei Fischen hat sich bereits bei anderen Substanzen bestätigt. So wurde das als injizierbares Hypnotikum für Schweine zugelassene Metomidathydrochlorid (Hypnodil®) viele Jahre zur Immobilisation von Fischen im Narkosebad erfolgreich eingesetzt (STOSKOPF, 1993a; KÖLLE und HENKE, 2004), es ist jedoch aus Gründen der Rentabilität nicht mehr im Handel. In Deutschland erhältlich und gängig sind dagegen die beiden Injektionsanästhetika Ketamin- und Xylazinhydrochlorid (LÖSCHER, 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 und Reptilien etabliert (WIESNER, 2004). Die Vorteile einer gemeinsamen Anwendung sind im gegenseitigen Synergismus dieser Stoffe zu sehen, der die Wirkung potenziert, so dass eine wesentlich geringere Gesamtmenge eingesetzt werden kann (ERHARDT et al., 2004). Auch im aquatischen Bereich werden Ketamin und Xylazin in Verbindung zur Narkose eingesetzt. Die Erfahrungen mit derartigen Kombinationen beschränken sich dabei bisher jedoch im Wesentlichen auf die Anwendung bei Knorpelfischen wie Haien (HARMS, 2003), bei denen sie meist als Injektion zum Einsatz kommen. Für Knochenfische liegen nur unzureichende Daten über die oben genannte Mischung vor; Studien über eine Anwendung im Narkosebad als nicht invasive Methode fehlen gänzlich.

Mit dieser Arbeit soll die Eignung der „Hellabrunner Mischung“ zur Anwendung als Tauchbadnarkose bei Fischen klinisch geprüft werden. Dazu sollen Erkenntnisse über Einsetzbarkeit und geeignete Dosierungen bei verschiedenen Fischarten gesammelt und nach Möglichkeit als Empfehlung weitergegeben werden. Um dabei den Nutzfisch- und Hobbytierbereich sowie unterschiedliche Lebensbedingungen bei Knochenfischen abzudecken, werden die Spezies Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Koikarpfen (*Cyprinus carpio*) und Kaiserbuntbarsch (*Aulonocara stuartgrantii*) untersucht. Anhand der Beobachtung von Parametern wie Anflutungs- und Aufwachzeit, der Häufigkeit des Auftretens von Exzitationen in diesen Phasen sowie der erreichten Narkosetiefe soll abschließend im direkten Vergleich mit dem herkömmlichen Narkotikum MS 222 die Bedeutung der „Hellabrunner Mischung“ als Alternativmethode der Fisanästhesie beurteilt werden.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1. Fische allgemein

#### 2.1.1. Zoologie / Systematik

Unter den Lebewesen auf der Erde ordnet man die Fische systematisch folgendermaßen ein (AHNE, 1986). Innerhalb der Abteilung Metazoa (Gewebetiere), Unterabteilung Bilateria (zweiseitig symmetrische Metazoa) werden einige Tierstämme der Gruppe Deuterostomia (Zweitmünder) zugeteilt. Darunter fällt auch der Stamm Chordata (Chordatiere) mit dem Unterstamm Vertebrata (Wirbeltiere). Die Wirbeltiere werden in zwei Überklassen aufgeteilt, die Agnatha (Kieferlosen) und die Gnathostomata (Kiefermäuler), wobei man innerhalb der letzteren die Reihen Pisces (Fische) und Tetrapoda (Landwirbeltiere) unterscheidet. Die in dieser Arbeit untersuchten Fische gehören dabei alle der Klasse Osteichthyes (Knochenfische) an, genauer der Unterklasse Actinopterygii (Strahlenflosser). Diese teilt sich weiter auf in die Neopterygii (Neuflosser) mit der Abteilung Halecostomi und der Unterabteilung der Teleostei mit der Gruppe Euteleostei (Echte Knochenfische), nach NELSON (1984) die letzte gemeinsame Stufe von Forelle, Karpfen und Buntbarsch.

##### 2.1.1.1. Euteleostei / Echte Knochenfische

Die Expansion dieser Fischgruppe begann an der Grenze Jura zu Kreide (vor etwa 150 Millionen Jahren), sie erschienen also später als die ersten Säugetiere.

Es ist noch nicht geglückt, die enorme Vielfalt der Teleosteer in ein natürliches System zu bringen, weshalb viele verschiedene Einteilungen zu finden sind (STORCH und WELSCH, 2003). Die folgenden Angaben zur zoologischen Systematik berufen sich deshalb der Übersichtlichkeit wegen ausschließlich auf NELSON, 1984.

##### 2.1.1.2. Koikarpfen - *Cyprinus carpio carpio*, Linnaeus, 1758

Überordnung Ostariophysi, Reihe Otophysi, Ordnung Cypriniformes, Überfamilie Cyprinoidea, Familie Cyprinidae, Genus *Cyprinus*

#### Äußere Merkmale, Verbreitung und Lebensraum

Der Karpfen existiert heute in seiner Wildform im Einzugsbereich des Kaspischen und Schwarzen Meeres bis nordwestlich zur ungarisch-österreichischen Grenze. In China wird der Karpfen schon seit langer Zeit gezüchtet (schriftliche Quellen um etwa 530 vor Christus). Als er dann etwa 200 n. Chr. nach Japan gelangte, begann man dort mit der Zucht der Farbvarianten, den Koi. Mit der Ausbreitung des römischen Christentums in Europa begann sich hier die Karpfenteichwirtschaft zu entwickeln. Züchterisch wurde dabei vor allem die Beschuppung beeinflusst. So entstanden der „Spiegelkarpfen“ mit unregelmäßig verteilten großen Schuppen überwiegend längs der Rückenlinie („Zeilkarpfen“) und der fast oder völlig schuppenlose „Lederkarpfen“ oder „Nacktkarpfen“ (HOEDT, 2004; HOFFMANN, 2005).

Der Körper der Wildform ist langgestreckt, nicht so hochrückig wie die Zuchtform und seitlich wenig abgeflacht. Sie erreicht eine Länge von 30 - 70cm, maximal 1,2m. Karpfen können bis zu 50 Jahre alt werden. Der Kopf ist kegelförmig, die Augen sind klein und die Mundspalte endständig mit zwei Paar Barteln seitlich an der Oberlippe, wobei das vordere Paar kürzer ist. Die großen Schuppen sind am Rücken olivgrün bis braun gefärbt, an den Flanken heller und am Bauch gelblich. Die Flossen sind dunkelgrau mit oft bläulichem Schimmer, an den paarigen Flossen auch rötlich. Der Wildkarpfen besitzt eine sehr lange, an der Oberkante konkave Rückenflosse, auch die Schwanzflosse ist deutlich eingebuchtet. Die

Zuchtformen sind kürzer und extrem hochrückig (nicht die Farbvarianten) mit verhältnismäßig großem Kopf. Karpfen besitzen 33-40 Schuppen entlang der Seitenlinie, 20-28 Flossenstrahlen an der Rücken-, 8-9 an der After- und 19 an der Schwanzflosse. Die Tiere tragen Schlundzähne.

Wildkarpfen sind gesellige Fische, die sowohl in stehenden als auch in leicht strömenden Gewässern zuhause sind. Sie bevorzugen Gebiete mit einem großen Wasserkörper und tiefgründigen weichen Böden, die sie mit ihrem ausstülpbaren Maul nach bodenlebenden Kleintieren durchwühlen. Zu ihrer Nahrung gehören z.B. Rotatorien, Kleinkrebse, Amphibien- und Fischeier, Insektenlarven, Mollusken und Oligochaeten, aber als Omnivore nehmen sie auch Samen von Gräsern und Bäumen, wilden Reis, Wasserpflanzen und Algen auf. Karpfen kommen mit Temperaturspannen von 3-35°C zurecht, wobei das Optimum für Koi zwischen 16 und 24°C liegt. Tagsüber ruhen sie meist und werden erst in der Dämmerung aktiv. Zur Laichzeit von Mai bis Juli, in der männliche Tiere einen sogenannten Laichausschlag bekommen, ziehen sie in zeitweilig überschwemmte Gebiete, wo sie in niedrigem Wasser vorzugsweise über Gras ablaichen, sobald die Wassertemperatur über 17°C erreicht hat. Ab 26°C beginnt die Eiablage zu sistieren. Die Eientwicklung dauert je nach Wassertemperatur 4-5 Tage (90-100 Tagesgrade, d°; d.h., bei 500d° würde die Eientwicklung bei 10°C 50 Tage dauern, oder bei 20°C 25 Tage). Die geschlüpften Jungtiere ernähren sich meist nur von Rotatorien, bis der Dottersack nach ca. 8 Tagen aufgebraucht ist und die Fische zur Nahrungssuche am Grund übergehen. Die Geschlechtsreife erreichen männliche Tiere mit ca. 3-4 Jahren, Weibchen mit 4 oder 5 Jahren (STOSKOPF, 1993a; KOTTELAT, 1997; GERSTMEIER und ROMIG, 1998).

### 2.1.1.3. Regenbogenforelle - *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792

Überordnung Protacanthopterygii, Ordnung Salmoniformes, Unterordnung Salmonoidei, Überfamilie Salmonoides, Familie Salmonidae, Unterfamilie Salmoninae, Genus *Oncorhynchus*. Bis in die 80er Jahre war die Regenbogenforelle unter dem wissenschaftlichen Namen *Salmo gairdneri* bekannt, mittlerweile geht man aber von näherer Verwandtschaft zu den Pazifiklachsen (*Oncorhynchus*) aus als zu den europäischen *Salmo*-Arten (GERSTMEIER und ROMIG, 1998).

#### Äußere Merkmale, Verbreitung und Lebensraum

Der Körper der Regenbogenforelle ist gestreckt und vor allem bei größeren Tieren seitlich komprimiert. Der Kopf ist mäßig groß mit stumpfer Schnauze und tiefer, bis zum Hinterrand der Augen reichender Mundspalte. Ihre Länge kann 25-50, selten 70cm erreichen bei bis zu 7kg Gewicht. Am Rücken ist die Färbung dunkel braungrün, am Bauch fast weiß, wobei die Färbung mit der Umgebung, der Größe und der sexuellen Aktivität variiert. Entlang der Flanken zieht sich ein breites, rötlich schillerndes Band. Außer an diesem Band und der Körperunterseite ist das ganze Tier mit kleinen schwarzen Flecken bedeckt. Entlang der Seitenlinie befinden sich 125-160 Schuppen. Die Anzahl der Flossenstrahlen beträgt an der Rückenflosse 10-14, an der Afterflosse 8-12 und an der Bauchflosse 9.

Die Regenbogenforelle stammt aus dem westlichen Pazifik, wo sie von der Kamchatka-Halbinsel bis nach Süden zur Mündung des Amur und im westlichen Nordamerika zu finden ist. Nach ihrem heutigen Vorkommen ist sie als global verbreitet zu betrachten. Ausgesetzte oder verwilderte Tiere finden sich in vielen gemäßigten Klimata der Welt, so auch in fast ganz Europa.

Im ursprünglichen Verbreitungsgebiet westlich der Rocky Mountains existieren sowohl anadrome Formen, die zum Laichen flussaufwärts ziehen, mit über 1m Länge und bis zu 20kg Gewicht, als auch nicht wandernde Süßwasserp Populationen. Im Meer verschwindet die „Regenbogenfärbung“ der Flanken und wird durch silbriges Weiß ersetzt. Wanderformen

leben 2-4 Jahre im Süßwasser, wandern dann in den Pazifik ab, wo sie sich etwa 3 Jahre in Küstennähe aufhalten, um dann den Laichzug in ihre Ursprungsgewässer zu beginnen, den sie jährlich wiederholen. Die in den Teichwirtschaften der Welt gezüchteten Regenbogenforellen weisen sehr unterschiedliche Wandertriebe auf, da nicht nur standorttreue Süßwasserformen Verwendung fanden, sondern auch wandernde Stämme eingekreuzt wurden. Dabei ist allerdings unklar, ob es sich bei den anadromen Wanderungen um eine tatsächliche genetische Adaptation oder lediglich um opportunistisches Verhalten handelt. Die hervorragende Qualität der Regenbogenforelle als Speise- und Angelfisch steht der der in Europa heimischen Forellen in nichts nach. Zudem stellt sie geringere Ansprüche an die Wasserqualität bezüglich Temperatur und Sauerstoffgehalt. Sie verträgt Temperaturen von 10-24°C und ist auch in der Nahrungsaufnahme weniger wählerisch als die Bachforelle (*Salmo trutta*), was die Anwendung von künstlichem Futter erleichtert. Adulte Tiere ernähren sich bodennah von aquatischen oder terrestrischen Insekten, Mollusken, Crustaceen, Fischeiern, Elritzen und anderen kleinen Fischen, einschließlich anderer Forellen. Jungtiere leben überwiegend von Zooplankton. Die Geschlechtsreife wird mit 2-3 Jahren erreicht und die Tiere laichen zwischen November und Mai (GALL und CRANDELL, 1992; GERSTMEIER und ROMIG, 1998).

### 2.1.1.4. Kaiserbuntbarsch - *Aulonocara stuartgranti mbenji*

Überordnung Acanthopterygii, Ordnung Perciformes, Unterordnung Percoidei, Überfamilie Percoidea, Familie Cichlidae, Genus Aulonocara

#### Äußere Merkmale, Verbreitung und Lebensraum

Buntbarsche der Gattung Aulonocara werden bis zu 18cm lang. Es besteht ein deutlicher Geschlechtsdimorphismus. Die Weibchen sind sehr unauffällig in Grautönen gefärbt, während die Männchen zu den schönsten Cichliden gehören. Ab 8cm Länge entwickelt sich bei den Männchen ein breiter, weißer oder hellblauer Saum an der Rückenflosse, Körper und Kopf sind schillernd tintenblau. Kaiserbuntbarsche kommen endemisch im Malawisee in Afrika vor, wo sie in der Überganszone von Fels zu Sand leben. Die Art ist Revier bildend und zeigt ein stark ritualisiertes Kampfverhalten, gilt aber ansonsten als friedlich. Aulonocara bevorzugt mittelhartes Wasser mit 10-15° deutscher Härte und 24-28°C Temperatur, bei pH-Werten um 8. Als Laichsubstrat dient steiniger Untergrund. Als sogenannte Maulbrüter nehmen die weiblichen Tiere die bis zu 60 Eier sofort nach der Ablage ins Maul auf. Da dieses Brutverhalten die externe Befruchtung der Eier durch die Männchen erschwert, hat sich bei den Buntbarschen eine besondere Färbung der Afterflosse des Männchens entwickelt. Diese Flosse trägt als farbliche Zeichnung die „Eiflecke“, die in Form und Farbe die Eier der jeweiligen Art imitieren. Beim Balzverhalten werden diese Flecken dem Weibchen präsentiert, und wenn es versucht, die vermeintlichen Eier ins Maul aufzunehmen, gibt das männliche Tier sein Spermium an das Wasser ab, das so ins Maul des Weibchens zu den bereits aufgenommenen Eiern gelangt (RIEHL und BAENSCH, 1985).

### 2.1.2. Physiologie

#### 2.1.2.1. Atmung bei Fischen

Bei Fischen als aquatischen Lebewesen findet die Atmung unter erheblich anderen Bedingungen als an der Luft statt (GROS, 2000). Die hauptsächliche Gasaustauschzone bei Knochenfischen bilden die Kiemen (PAUL, 2001), daneben können aber auch andere Formen der Sauerstoffaufnahme vorkommen. Vor der Ausformung der Kiemen übernimmt bei Fischlarven die Haut den Großteil der Atmung und kann diese Funktion auch bei größeren

Tieren noch teilweise beibehalten (HOFFMANN, 2005). Weitere Spezialisierungen sind Sauerstoffaufnahme über Kapillargeflechte in der Darmschleimhaut nach dem Abschlucken von Luft, akzessorische Atmungsfelder in der Mundschleimhaut, sowie Nutzung der Schwimmblase als Atmungsorgan (HOFFMANN, 2005). Diese Abweichungen stellen aber besondere Anpassungen an außergewöhnliche Lebensräume dar und finden sich nur bei bestimmten Fischarten. Anatomische Grundlage der Kiemen als dem Hauptorgan der Atmung bilden beidseits des Pharynx je vier Kiemenbögen. Es handelt sich um hintereinanderliegende Knorpel- bzw. Knochenspannen, die von Schleimhaut überzogen sind. Auf ihrer Kaudalseite befinden sich jeweils zwei Reihen von Kiemenfilamenten (Primärlamellen). Diese falten sich wiederum an der Unter- und Oberseite in die atmungsaktiven Sekundärlamellen auf (PAUL, 2001). Die Kiemen trennen den Mundraum vom Kiemenraum, der wiederum durch das sogenannte Operculum vom Wasser separiert wird. Durch wechselnde Füllung des Mund- und Kiemenraumes wird ein unidirektionaler Strom von frischem Wasser durch die Kiemen erzeugt. Dabei werden Gase ihren Partialdruckgefällen entsprechend ausgetauscht (GROS, 2000). Die Schicht, die sie dabei vom Wasser zum Blut zu überwinden haben, ist ca. 2-3µm dick (alveolo - kapilläre Barriere der Lungen: 1µm) und besteht aus der äußeren Schleimschicht, Epithel, Basalmembran, Kapillarendothel, Blutplasma und dem Zellraum der Erythrocyten (PAUL, 2001). Kiemenbögen und Primärlamellen sind von einem mehrschichtigen Epithel überzogen, das Schleimzellen, Chloridzellen für den Ionenaustausch, Stäbchendrüsenzellen unbekannter Funktion, Makrophagen, Lymphozyten und Mastzellen enthält. Die Sekundärlamellen sind von einem sehr flachen zweischichtigen respiratorischen Epithel überzogen, in das einzelne Schleim- und Chloridzellen eingestreut sind (HOFFMANN, 2005). In den Sekundärlamellen verzweigen sich die Kiemenarterien in Lakunen, die von Pfeilerzellen getragen werden. Diese kontraktilen Zellen steuern auch das Lumen der Lakunen. Das Blut aus der ventralen Aorta wird in den Kiemenbögen oxygeniert und dann aus den Lakunen über die efferenten Arterien in die dorsale Aorta und die Körperperipherie abgegeben. Die Strömungsrichtung des Blutes in den Kiemengefäßen verläuft dabei genau entgegengesetzt zu der des Wassers durch die Kiemen (Gegenstromsystem; GROS, 2000).

Wasser weist bei gegebenem Sauerstoffpartialdruck nur 2-4% des Sauerstoffgehaltes der Luft auf. Der Sauerstoffaustausch zwischen Wasser und Blut erfordert also eine wesentlich höhere Ventilation. Deshalb beträgt das Verhältnis von der Durchströmung der Atmungsorgane mit Sauerstoff tragendem Medium zum Blutstrom durch diese Organe beim Menschen 0,8, bei der Forelle hingegen 10 (Ventilations - Perfusions - Verhältnis; GROS, 2000). Diese Hyperventilation ist nötig, um einen ausreichenden Sauerstofftransport sicherzustellen. Da Wasser das Kohlendioxid annähernd genauso gut aufnehmen kann wie Luft, ist der arterielle Kohlendioxidgehalt bei Wasser atmenden Tieren deutlich niedriger als beispielsweise bei Landsäugetieren und Vögeln. Erst (künstlich erzeugte) Ventilationsraten von unter 100ml pro Minute lassen den Kohlendioxidgehalt im Blut der Fische ansteigen und limitieren somit den Gasaustausch (IWAMA et al., 1987). Ein weiterer Unterschied ergibt sich aus der sehr viel höheren Viskosität des Wassers, was einen größeren Energieaufwand für die Ventilation erforderlich macht (Schleie: 30% des Ruheumsatzes, Mensch: 1% des Ruheumsatzes).

Da die Sauerstofflöslichkeit in Wasser stark temperaturabhängig ist, unterliegt die Sauerstoffversorgung von Wasseratmern einer großen Variabilität. Zusätzlich gibt es innerhalb natürlicher Gewässer Regionen, deren Sauerstoffpartialdruck wesentlich geringer ist als der der Luft.

Das in den Kiemen der Fische vorherrschende Gegenstromsystem ist ein besonders effektives Prinzip des Gasaustausches. Die Nachteile der relativ großen Diffusionsstrecke zwischen Wasser und Blut und der für den Sauerstofftransport ungünstigen Situation des Gasaustausches im Wasser können somit größtenteils kompensiert werden (GROS, 2000).

### 2.1.2.2. Stoffaustausch über die Kiemen

Über die Kiemen wird als das wesentlichste Endprodukt des Stickstoff-Stoffwechsels bei Fischen Ammoniak abgegeben. McDONALD und WOOD (2004) fanden dazu bei der Regenbogenforelle Hinweise auf einen Carrier - assoziierten Prozess der erleichterten Diffusion an der basolateralen Membran des Kiemenepithels. Auch für die Osmoregulation sind die Kiemen, neben Darm, Nieren und Haut, von entscheidender Bedeutung (SKADHAUGE, 2000). Bei Fischen im Süßwasser besteht ein großer osmotischer Gradient zwischen der Körperflüssigkeit und dem Wasser. Über die Körperoberfläche und ganz besonders die Kiemen wird deshalb Wasser aufgenommen. Dieses wird über die Nieren durch viel Harn von geringer Osmolarität wieder ausgeschieden. Das notwendige Natriumchlorid erhalten die Fische über die Nahrung, sowie durch die selektive Aufnahme von  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  aus dem Süßwasser durch die Kiemen. Dies bewerkstelligen die im flachen Kiemenepithel sitzenden dickeren Ionocyten oder Chloridzellen (benannt nach der hohen  $\text{Cl}^-$  Konzentration in der apikalen Grube; PAUL, 2001). Der Ionenaustausch durch diese Zellen beruht auf  $\text{Na}^+$  -  $\text{K}^+$  -Pumpen und bei Süßwasserfischen zusätzlich auf apikalen Protonenpumpen. Verbringt man Fische aus dem Süß- ins Salzwasser, so werden von ihnen diese Chloridzellen cortisongesteuert entwickelt. Dabei wird auch die osmotische Permeabilität der Kiemen reduziert. Umgekehrt werden die Vorgänge bei der Anpassung ans Süßwasser durch Prolaktin gesteuert (TAKEI und LORETZ, 2006).

Um eine Äquilibration zwischen Umgebungswasser und Plasma zu vermeiden, besitzt die apikale Membran des Kiemenepithels besondere Dichtigkeit. Da diese aber nicht allein durch eine „gewöhnliche“ Lipiddoppelschicht gewährleistet werden kann, vermuten HILL et al. (2004) weitere Mechanismen. Dazu zählt erstens die energieabhängige Aufrechterhaltung eines Konzentrationsgradienten über die Zelle für solche Stoffe, die sonst durch Diffusion verloren gehen könnten. Zweitens stellt die, vor allem bei Seewasserfischen 1-3 $\mu\text{m}$  dicke, Schleimschicht eine signifikante Diffusionsbarriere dar (HILL et al., 2004).

Die Adaptation an verschiedene osmotische Bedingungen wird somit im Wesentlichen über Funktionen der Kiemen gesteuert und nur untergeordnet durch Harnblase, Darm und Niere (SKADHAUGE, 2000).

Der Übertritt von Pharmaka an biologischen Membranen wird unter anderem durch deren biochemische Eigenschaften beeinflusst. Auch für die Kiemen gilt daher, dass Stoffübertritt durch Diffusion von der Lipid- bzw. Wasserlöslichkeit, dem Grad der Ionisation, der chemischen Stabilität und dem Molekulargewicht der jeweiligen Substanz abhängt (HUNN und ALLEN, 1974). So kann man davon ausgehen, dass Stoffe mit einer gewissen Ladung, Hydrophilie und einem Molekulargewicht über 100 vom Übertritt in eine Zelle ausgeschlossen sind, es sei denn, die Zelle besitzt spezifische Transportmechanismen für diese Stoffklasse (FREY und LÖSCHER, 2002). Für Medikamente, die in ionisierter Form vorliegen, vermuten ALLEN und HUNN (1986) als Mechanismen die Pinozytose nach Ligandenbindung oder eine Rezeptor -vermittelte Endozytose. Zudem muss berücksichtigt werden, dass auch die Pharmakologie einer Substanz ihre Aufnahme beeinflussen kann. Das Anästhetikum Tricainmethansulfonat (MS 222) reduziert laut HUNN und ALLEN (1974) durch seinen Einfluss auf das kardiovaskuläre und respiratorische System den Blutfluss in den Kiemen von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) um bis zu 24%, so dass die Aufnahme von Pharmaka beeinträchtigt werden kann.

### 2.1.2.3. Schmerz und Stress bei Fischen

#### 2.1.2.3.1. Schmerz

Schmerz beim Mensch ist definiert als bewusste Wahrnehmung einer Beeinträchtigung des Wohlbefindens, die von der betreffenden Person beschrieben und bewertet werden kann (OETINGER, 2003). Aus dieser Definition ergibt sich, dass die menschliche Empfindung Schmerz nicht ohne Einschränkung auf Tiere übertragbar und bei diesen schwer zu beurteilen ist (ERDMANN, 1999). Dies gilt insbesondere für Fische, da sie keine Mimik besitzen und ihnen die Fähigkeit zu differenzierter Vokalisation fehlt (STOSKOPF, 1993b).

Schmerzwahrnehmung entsteht bei Säugetieren, wenn Schmerzimpulse vom Ort ihrer Entstehung zum zentralen Nervensystem vermittelt werden. Dazu müssen Schmerzrezeptoren (Nociceptoren) aktiviert werden und Transmission der Schmerzimpulse über afferente Neurone, sowie Schmerzverarbeitung im Rückenmark und Gehirn stattfinden (EBERT et al., 2002). EBERT et al. beschreiben Entzündungsprozesse, mechanische Reize, Temperaturveränderungen oder Durchblutungsstörungen („Noxen“) als Schmerzursachen, die die Freisetzung sog. Schmerzmediatoren bedingen. Die physiologische Bedeutung des Schmerzes ist dabei eine Warnfunktion (akuter Schmerz). Mensch und Tier besitzen außerdem ein körpereigenes Schmerzkontrollsystem, das endorphinerge System. Es setzt sich zusammen aus den Endorphinen (*endogenes Morphin*), im zentralen und peripheren Nervensystem vorkommenden Peptiden, und den von ihnen aktivierten Endorphinrezeptoren (Opioidrezeptoren).

Bereits 1979 nahmen OLLENSCHLÄGER und REICHENBACH-KLINKE für Fische ein dem menschlichen ähnliches Schmerzempfinden an, „wobei Intensität und Auswirkung allgemein und artlich verschieden sind“.

Die Empfindung „Schmerz“ entsteht für gewöhnlich nicht nur aus einer rein sensorischen Komponente, sondern zudem aus der zugehörigen emotionalen Erfahrung (SNEDDON, 2004). Um gemäß dieser Auffassung Schmerz erfahren zu können, muss nach SNEDDON (2004) eine Liste von Kriterien erfüllt sein. Wenn folgende Bedingungen gegeben sind, kann man davon ausgehen, dass Tiere Schmerz erleiden können:

- Vorhandensein von Nociceptoren
- Gehirnstrukturen zur Schmerzverarbeitung
- Leitungsstrukturen zu übergeordneten Gehirnarealen
- Vorhandensein von Opioidrezeptoren und endogenen Opioiden
- Reduzierung der nociceptiven Antwort durch Analgetika
- Fähigkeit zur Entwicklung von Vermeidungsverhalten gegenüber Schmerz auslösenden Reizen
- Störung bzw. Aussetzen des normalen Verhaltens unter Einwirkung von Schmerzreizen

SNEDDON et al. konnten 2003(a) nachweisen, dass Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) den neuralen Apparat zur Schmerzverarbeitung besitzen. Durch elektrophysiologische Erfassung von extrazellulären Aktionspotentialen am Trigeminalganglion konnten zugehörige Nervenfasern als polymodale Nociceptoren identifiziert werden. Dabei reagierten die Rezeptoren bereits bei so geringer Stimulation, wie es beim Mensch nur bei Berührung der Hornhaut des Auges der Fall ist.

Fische besitzen zwar die zur Schmerzverarbeitung notwendigen Gehirnareale wie Pons, Medulla und Thalamus, der Cortex, der für die „Empfindung“ Schmerz Bedeutung hat, ist jedoch nur rudimentär vorhanden. Die Autoren führen jedoch an, wenn man einen Neocortex zur Bedingung für Schmerzempfindung mache, könnten nur Primaten dazu befähigt sein.

Anderen Säugetieren, Vögeln und Amphibien müsse man dann ebenfalls die Fähigkeit, Schmerz zu erfahren, absprechen.

Zu den wichtigsten Strukturen, die bei höheren Wirbeltieren in die Schmerzleitung zu übergeordneten Zentren involviert sind, gehören der Trigeminal- und der spinothalamische Trakt. Diese Strukturen wurden bei verschiedenen Knochenfischen nachgewiesen, fehlen jedoch den Knorpelfischen teilweise (SNEDDON, 2004).

Laut MACHIN (2001) wurden bei Fischen biochemische Beweise für die Fähigkeit zur Schmerzempfindung erbracht. So wurden bei Knochenfischen hochaffine Benzodiazepin-bindende Proteine gefunden, die den  $\alpha$ - Untereinheiten der GABA - Benzodiazepinrezeptoren der Säugetiere ähneln. Die Aktivierung der GABA - Rezeptoren im ZNS hat amnestische, antikonvulsive, sedierende und hypnotische Wirkung (EBERT et al., 2002). Für MACHIN (2001) gilt die Isolierung von endogenen Opioiden und den zugehörigen Rezeptoren bei diversen Fischarten als Beweis für die zentrale Verarbeitung von Schmerz. Denn andernfalls wäre ein endogenes System zur Schmerzmodulation überflüssig, es sei denn, dessen antinociceptive Funktion hätte sich erst später im Verlauf der Evolution entwickelt. SNEDDON (2003) zeigte, dass Morphin als Analgetikum schmerzbedingtes Verhalten und ein Ansteigen der Atemfrequenz bei Regenbogenforellen verhindern konnte, denen Essigsäure in die Lippen injiziert worden war.

Die Fähigkeit zur negativen Konditionierung bewiesen Goldfische, die Elektroschocks zu vermeiden lernten, ebenso wie Karpfen, die nicht wiederholt in Angelhaken bisßen (SNEDDON, 2004).

Dass das Verhalten von Regenbogenforellen unter schmerzhaften Reizen über Reflexe hinausgeht, konnten SNEDDON et al. 2003(b) nachweisen. Die Tiere zeigten komplexe Reaktionen auf Schmerzreize, die vom normalen Verhalten der Kontrolltiere abwichen und durch Analgetika teilweise wieder aufzuheben waren.

Zusammenfassend ist SNEDDON (2006) der Ansicht, sensorischer Schmerz bei Fischen ist mehr als wahrscheinlich und es scheint Beweise für psychisches Leiden der Fische zu geben, da ihre Verhaltensreaktionen auf schmerzhafte Reize lange anhaltend und nicht nur einfache Reflexe sind.

Auf Grundlage dieser bisher vorliegenden Erkenntnisse wird von OIDTMANN und HOFFMANN (2001) der Schluss gezogen, dass von der Fähigkeit zur Schmerzempfindung bei Fischen prinzipiell auszugehen ist, und dass Fische fähig sind, Leiden im Sinne des deutschen Tierschutzgesetzes zu empfinden.

### 2.1.2.3.2. Stress

DÖCKE (2000) beschreibt Stress beim Tier als „die Einwirkung physischer oder psychischer Reize (= Stressoren) auf den Organismus und dessen individuell geprägte unspezifische Reaktion darauf“. Da es für das Funktionieren des Organismus essentiell ist, Reize zu empfangen und zu bearbeiten, üben Stressoren meist eine positive Wirkung aus (Eustress). Distress, also Stress im negativen Sinn, tritt auf, wenn die Wirkung sehr starker Stressoren durch die Abwehrmechanismen des Organismus nicht oder nur unvollständig kompensiert werden kann. Dies gilt auch für schwächere Stressoren, wenn sie chronisch einwirken.

Laut OETINGER (2003) können bei Fischen Reaktionen auf einen Stressor äußerlich sichtbar werden in Form von Unruhe, erhöhter Atemfrequenz, veränderten Bewegungen, vermehrter Schleimproduktion, Ausstoßen von Schwimmblasenluft oder Wechsel der Körperfarbe. Stressindikatoren können sich aber auch indirekt im Fischorganismus als klinische, hämatologische, histopathologische (REICHENBACH-KLINKE, 1979) oder biochemische Veränderungen darstellen; besonders Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin) und Kortikosteroide spielen hierbei eine ausschlaggebende Rolle (GINGERICH und DROTTAR, 1989; BRETZINGER, 2001). Die Antwort der Fische auf Stress ist der der Säugetiere



vergleichbar (PETERS, 1979). Ihr Nervensystem erkennt die Bedrohung, und beinahe sofort wird Adrenalin in den Blutstrom freigesetzt. Es folgt eine Kaskade von Botenstoffen und physiologischen Vorgängen, die das Ziel verfolgen, den Fisch für seine Reaktion vorzubereiten. Die zur Fluchtreaktion nötige Energie soll bereitgestellt werden (PETERS, 1988; OSTRANDER, 2000). Als Ergebnis steigen Blutglukose, Erythrozytenzahl, Herzschlag- und Atemfrequenz an, während Verdauungsvorgänge vorübergehend stagnieren. Ist diese Kettenreaktion einmal, sei es auch nur durch einen sehr kurzen Reiz, ausgelöst, läuft sie komplett ab. So kann schon das rasche Umsetzen mit dem Kescher langfristigen Einfluss auf z.B. die Osmoregulation der Fische haben (GINGERICH und DROTTAR, 1989; OSTRANDER, 2000), da Adrenalin und Kortisol unter anderem Einfluss auf die Kiemenpermeabilität haben. Auch andere Autoren fanden die Blutsalzgehalte von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) noch 24 Stunden nach kurzzeitig einwirkendem Stress erhöht (SOIVIO et al., 1975).

## 2.2. Narkose bei Fischen

### 2.2.1. Allg. Begriffsdefinitionen

Zur Beschreibung der Betäubung von Tieren werden oft mehrere Begriffe synonym verwendet, so auch im Folgenden. Dennoch sollen die einzelnen Termini der Anästhesiologie, der Lehre von der Empfindungslosigkeit, kurz in ihrer eigentlichen Bedeutung definiert werden.

Der Begriff **Anästhesie** beschreibt dabei ganz allgemein die vollständige Empfindungslosigkeit in einem Körperteil oder dem ganzen Körper, üblicherweise ausgelöst durch Pharmaka, die die Aktivität des Nervensystems dämpfen (MUIR, 1993). Man unterscheidet weiterhin die Lokal- oder Regionalanästhesie von der Allgemeinanästhesie. 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 **Allgemeinanästhesie** stellt dagegen einen reversiblen Zustand der Bewusstlosigkeit (Hypnose) und Empfindungslosigkeit dar, der durch eines oder mehrere Anästhetika hervorgerufen wird. Dabei sollte auch Skelettmuskelentspannung (Immobilisation, Relaxation), Schmerzlinderung (Analgesie) und Hyporeflexie erreicht werden (MUIR, 1993; ERHARDT, 2004). Die **Chirurgische Anästhesie** ist ferner ein Zustand, bei dem Muskelrelaxierung und Analgesie ausreichen, um Operationen ohne Schmerzempfindung oder Muskelbewegungen des Patienten durchzuführen. Als **Narkose** beschreibt MUIR (1993) einen „durch Pharmaka hervorgerufenen Zustand der Betäubung oder Sedierung mit oder ohne Hypnose“ (künstlich erzeugter Schlafzustand) bei Unempfindlichkeit gegen Schmerzreize. Mit **Ruhigstellung**, Ataraxie und Neurolepsie werden Stadien der Ruhe und Gelassenheit bezeichnet. Der Patient ist dabei gegen schwächere Schmerzreize unempfindlich und an seiner Umgebung nicht interessiert, aber wach und jederzeit zum Aufstehen zu bewegen. Bewirkt wird dieser Zustand durch Dämpfung des Hypothalamus und der Formatio reticularis. **Sedierung** oder Beruhigung entsteht dagegen bei Dämpfung des zerebralen Kortex. Der Patient ist ebenfalls wach, aber ruhig und bei ausreichender Stimulierung zum Aufstehen zu bewegen. **Betäubung** ist als Ausschaltung des Bewusstseins und der Schmerzempfindung eines Tieres zur Vorbereitung auf einen operativen Eingriff oder auf die Schlachtung zu verstehen (BRETZINGER, 2001).

### 2.2.2. Indikationen

Nur in seltenen Fällen sind Fische „zahme“ Haustiere und nicht einmal dann dulden sie mehr Nähe zum Menschen als z.B. das Füttern aus der Hand. Daher neigen fast alle Fische bei Annäherung unbekannter Gegenstände oder Personen zur Flucht. Auch das manuelle Fixieren des nicht sedierten Tieres wird mit heftigen Abwehrbewegungen beantwortet. Solche Reaktionen können zu massiven Schädigungen der Tiere, vor allem ihrer empfindlichen Körperoberfläche führen. Als Folge treten sehr schnell Bakterien- und Pilzinfektionen auf, zum Teil mit tödlichem Ausgang (KÖLLE und HENKE, 2004). Je nach Fischart ist dabei auch Verletzungsgefahr für das durchführende Personal gegeben, z.B., wenn die Tiere stachelbewehrt sind. Eine physische Ruhigstellung ist zwar bei entsprechender Größe des Fisches für kurze Zeit bei einfachen Prozeduren möglich. Solche Zwangsmaßnahmen sind jedoch nur begrenzt einsetzbar, bedingt durch die Form der Fische und ihren schleimigen Überzug (SKARDA, 1993). Außerdem sind sie immer traumatisierend (Verletzung der Schleimschicht kaum vermeidbar) und für den Fisch mit Stress verbunden (PICKERING et al., 1982). Auch für einfachste Maßnahmen ist es also häufig notwendig, Fische zu immobilisieren. Viele Vorgänge erfordern zudem einen mehr oder weniger langen Aufenthalt des Tieres an der Luft und damit außerhalb ihres natürlichen Lebensraumes, wobei die chemische Immobilisation deutlich zur Vereinfachung und Stressminderung beiträgt (WAGNER et al., 2003). Die medikamentöse Ruhigstellung ist schonend und führt dadurch zu besseren Erfolgen, Arbeitserleichterung und Zeiteinsparung beim Umgang mit Fischen (BONATH, 1982). JOLLY et al. (1972) erwähnen eine durch Anwendung von MS222 beim Streifen von Bachforellen auf 5 von 35% reduzierte Mortalität. Zudem ist bei größeren und schmerzhaften Eingriffen eine ausreichende Anästhesie wie bei anderen Tieren essentiell, da auch Fische leidensfähig sind (REICHENBACH-KLINKE, 1979; STOSKOPF, 1994; KREIBERG, 2000; MACHIN, 2001). Aus Gründen des Tierschutzes sollte also die Betäubung Bestandteil des Umganges mit Fischen in der Veterinärmedizin, der Fischereibiologie und der Aquakultur sein. Im Einzelnen ergeben sich in Abstufung von Sedierung bis zur Allgemeinanästhesie folgende Indikationen (McFARLAND und KLONTZ, 1969; PÉNZES, 1980; STUART, 1981; BONATH, 1982; BROWN, 1988 und 1993a; SOTO und BURHANUDDIN, 1995; BOWSER, 2001; HOFFMANN, 2005):

- Abstreifen von „Milch“ und „Rogen“ bei Nutzfischen zur künstlichen Vermehrung (verhindert auch Zerstörung der Eier oder Zerreißung der Ovarien bei Abwehrreaktionen)
- diagnostische Maßnahmen, wie Haut- oder Kiemenabstriche, Biopsien, Blutabnahme, Röntgen, Ultraschall
- chirurgische Maßnahmen, z.B. Tumorentfernung bei Zierfischen, operative Laichentnahme bei Nutzfischen wie Stören (*Acipenser* sp.)
- Transport über längere Strecken
- Herausfangen und Umsetzen aus sehr großen Becken oder Schaubecken mit viel Inventar, z.B. in Zoos
- Experimentelle Untersuchungen und Forschungsvorhaben
- Sortieren von Fischen aus der Aquakultur nach Größe und Gewicht
- Markierung („tagging“) zur späteren Identifikation
- Euthanasie
- Schlachtung

### 2.2.3. Methoden

Prinzipiell lassen sich bei Fischen die gleichen Betäubungstechniken wie bei anderen Tieren anwenden. Aus dem aquatischen Lebensraum ergeben sich jedoch gewisse Unterschiede. Man kann grundsätzlich physikalische und chemische Betäubungsverfahren unterteilen. Zu den physikalischen Methoden gehören Hypothermie, Kopfschlag und elektrische Durchströmung. Die letzten beiden Methoden sind derzeit laut Anlage 3 der TierSchlVO in der Bundesrepublik Deutschland im Rahmen der Schlachtung von Fischen, die zur Gewinnung von Lebensmitteln dienen, zugelassen. Aufgrund der Begleiterscheinungen bzw. der nicht zu prüfenden Schmerzausschaltung sollten diese drei Verfahren auch aus Tierschutzgründen nicht zur Anwendung kommen, wenn ein Weiterleben der Tiere nach der Betäubung erwünscht ist (SKARDA, 1993; STOSKOPF, 1993b). Somit sind für den überwiegenden Anteil der in Kapitel 2.2.2 aufgeführten Indikationen chemische Betäubungsmethoden Verfahren der Wahl. Man unterscheidet hier die orale und parenterale (i.p., s.c., i.v., i.m.) Applikation eines Stoffes mit Betäubungseffekt, sowie die Inhalationsnarkose. Letztere erfolgt beim Fisch in Form eines Narkosebades oder durch direkte lokale Applikation auf die Kiemen als Spray (GILBERT und WOOD, 1957; KIDD und BANKS, 1990).

#### Orale Applikation von Anästhetika

Diese Art der Verabreichung ist für die Tiere mit dem geringsten Stress verbunden, hat aber auch deutliche Nachteile. Allein das Einbringen des Wirkstoffes in das Futtermittel ist bereits technisch problematisch, da sich das Narkotikum nicht ins umgebende Wasser verflüchtigen soll. Zudem ergeben sich dieselben Schwierigkeiten wie bei jeder oralen Medikation, nämlich die der ungenauen Dosierung, des verzögerten Wirkungseintrittes durch die Resorption über den Darm, sowie der Akzeptanz. Letzteres stellt besonders für solche Fische ein Problem dar, die wie Karpfen überwiegend auf Naturfutter eingestellt sind (KÖLLE und HENKE, 2004; HOFFMANN, 2005;).

#### Parenterale Applikation von Anästhetika

Aufgrund des hohen Arbeitsaufwandes ist die Injektionsnarkose nur für die Behandlung von Einzeltieren praktikabel und spielt als Applikationsweg für Anästhetika beim Fisch kaum eine Rolle (BONATH, 1977; KÖLLE und HENKE, 2004). Diese Methode empfiehlt sich nur bei sehr großen Aquarien, wenn sich die Zugabe von Medikamenten ins Wasser aufgrund der Vergesellschaftung verschiedenster Spezies verbietet, oder eine Reduzierung des Wasserstandes impraktikabel ist, sowie für experimentelle Zwecke (OSWALD, 1978). Mit Ausnahme der „Unter - Wasser - Distanzimmobilisation“ (HARVEY et al., 1988), für die aufwendige Apparaturen und eventuell Taucher nötig sind, und die sich nur für größere Fische eignet, müssen die Tiere für eine Injektion per Hand zudem im Vorfeld immobilisiert bzw. fixiert und gewogen werden. Dabei kann es ebenso wie durch den Einstich zu Verletzungen der empfindlichen Körperoberfläche der Fische mit nachfolgender Verpilzung kommen. Bei sehr großen Fischen ist dies zwar zu vernachlässigen, kann aber bei kleineren Tieren zur Gefahr werden (HARMS, 1999).

Am gebräuchlichsten ist die **intraperitoneale Injektion** (i.p.) ventral in die Mittellinie nach kranial. Der Ort der Applikation ist jedoch vage und es besteht die Gefahr einer Verletzung der Milz. Aufgrund der ausgeprägten physiologischen Adhäsion von Organen am Peritoneum bei Karpfen ist hier die Gefahr von Injektionen in Organe besonders groß. Zudem können Medikamente nach unbeabsichtigter Injektion in das Darmlumen zur Ausscheidung gelangen, ohne resorbiert werden zu können (ROSS, 2001).

Die **subkutane Injektion** (s.c.) wird paramedian der Rückenflosse durchgeführt (HOFFMANN, 2005). Diese Art der Applikation wird aber von den meisten anderen Autoren, die ganz allgemein Medikationstechniken beschreiben, nicht einmal erwähnt (BROWN, 1988; STOSKOPF, 1993a, b; HARMS, 1999).

Für die **intravenöse Injektion** (i.v.) sollten die Fische ein Körpergewicht von über 100g haben, damit man die Vena caudalis ventral der Wirbelsäule auffinden kann. Aufgrund der komplizierten Methode hat sich dieses Verfahren in praxi ebenfalls nie durchgesetzt (HARMS, 1999).

Für Knorpelfische wird die **intramuskuläre Injektion** (i.m.) vielfach beschrieben (ANDREWS und JONES, 1990; DUNN, 1990; WILLIAMS et al., 1993/2004; SNYDER et al., 1998; HARMS, 1999), HARMS (1999) beurteilt sie bei Knochenfischen jedoch als unbefriedigend und nur für minimale Eingriffe praktikabel. HOFFMANN (2005) bezeichnet diese Art der Applikation bei Knochenfischen sogar als Kunstfehler. Der Großteil der Fischmuskulatur besteht nämlich aus sogenannter „weißer“ Muskulatur, die überwiegend anaerob arbeitet und deshalb nur schlecht durchblutet ist. Dies führt insbesondere bei lipophilen Pharmaka zu sehr schlechter Resorption und verhindert das Erreichen erwünschter Wirkspiegel. Auch laut BROWN (1988) kann dies ferner zu Nekrosen an der Injektionsstelle führen. Sie erwähnt auch, dass die Medikamente durch Schwimmbewegungen der Fische teilweise wieder ausgepresst werden und sich dann die Dosierung nicht mehr exakt bestimmen lässt.

### Applikation über die Kiemen

Die Aufnahme eines Narkotikums über die Kiemen lässt sich entweder durch ein Narkosebad oder durch direkte Applikation auf das Kiemenepithel erreichen. Letztere Methode ist weniger praktikabel für größere Tierzahlen, außerdem muss der Fisch wiederum im Vorfeld fixiert und gegebenenfalls außerhalb des Wassers verbracht werden (GILBERT und WOOD, 1957; KIDD und BANKS, 1990).

Die im Umgang mit Fischen gebräuchlichste Art der Anwendung von Narkotika ist die Applikation über das Wasser (BONATH, 1977; BROWN, 1988; STOSKOPF, 1993; HARMS, 1999; BOWSER, 2001; STETTER, 2001).

Hierbei wird das Tier in ein Becken verbracht, in dessen Wasser das Narkotikum gelöst ist. Die Aufnahme über die Kiemen ist dabei der Inhalationsnarkose der Säuger vergleichbar. Diese Methode besitzt viele Vorteile gegenüber anderen Möglichkeiten der Applikation von Narkotika (BONATH, 1977; STOSKOPF, 1993; HARMS, 1999; KÖLLE und HENKE, 2004):

- nicht invasiv
- der Fisch muss nicht fixiert sein
- rascher Wirkungseintritt, da das ZNS nach Resorption des Narkotikums über das Kiemenepithel schnell erreicht wird
- es können mehrere Tiere nacheinander oder auf einmal in ein Narkosebad verbracht werden, bzw. das Medikament wird in das gewohnte Becken mit beliebig vielen Fischen eingebracht, wobei weiteres Umsetzen mit dem Kescher entfällt
- durch Eintauchen der Fische in Narkoselösung oder Frischwasser kann die gewünschte Anästhesietiefe variiert werden
- über Rezirkulationssysteme kann auch außerhalb des Wassers eine beliebig lange Narkose aufrechterhalten werden (BROWN, 1987; HARMS, 1999), wenn weiter Narkosemittel -haltiges Wasser über die Kiemen geleitet wird

Als Nachteil dieses Verfahrens ist anzusehen, dass bei der Anwendung in Schauaquarien große Wassermengen belastet und komplett ersetzt werden müssen. Außerdem kann es bei

längerem Aufenthalt im Narkosebad zu einer Kumulation des Wirkstoffes im Fischorganismus kommen, deren Folgen vom jeweiligen Pharmakon abhängen. Ebenso ist das Ausmaß von Nebenwirkungen auf die Fische durch eventuelle Veränderung der Wasserparameter je nach eingesetztem Narkotikum unterschiedlich zu beurteilen.

### 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 Fischnarkose eingesetzte Substanz. Als Forscher nach einem synthetischen Ersatz für Kokain suchten, wurde es zufällig entdeckt. Es handelt sich um ein Isomer des Benzocain, bei dem die Aminogruppe in der *meta* - Position, statt auf der *para* - Position am Benzenring sitzt. Das zusätzliche Sulfonatradikal macht das Tricain besser wasserlöslich und saurer als die Elternsubstanz. Seine Molekülformel lautet  $C_9H_{11}O_2 N + CH_3SO_3H$  und das Molekulargewicht beträgt 261,3. Es liegt als feines weißes, geruchloses Pulver vor, das bei 20°C frei in Wasser löslich ist. Bei trockener Lagerung unter 25°C und vor direktem Sonnenlicht geschützt ist das Pulver bis zu 5 Jahre stabil. Eine Stammlösung mit 10g MS 222 pro Liter Wasser lässt sich gekühlt in einer lichtgeschützten Flasche mindestens einen Monat lagern (ALPHARMA technical bulletin, 2001). Andere Namen sind Tricainmethansulfonat, Tricainmesilat, Metacain und Ethyl - m - aminobenzoat.

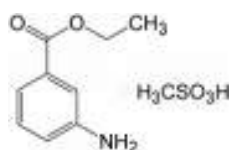


Abbildung 1: Strukturformel Tricain (OHR, 1976)

#### Pharmakokinetik

Tricain wird sehr rasch durch Diffusion über die Kiemen aufgenommen (HUNN und ALLEN, 1974). Dies ist bedingt durch die hohe Fettlöslichkeit der freien Base und den Konzentrationsgradienten. Die durch Biotransformation in Leber, Nieren, Blut und Muskulatur entstehenden sauren Metaboliten werden über Nieren und Galle ausgeschieden, unverändertes Tricain und unpolare Stoffwechselprodukte über die Kiemen (RYAN, 1991; ALPHARMA technical bulletin, 2001). Bei verschiedenen Süßwasserfischarten konnte gezeigt werden, dass Tricain in der Leber an das mikrosomale Cytochrom P- 450 bindet. Dabei bestehen zwischen den Spezies große Unterschiede in der Fähigkeit, Tricain zu metabolisieren (ALLEN und HUNN, 1987). Die Gewebekonzentration verringert sich innerhalb von 24 Stunden nach Exposition auf nicht messbare Werte, allerdings geschieht dies langsamer bei jüngeren Fischen und in kälterem Wasser. Aus diesem Grund und wegen fehlender Daten bei Säugetieren ist die Wartezeit in den USA auf 21 Tage festgelegt und in Großbritannien auf 70 Tagesgrade (SMITH et al., 1999; ALPHARMA technical bulletin, 5/2001). Bei der Regenbogenforelle liegen 77-96% der über den Urin ausgeschiedenen Substanz in acetylierter Form vor. Der Blutgehalt an ungebundenem Tricain erreicht etwa 75% der Konzentration im Tauchbad und hat eine Halbwertszeit von ungefähr 8 Stunden (STOSKOPF, 1993b). Das Verhältnis von Tricain im Gewebe zum Blut ist außer im Gehirn kleiner als 1,0, in Faeces, Schleim und Gameten ließ sich Tricain nie nachweisen (ALLEN und HUNN, 1987).

#### Pharmakodynamik

Obwohl Tricain den Narkotika zugeordnet wird, lässt sich nicht definitiv feststellen, ob damit eine Allgemeinanästhesie zu erreichen ist, oder ob die beobachteten Symptome nur durch komplette Muskelrelaxation verursacht werden. Allerdings sind die sehr hohen

Konzentrationen an ungebundener Substanz, die man im Gehirn narkotisierter Fische findet, ein Indikator dafür, dass hier der Hauptwirkungsort von Tricain liegt (RYAN, 1991). Der beim Übergang von einer Sedation zur Anästhesie auftretende Verlust des Gleichgewichts und der lokomotorischen Koordination deutet ebenfalls auf eine Unterbrechung der Hirnfunktion hin.

### Nebenwirkungen/ Toxizität

Tricain besitzt eine große therapeutische Breite bei Fischen. Bei der Anwendung als Anästhetikum kann es allerdings zu einer Erhöhung des Hämatokrits, Abnahme des Blut-pH-Wertes, Erythrozytenschwellung, Hypoxie, Hyperkapnie, Hyperglykämie und Veränderungen der Blutelektrolytwerte kommen (SOIVIO et al., 1977; SMIT et al., 1979; NIEMINEN et al., 1982; IWAMA et al., 1989). Nach SMIT et al. (1979) kann dieser „chemische Stress“ für die Fische durch Neutralisation (Pufferung) des Tricain vermindert werden. Wiederholte Anwendung von Tricain hat keinen signifikanten Einfluss auf die Blutzusammensetzung. NIEMINEN et al. (1982) stellten erst nach vier Narkosen einen Anstieg der Blutglukose fest. SMITH et al. (1999) stellten jedoch ab der dritten Anwendung bei Niltilapien (Hybriden) eine verkürzte Induktionszeit fest.

Tricain ist in den Konzentrationen, mit denen für Fischnarkosen gearbeitet wird, als ungiftig für den Menschen anzusehen (KÖLLE und HENKE, 2004). BERNSTEIN et al. beschrieben 1997 jedoch einen Fall von Retinotoxizität des Tricain beim Menschen. Ein Ichthyologe hatte 30 Jahre lang unbehandelt mit MS 222 gearbeitet und klagte über verschlechterte Sehkraft und Photophobie. Nach 7 Monaten ohne Exposition gegenüber Tricain erreichte sein Elektretinogramm wieder Normalwerte. LaTOUCHE und KIMELDORF fanden bereits 1978 Veränderungen in den Retinogrammen mit Tricain narkotisierter Molche.

Tricain wirkt toxisch bei Verwendung im Salzwasser und im Sonnenlicht (ERHARDT et al., 2004). Die Substanz weist eine große Labilität auf und die Narkoselösung muss deshalb immer wieder frisch angesetzt werden, um Vergiftungen durch entstehende Abbauprodukte zu vermeiden (HERKNER, 2001). Bei kühler und dunkler Lagerung ist die angemischte Lösung etwa drei Monate haltbar (ERHARDT et al., 2004). Bei einigen Spezies und besonders bei Jungfischen besitzt Tricain eine nur geringe therapeutische Breite (STOSKOPF, 1993b). Studien bei Welsen ergaben Hinweise auf den temporären Verlust von Zilien im olfaktorischen Epithel. In diesem Fall wäre der Gebrauch von Tricain bei wandernden Fischarten kontraindiziert, da sie wahrscheinlich mit Hilfe ihres Geruchssinnes ihre Laichgewässer finden (BELL, 1987).

### Dosierung / Anwendung

Trotz speziesbedingter Unterschiede lässt sich die Dosierung für eine Sedation mit 20-50mg/l Wasser angeben, eine chirurgische Anästhesietiefe wird mit 50-100mg/l erreicht (BROWN, 1988; siehe dazu Tabelle 4).

Bei der Anwendung von Tricain als Tauchbadnarkose müssen verschiedene Parameter berücksichtigt werden, die die Effektivität beeinflussen können. Wenn die fertige Lösung des Anästhetikums neutralisiert wird, beschleunigt sich die Induktionszeit und die benötigte Dosis verringert sich (OHR, 1976). Auf diese Weise wird auch eine tiefere und länger andauernde Anästhesie erreicht (SMIT und HATTINGH, 1979). Viele Autoren empfehlen deshalb eine Pufferung der Lösung mit Natriumbikarbonat oder Tris - Puffer (BROWN, 1993b; STOSKOPF, 1993a; KÖLLE und HENKE, 2004). Geeignet sind außerdem Imidazol, Natriumhydrogenphosphat und Natriumhydroxid (HARMS, 1999). Mit steigender Temperatur und Dosis verkürzt sich die Einleitungsphase (SYLVESTER, 1975), allerdings wird auch die therapeutische Breite eingeschränkt (HARMS, 1994). BROWN (1987) bemerkt, dass bei ausreichender natürlicher Pufferkapazität des jeweils verwendeten Wassers ein Einfluss des Tricain auf den pH-Wert der Lösung nicht zu erwarten ist. Nach Angaben der

Firma Alparma ist zu berücksichtigen, dass kleinere Fische gewöhnlich empfindlicher gegenüber einer Anästhesie sind, als größere (ALPHARMA technical bulletin, 5/2001). Die Anwendung beim Stör ist nicht empfehlenswert, da MS 222 bei dieser Spezies selbst bei Dosen von 400 mg/l nicht ausreichend effektiv ist, aber verzögerte Erholung bewirkt (FLEMING et al., 2003).

Tabelle 1: Dosierungsvorschläge MS 222

Dosis (mg/l Wasser)	Zweck	Fischart	Quelle
10- 50 50-100	Sedation Anästhesie	Allgemein	HOLLAND,1973; SEDGWICK, 1986; BELL, 1987; BROWN, 1988; ERHARDT et al.,2004; STUNKARD und MILLER, 1974
20-85 (160) 100-200 60-70 20-250	Anästhesie	Karpfen Tilapien, adult Tilapien, Brutfische andere Spezies	ROSS, 2001
10-25 50-133	Sedierung Narkose	Allgemein	REICHENBACH- KLINKE, 1980
5-30 40-100	Transport Anästhesie	Allgemein	OSTRANDER, 2000
10-30 40-50 50-130 130-600	Sedierung Narkose	Alle Salmoniden meisten Zierfische Karpfen	BONATH, 1982
50-100 50-60	Induktion Erhaltung	Allgemein	STOSKOPF, 1995
15-50 100-200 50-100	Sedation Induktion Erhaltung	Allgemein	HARMS, 1999
25-35 50-100	Transport tiefe Anästhesie	Allgemein	McFARLAND und KLONTZ, 1969
50-200	Anästhesie	Karpfen	HIKASA et al., 1986
75-125 50-75	Induktion Erhaltung	Allgemein	STETTER, 2001
25-100 12,5	Anästhesie Transport	Allgemein	STUART, 1981
25-300	Anästhesie	Größere Tiere höhere Dosis	JOLLY, 1972
10-30 30-80  80-180 20-30 30-200 30-50	Sedation leichte Anästhesie tiefe Anästhesie Sedation Anästhesie Sedation	Forelle   Karpfen  Tropische Süßwasserarten	ALPHARMA technical bulletin, 5/2001

Dosis (mg/l Wasser)	Zweck	Fischart	Quelle
75-100	Anästhesie	Allgemein	FOWLER, 1993

#### 2.2.4.2. Benzocain ( Ethylaminobenzoat, Ethyl-p-aminobenzoat)

Benzocain (Molekulargewicht 165,2) ist eigentlich ein Lokalanästhetikum vom Ester-Typ, das wegen des Fehlens der Aminogruppe im aliphatischen Teil des Moleküls wasserunlöslich ist - im Gegensatz zu seinem Derivat Tricainmethansulfonat (FREY und LÖSCHER, 2002). Es handelt sich um ein kristallines Pulver, das als Stammlösung mit Ethanol, Methanol oder Aceton angesetzt wird (0,5g in 5 ml) und weniger Stressreaktionen als Tricainmethansulfonat hervorrufen soll (STOSKOPF, 1993a). Die Nebenwirkungen sind denen des Tricain vergleichbar. Aufgrund der guten Fettlöslichkeit von Benzocain kann es zu einer verlängerten Dauer der Anästhesie bei großen oder älteren Fischen kommen. Dosierte werden 25-100mg pro l Wasser (SKARDA, 1993) für die chirurgische Anästhesie, bzw. 15-30 mg/l zur Sedation (BROWN, 1988). Der oft angeführte günstige Anschaffungspreis wird durch die Kosten für benötigte Lösungsvermittler relativiert (BROWN, 1988). Obwohl gemäß EU-Recht die Anwendung von Benzocain als Lokalanästhetikum bei Lebensmittel liefernden Tieren derzeit (2006) erlaubt ist, gibt es in Deutschland keine für das Tier zugelassenen Monopräparate (LÖSCHER, 2006).

#### 2.2.4.3. Metomidat / Etomidat

Etomidat ist das Ethyl-Analogue von Metomidat, das 1997 für die Anwendung bei Lebensmittel liefernden Tieren verboten wurde. Beide Wirkstoffe haben vergleichbare chemische und pharmakologische Eigenschaften und sind als weißes kristallines Pulver gut wasserlöslich. Es handelt sich um Nonbarbiturate, die Imidazol - Abkömmlinge sind. In der Humanmedizin haben beide Hypnotika keine analgetischen Eigenschaften. Man muss deshalb auch bei Fischen davon ausgehen, dass nur Stadien der Sedation erreicht werden können und der Gebrauch für chirurgische Indikationen nicht zu empfehlen ist (BROWN, 1988). Metomidat (Molekulargewicht 266,7), auch bekannt als Hypnodil®, wurde erfolgreich als Fischenästhetikum eingesetzt. Es erlangte in den 1980er Jahren große Aufmerksamkeit, weil damit narkotisierte Fische keine Spitzen in den Serum - Cortisol - Werten zeigten, die andere Anästhetika hervorriefen. Man schien ein absolut „Stress - freies“ Narkosemittel gefunden zu haben. Später wurde jedoch bekannt, dass dieser Effekt auf einer immunsuppressiven Wirkung des Metomidat beruht, der eine metabolische Blockade der Cortisolsynthese bewirkt. Ähnliche Ergebnisse bei Etomidat führten zu dessen Entfernung aus der Pharmacopoe von Großbritannien. Als Nebenwirkung bei der Anwendung von Metomidat können Myoklonien auftreten, dennoch dient es als nützliches Fischsedativum. Die Induktionszeit ist kurz und auch die Erholung erfolgt rasch, sogar schneller als bei Tricainanwendung, solange die Fische sofort nach eintretendem Gleichgewichtsverlust aus der Lösung entnommen werden. Andernfalls führt eine lange Verweildauer im Narkosebad zu extrem verzögerten Aufwachphasen (BELL, 1987). Die oben erwähnte Cortisolblockade führt bei einigen Spezies zur Dunkelfärbung unter Narkose. Die Synthese des Melanocytensstimulierenden Hormones und von ACTH sind nämlich gekoppelt, und das negative feedback für die ACTH- Synthese fällt ohne Cortisolwirkung weg. (STOSKOPF, 1993a+b). Empfohlene Dosierungen liegen für Etomidat bei 2-4 mg/l und für Metomidat bei 3-5 mg/l für die tiefe Sedation (BROWN, 1988; STOSKOPF, 1993 a + b; HARMS, 1999). Gouramis scheinen besonders empfindlich auf Metomidat zu reagieren. In Deutschland befindet sich derzeit (Juni 2006) kein für Tiere zugelassenes Arzneimittel mit einem der beiden Wirkstoffe im Handel.



#### 2.2.4.4. Chloralhydrat

Es handelt sich um ein Sedativum und Hypnotikum mit ähnlichen Eigenschaften wie die Barbiturate. Chloralhydrat (Molekulargewicht 165,4) ist ein wasserlöslicher, kristalliner Stoff, dessen 10%ige Lösung einen pH-Wert von 3,5-4,4 besitzt. Wenn es dem UV-Licht ausgesetzt wird, zerfällt es rasch in Säuren. Beim Mensch wirkt es reizend auf Haut und Schleimhäute, wenn es nicht stark verdünnt wird. Zudem gilt es als Leber schädigend bei Warmblütern. Deshalb sollte Chloralhydrat nicht als Mittel der Wahl gelten (STOSKOPF, 1993a). Im Organismus wird die Substanz rasch zu Trichlorethanol metabolisiert, das als aktiver Metabolit die Hauptwirkung ausmacht (LÖSCHER et al., 2006). Chloralhydrat wurde hauptsächlich zur Sedation auf Transporten eingesetzt, da ein kontrollierbares tiefes Anästhesiestadium schwierig zu erreichen ist (McFARLAND und KLONTZ, 1969). Seit Anfang 2000 ist der Einsatz dieses Wirkstoffes bei Lebensmittel liefernden Tieren in der Europäischen Union verboten und Chloralhydrat ist in Deutschland nur noch in Tablettenform als humanmedizinisches Schlafmittel im Handel (LÖSCHER, 2006).

#### 2.2.4.5. Quinaldinsulfat (2-Methylquinolon)

Quinaldinsulfat ist ein gut wasserlösliches, hellgelbes Pulver. Gewöhnlich wird es nach Herstellung einer Stammlösung aus 10g/l Wasser verwendet. Da diese Lösung allerdings stark sauer ist, sollte das Narkosebad mit Natriumbikarbonat gepuffert werden. Quinaldinsulfat wird vom Fisch nicht metabolisiert und völlig unverändert ausgeschieden. Allein angewendet verursacht es rasche Induktion und Erholung. Allerdings eliminiert es nicht alle Reflexantworten, sodass komplizierte chirurgische Prozeduren behindert werden. Abwehrreaktionen und „Hustenreflex“ (durch spuckende Bewegungen werden eventuelle Verschmutzungen aus dem Mund - Kiemen - Raum entfernt), die beim nicht - sulfatierten Quinaldin beobachtet werden, treten beim Quinaldinsulfat nicht auf (SCHÄPERCLAUS, 1990). Wärmeres Wasser erhöht die Toxizität, bei pH-Werten ab 5 und weniger ist es wirkungslos. Bewährt haben sich Kombinationen mit Tricain im Verhältnis 10:1 Tricain zu Quinaldinsulfat. Die Einzeldosierung beträgt 50-100mg/l Wasser (McFARLAND und KLONTZ, 1969; BELL, 1987; STOSKOPF, 1993b; HARMS, 1999;). GILDERHUS und MARKING fanden 1987, dass Quinaldinsulfat (und 2-Phenoxyethanol) große Fische bei niedrigeren Konzentrationen anästhetisierte als kleinere Tiere.

#### 2.2.4.6. 2-Phenoxyethanol

Phenoxyethanol ist eine ölige, farblose Flüssigkeit mit leicht aromatischem Geruch. Es besitzt eine mäßige Wasserlöslichkeit und muss mit Aceton versetzt werden, um wirksame Mengen in Wasser lösen zu können. Aufgrund einer milden antibakteriellen Aktivität wurde es auch als topisches Antiseptikum verwendet (BELL, 1987). Die Induktion bei einer Dosierung von 0,1-0,5ml/l Wasser ist mit 10-30 min relativ lang, aber die Erholungsphase ist kürzer (McFARLAND und KLONTZ, 1969). Diese Substanz ist krebserregend (LECHLEITER, 2006).

#### 2.2.4.7. Eugenol / Nelkenöl / Aqui - S®

Isoeugenol ist ein synthetisches Derivat des Eugenol, dem Hauptbestandteil von Nelkenöl. Unter der Bezeichnung AQUI - S® ist diese Substanz bereits in vielen außereuropäischen Ländern zur Betäubung von Speisefischen zugelassen, in Deutschland allerdings nicht. Eugenol selbst ist in vielen Ländern als Lebensmittelzusatzstoff zugelassen (KÖLLE und HENKE, 2004). Viele Studien haben die Wirksamkeit sowohl von Nelkenöl als auch Isoeugenol belegt (ANDERSON et al., 1997; AUPERIN et al., 1998; STEHLY und GINGERICH, 1999; DAVIDSON et al., 2000; OETINGER, 2003). Laut Produktinformation der Firma AQUI - S® New Zealand Ltd. (undatiert) ist dieses Derivat im Gegensatz zum natürlichen Eugenol direkt wasserlöslich, effektiv bei Dosierungen von 10-20 mg/l Wasser und ruft keine Abwehrreaktionen bei Fischen hervor. AQUI - S® ist eine klare, visköse, gelbliche Flüssigkeit, die nach längerem Hautkontakt reizend wirken kann. STEHLY und GINGERICH (1999) attestieren ihm aber eine große therapeutische Breite. Laut WAGNER et al. (2003) kann Nelkenöl sogar die kurzzeitigen Stressreaktionen von Regenbogenforellen effektiver vermindern als Tricainmethansulfonat. SOTO und BURHANUDDIN (1995) stellen außerdem die Kostengünstigkeit dieses überwiegend in Indonesien produzierten Rohstoffes dar.

#### 2.2.4.8. Ketaminhydrochlorid

Anmerkung:

Ketamin- und Xylazinhydrochlorid, sowie deren Kombinationen, gelten bisher nicht als „typische“ Fischanästhetika, und die Erfahrungen mit diesen Substanzen stammen zum überwiegenden Teil aus der Anwendung bei Säugetier und Mensch. Daher werden die Eigenschaften dieser Pharmaka im Folgenden erst allgemein bezüglich der Anwendung beim Säugetier und dann, sofern entsprechende Daten vorhanden sind, speziell bei Fischen beschrieben.

Ketamin gehört zu den Phencyclidinen. Diese Substanzen rufen eine sogenannte „dissoziative Anästhesie“ hervor. Sie beinhaltet neben depressiven Komponenten wie Bewusstlosigkeit und Analgesie auch erregende Anteile, z.B. Katalapsie und Krämpfe. Ketamin kommt als (S)-(+)- und als (R)-(-)- Enantiomer vor. In der Tiermedizin zugelassene Präparate stellen ein Gemisch aus beiden Formen, ein Ketamin-Razemat, dar (ERHARDT et al., 2004).

Ketamin ist ein weißes, kristallines Pulver, das bis zu 20% in Wasser löslich ist, wobei eine zehnpromzentige Lösung einen pH-Wert von etwa 3,5 aufweist.

Nach der „Verordnung (EWG) Nr.2377/ 90 des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs“, Artikel 3, findet sich Ketamin in Anhang II der Verordnung als Stoff, für den es „im Interesse des Schutzes der öffentlichen Gesundheit nicht notwendig ist, eine Höchstmenge für Rückstände festzusetzen“. Es ist dort zur Anwendung für „alle zur Lebensmittelerzeugung genutzten Arten“ zugelassen.

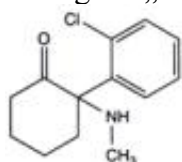


Abbildung 2: Strukturformel Ketamin (FREY und LÖSCHER, 2002)

#### Pharmakokinetik

Bei intakten Kreislaufverhältnissen wird Ketamin nach intramuskulärer Injektion innerhalb weniger Minuten resorbiert (ADAMS und WERNER, 1997). Die Substanz hat eine tierartlich und individuell sehr unterschiedliche Wirkdauer. Ihre durchschnittliche Halbwertszeit im Organismus beträgt 40 bis 60 Minuten. Bei prolongierten Anästhesien kommt es aufgrund der ausgeprägten Lipophilie von Ketamin zu einer Kumulation. 70% des verabreichten Ketamin sind nach 24 Stunden im Urin zu finden. Bei Mensch, Pferd und Hund wird es hauptsächlich

in der Leber verstoffwechselt, wobei Norketamin und Dehydronorketamin entstehen. Über die Nieren erfolgt bei Katzen die Ausscheidung des zum Großteil unveränderten Ketamin, bei den anderen Spezies die der Metaboliten (EBERT et al., 2002). MALINOVSKY et al. stellten 1996 in einer Studie an 32 Kindern fest, dass Ketamin nach nasaler Verabreichung eine gute Bioverfügbarkeit aufweist aufgrund der Umgehung des „first - pass - Effektes“ in der Leber. Die Menge an Ketamin, die die systemische Zirkulation erreicht, ist gegenüber einer intravenösen Applikation zwar reduziert, aber es fand eine gute Resorption über die Schleimhaut der Nase statt. Die Kinder mussten dabei nicht husten und es traten keine Schleimhautreizungen auf.

### Pharmakodynamik

Ketamin wirkt im Zentralen Nervensystem auf die NMDA (*N* – Methyl - *D* - aspartat) - Rezeptoren für Glutamat (YAMAMURA et al., 1990; SASAKI et al., 2000), dessen erregende Wirkung verhindert wird (EBERT et al., 2002). Bei Aktivierung dieses exzitatorischen Rezeptors öffnet sich ein Kationen - Kanal. Durch Anheften an eine Bindungsstelle im Inneren des Kanals verhindern Ketamin und ähnliche Stoffe im Sinne einer nicht - kompetitiven Blockade den Ionentransport. Mit ansteigender Dosis kommt es zu Katalapsie, Anästhesie und, bei Überdosierung, zu zentraler Erregung bis hin zu Krämpfen. Bewusstlosigkeit und Analgesie sind die Folgen einer Dämpfung des thalamo-corticalen Systems (assoziativer Bereich des Cortex), während die Katalapsie durch Erregung limbischer Zentren bereits in anästhetischer Dosis entsteht. Eine Muskelrelaxation ist damit nicht zu erreichen. Pharyngeal- und Laryngealreflexe bleiben ebenso wie Husten-, Schluck- und Lidreflex voll erhalten. Auch reflektorische Reaktionen auf Hypoxie und Hyperkapnie werden nicht unterdrückt. Atem- und kreislaufdepressive Wirkungen fehlen (GREEN et al., 1981; LÖSCHER, 2006). Nach ERHARDT et al., 2004, bewirkt die Aktivierung sympathischer Zentren durch Ketamin eine Anregung der Atemzentren, aber die Atemfrequenz wird reduziert und häufig ein apnoisches Atemmuster erzeugt. Die Blutgase werden dadurch allerdings kaum verändert (ERHARDT et al., 2004). Der Blutdruck ist zu Beginn um 20-30% erhöht infolge einer gesteigerten sympathischen Aktivität. Das Herzzeitvolumen wird erhöht und es besteht ein positiv inotroper Effekt. Der koronare Blutfluss steigt und der koronare Gefäßwiderstand nimmt ab, wohingegen der periphere Gefäßwiderstand unverändert bleibt (ERHARDT et al., 2004). Eine antiarrhythmische Wirkung am Herzen wird vermutet (LÖSCHER, 2006).

Die vermehrte Salivation bei Säugetieren kann durch Atropin - Prämedikation verringert werden. Diese Stimulationsvorgänge beruhen auf der inhibitorischen Wirkung von Ketamin auf die GABA ( $\gamma$  - Aminobuttersäure) - Bindung im Zentralen Nervensystem (CULLEN und MARTIN, 1982). Die GABA- Rezeptoren wirken bei Aktivierung hemmend.

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 ist. Bei viszeralem Schmerz ist die anästhesierende Wirkung von Ketamin unzureichend. 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).

Einen erhöhten Sauerstoffverbrauch trotz verminderter Atembewegungen stellten BRUECKER und GRAHAM 1993 nach intravenöser Injektion auch bei einer tropischen Süßwasserfischart fest (*Heros / Cichlasoma citrinellum*, Günther, 1864). FLEMING et al. fanden dies 2003 ebenfalls bei Stören (*Acipenser oxyrinchus de soti*). Intravenöse Gaben von Ketamin verursachen signifikante Azidosen bei Salmoniden (GRAHAM und IWAMA, 1990).

### Nebenwirkungen / Toxizität

Ketamin besitzt eine große therapeutische Breite bei fehlender Organtoxizität (GREEN et al., 1981; ADAMS und WERNER, 1997). Zu beachten ist jedoch, dass seine vasopressorische Wirkung zu einer erhöhten Blutungsneigung führt. Bei Hund, Pferd und Raubkatzen treten bei alleiniger Verabreichung Erregungserscheinungen und Krämpfe auf. Folge von Überdosierungen sind Krämpfe, Atemlähmung und Herzarrhythmien. Bei Leber- und Nierenschäden kommt es zu Störungen bei der Ausscheidung, und auch bei Eklampsie und Epilepsie ist Ketamin kontraindiziert. Durch die vermehrte Hirnperfusion wird der zerebrospinale Liquordruck und auch der intrakranielle Druck erhöht, weswegen Ketamin bei Patienten mit Schädel-Hirn-Trauma oder zur Myelographie nicht verwendet werden sollte. (Laut ADAMS und WERNER (1997) ist eine Erhöhung des intrakraniellen Druckes bei analgetischen Ketamindosen von 0,5 bis 1,0 ml/kg Körpergewicht nach intravenöser Injektion nicht zu erwarten.). Als Nachteile sind sehr lange und von Ataxien begleitete Aufwachzeiten, die auch bei Fischen beobachtet wurden (OSWALD, 1978; WILLIAMS et al., 1993), sowie das bei Großtieren nötige große Injektionsvolumen bei alleiniger Anwendung von Ketamin zu betrachten. Außerdem existiert kein spezifischer Antagonist zu Ketamin (JALANKA, 1991).

### Dosierung / Anwendung

Ketamin ist für kürzere Eingriffe oder zur Einleitung von Inhalationsnarkosen geeignet. Es ist wirksam bei Alkylphosphat induzierten Krämpfen. Da die Anästhesiedauer bei intravenöser Anwendung kurz ist, empfiehlt sich die intramuskuläre Injektion, nach der die Bioverfügbarkeit circa 90% beträgt. Dabei sollte aber der pH-Wert des jeweiligen Präparates berücksichtigt werden, da die Injektion bei den meist zwischen 3,5 bis 5,5 liegenden Werten schmerzhaft sein und zu Nekrosen führen kann. Bei Fischen lässt sich die Narkosedauer nicht mit der Erhöhung der Dosis verlängern, dies wirkt sich nur verzögernd auf die Erholungsphase aus. Zum Einsatz bei Fischtransporten scheint Ketamin daher nicht geeignet, jedoch für Eingriffe, die längere und intensivere Handhabung der Tiere erforderlich machen (BRUECKER und GRAHAM, 1993).

Ketamin zeigt in seiner Wirkung große tierartige Unterschiede (EBERT et al., 2002).

Aufgrund der auftretenden Erregungszustände und der entstehenden Muskelrigidität empfiehlt sich grundsätzlich eine Kombination mit anderen Anästhetika, wobei sich besonders  $\alpha_2$ -Adrenozeptoragonisten (siehe unten) und Benzodiazepine bewährt haben (EBERT et al., 2002; ERHARDT et al., 2004; LÖSCHER, 2006).

Dosierungsempfehlungen für Fische siehe Tabelle 3.

#### 2.2.4.9. Xylazinhydrochlorid

Analgetika vom Typ des Xylazins sind zentral und peripher angreifende  $\alpha_2$ -Rezeptoragonisten. Das in den 60er Jahren entwickelte Thiazinderivat Xylazin ist Prototyp der Gruppe und gleichzeitig Ausgangspunkt für weitere Entwicklungen. Zu diesen gehören Medetomidin, Detomidin und Romifidin, die sich durch bessere selektive Wirkung auf zentrale  $\alpha$ -Adrenozeptoren auszeichnen. Xylazin verursacht einen lang andauernden sedativen und einen kürzer bestehenden analgetischen Effekt, die Tiere sind aus einem schlafähnlichen Zustand weckbar (JALANKA, 1991). Das Ausmaß der analgetischen Wirkung ist dabei starken tierartigen Schwankungen unterworfen. Beim Schwein lässt sich innerhalb nicht-toxischer Dosen keine völlige Schmerzfreiheit erreichen (LÖSCHER, 2006).

Zur klinischen Anwendung kommt Xylazinhydrochlorid, ein weißes, kristallines Pulver, das mindestens bis zu einer Konzentration von 500 mg/l in Wasser löslich ist und einen pH-Wert von etwa 5,5 aufweist. Xylazin befindet sich in Anhang II, Verzeichnis der Stoffe, für die keine Höchstmengen für Rückstände gelten, der Verordnung (EWG) Nr. 2377/ 90 des Rates

vom 26. Juni 1990 und ist zur Anwendung bei Rindern und Equiden, die zur Gewinnung von Lebensmitteln dienen, zugelassen. Da für Fische in Deutschland kein zur Betäubung zugelassenes Präparat existiert, kann ein für andere Lebensmittel liefernde Tiere zugelassener Wirkstoff aus Anhang I-III der oben genannten Verordnung umgewidmet werden. Dabei ergibt sich nach §12a, Absatz 2, der Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) für essbare Gewebe von Fischen eine Wartezeit von 500 dividiert durch die mittlere Wassertemperatur (Grad Celsius) als Anzahl der Tage.

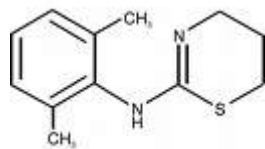


Abbildung 3: Strukturformel Xylazin (FREY und LÖSCHER, 2002)

### Pharmakokinetik

Wird Xylazin intravenös appliziert, erfolgt der Wirkungseintritt nach 3-5 Minuten, bei intramuskulärer Injektion in 10 bis 15 Minuten, wobei die Bioverfügbarkeit tierartlich von 20-90% stark variiert (LÖSCHER, 2006). Xylazin wird relativ schnell in der Leber metabolisiert. Die Plasmahalbwertszeit schwankt je nach Tierart bei intravenöser Gabe von 20 bis 50 Minuten. Entsprechend hält die analgetische Wirkung für 15-20 Minuten an, die Sedation dauert 0,5 bis 4 Stunden. Die Ausscheidung der Metaboliten von Xylazin erfolgt über die Nieren.

### Pharmakodynamik

Die zentrale Dämpfung wird durch eine gesteigerte GABA ( $\gamma$ -Aminobuttersäure) - und verminderte Acetylcholin - Freisetzung verursacht, während die analgetische Wirkung auf der Hemmung der spinalen nozizeptiven Reflexaktivität beruht (ERHARDT et al., 2004). Unmittelbar nach parenteraler Applikation von Xylazin kommt es zu einem Blutdruckanstieg, da zunächst die peripheren postsynaptischen  $\alpha$  - Adrenozeptoren stimuliert werden. Wenn dann später auch zentrale prä- und postsynaptische  $\alpha$  - Rezeptoren im Bereich des Nucleus tractus solitarii (Kreislaufzentrum) erreicht sind, wird der Sympathikotonus gesenkt, und es folgt eine Abnahme des Blutdruckes und der Sympathikuswirkungen am Herzen. Die initiale Blutdruckerhöhung und Bradykardie bis hin zum AV-Block zweiten Grades (arrhythmische Wirkung) gehen nach etwa 15 Minuten zurück. Das Herzminutenvolumen wird verringert. Die abgesenkte Atemfrequenz hat bei Hund und Katze keinen Einfluß auf Blutparameter wie pH-Wert, Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck, da sie durch Erhöhung des Atemzugvolumens kompensiert wird (LÖSCHER, 2006). Weitere Wirkungen sind zentrale Muskelrelaxation durch Hemmung der Reizübertragung im Rückenmark und Sekretionshemmung, deren Stärke etwa 50% der von Atropin ausgelösten beträgt. Bei Rindern und Schafen wird allerdings die Salivation gesteigert, was durch Atropin unterdrückt werden kann. Beim Hund und besonders der Katze stimuliert Xylazin das Brechzentrum mit ausgeprägter Wirkung als einige klassische Emetika. Es bestehen lokalanästhetische Effekte.

Die Wirkungen von Xylazin sind durch  $\alpha$  - Adrenolytika wie Atipamezol, Yohimbin und Tolazolin antagonisierbar. Die letzten beiden sind allerdings in Deutschland nicht mehr im Handel und Atipamezol besitzt nur eine Zulassung für Hunde. Dieser Wirkstoff wurde als Antidot für den spezifischen  $\alpha_2$  - Rezeptoragonisten Medetomidin entwickelt, und über seine Verwendung zur Antagonisierung anderer  $\alpha_2$  - Agonisten wie z.B. Xylazin liegen bisher wenige klinische Erfahrungen vor (LÖSCHER, 2006). Aus diesen Gründen, sowie finanziellen Aspekten und der fehlenden Zulassung für Lebensmittel liefernde Tiere wurden derartige Substanzen nicht in die vorliegende Studie miteinbezogen. Bei Fischen setzten FLEMING et al. (2003), HORSBERG et al. (1999) und WILLIAMS et al. (2004) Atipamezol in der bis zu sechsfachen Dosis gegenüber Medetomidin zu dessen Antagonisierung erfolgreich ein.

Nebenwirkungen / Toxizität

Xylazin kann Atemdepression, verminderte Pansentätigkeit, Tympanien, Durchfall, Erbrechen, Mydriasis, Ptosis und durch Ausfall der Thermoregulation einen erheblichen und andauernden Abfall der Körpertemperatur verursachen mit Ausnahme des Rindes, bei dem es zum Temperaturanstieg kommt. Zungengrund - und Schlundkopflähmungen bergen die Gefahr der Aspirationspneumonie (MÄRKLE et al., 1991). Selten treten Erregungserscheinungen auf. Dies ist vor allem dann der Fall, 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 Abort ausgelöst werden. Die therapeutische Breite von Xylazin wird als gering eingestuft. Toxische Reaktionen treten beim Hund ab einer Dosis von 5 mg pro Kilogramm Körpergewicht und bei der Katze ab 10 mg/kg auf. Für Rinder beträgt die bei 50% der Tiere letal wirkende Dosis 1 mg/kg. Zusätzlich zu einer Verstärkung der Nebenwirkungen besteht dabei die Gefahr von Atemlähmung, Kollaps und Krämpfen (LÖSCHER, 2006).

Bei Knochenfischen wirkt Xylazin Krampf auslösend und verändert das Elektrokardiogramm stark (STOSKOPF, 1990). OSWALD beobachtete 1978 bei Forellen den Ausfall von koordinierten spontanen Atembewegungen bei anästhetisch wirksamer Dosis.

Dosierung / Anwendung

Xylazin wird überwiegend per Injektion zur Sedation, auch als Prämedikation vor Narkosen, eingesetzt. Die analgetischen und Muskel relaxierenden Effekte lassen es bei Untersuchungen, Behandlungen und chirurgischen Eingriffen zum Einsatz kommen. Beim Großtier besitzt Xylazin eine starke Wirkung gegen viszerale Schmerzen, im Bereich der distalen Gliedmaßen ist die Analgesie jedoch unzureichend. Für schmerzhafte Eingriffe sollte es in Kombination mit Lokalanästhetika, Narkotika, Neuroleptika oder Ketamin eingesetzt werden. Dabei wird die benötigte Dosis dieser Medikamente reduziert, ebenso bei Inhalationsnarkosen (ERHARDT et al., 2004).

HORSBERG et al. (1999) wendeten das  $\alpha_2$  - Adrenergicum Medetomidin erfolgreich über das Narkosebad an, konnten damit bei Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) allerdings selbst mit einer Dosis von 20 mg/l nur eine tiefe Sedation, nicht aber Anästhesie hervorrufen.

Dosierungen für Fische siehe Tabelle 3.

2.2.4.10. Ketamin-Xylazin-Kombinationen / Hellabrunner Mischung

Aufgrund der verschiedenen oben aufgeführten Defizite von Ketamin und Xylazin bei jeweils alleiniger Anwendung wird generell zur kombinierten Applikation beider Substanzen geraten, um die unerwünschten Wirkungen zu kompensieren (ERHARDT et al., 2004; LÖSCHER et al., 2006). Besonders die  $\alpha_2$  - Adrenozeptoragonisten, zu denen Xylazin gehört, ergänzen Ketaminanästhesien ideal, da sich die jeweiligen Nebenwirkungen gegenseitig ausgleichen (GREEN et al., 1981). In Tabelle 2 sind diese Wirkungen zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 2: Synergismus von Ketamin und  $\alpha_2$  -Rezeptoragonisten (nach ERHARDT et al., 2004)

	$\alpha_2$ -Agonisten	Ketamin	Kombination
Herzfrequenz	niedrig	hoch	moderat

	<b><math>\alpha_2</math>-Agonisten</b>	<b>Ketamin</b>	<b>Kombination</b>
Herzrhythmus	arrhythmisch	antiarrhythmisch	regelmäßig
Skelettmuskulatur	relaxiert	rigide	entspannt
Atmung	flach	reduziert bis apnoisch	kräftig

Von den zahlreichen möglichen Kombinationsprotokollen haben einige orientierende Studien auch bei Fischen zu ersten positiven Ergebnissen geführt. Vor allem bei Knorpelfischen werden Ketamin - Xylazin - Mischungen seit mehreren Jahren eingesetzt (ANDREWS und JONES, 1990; STOSKOPF, 1990; BROWN, 1993b; SCHAEFFER, 1997; HARMS, 1999 und 2003). Ketamin und Xylazin werden dabei meist im Verhältnis von etwa 2:1 gemischt (JONES und ANDREWS, 1990). Hingegen erwiesen sich bei diesen Tieren Tiletamin - Zolazepam - Kombinationen als nicht effektiv (STOSKOPF, 1990). FLEMING et al. machten 2003 mit Medetomidin - Ketamin - Kombinationen gute Erfahrungen bei Stören (*Acipenser oxyrhynchus de soti*). Diese Mischung unterdrückte die schwere Atemdepression und die verzögerte Aufwachphase, die bei Anwendung von Ketamin allein festgestellt wurden. WILLIAMS et al. (2004) schlagen die gleiche Mischung als sicheres und effektives Anästhesieprotokoll für Makrelen (*Scomber japonica*) und Bonitos (*Sarda chilensis*) vor. Die wirksamen Dosen unterscheiden sich dabei für die beiden Fischarten stark. Im Gegensatz dazu beschreibt HARMS (2003) Knochenfische als refraktär für die Effekte von Ketamin und  $\alpha_2$  - Agonisten, sodass er diese Wirkstoffe nur zur Sedation, nicht aber als Anästhetika zur Verabreichung über das Wasser empfiehlt. Alle aufgeführten Angaben beziehen sich auf Applikation der Präparate per Injektion (überwiegend intramuskulär).

Die in dieser Arbeit verwendete Ketamin - Xylazin - Mischung enthält die Komponenten im Verhältnis 1:1,25. Diese Kombination ist im deutschsprachigen Europa als sogenannte „Hellabrunner Mischung“ (im Weiteren „HM“) bekannt (JALANKA, 1991). Sie wurde im Jahr 1974 am Münchener Tierpark Hellabrunn eingeführt und wird heute in der Zoo- und Wildtierpraxis vielfach eingesetzt (MÄRKLE et al., 1991; WIESNER, 1998). Ursprüngliches Ziel bei der Entwicklung der HM war die Optimierung der Distanzimmobilisation von Zoo- und Wildtieren sowie Gatterwild. Da für diese Zwecke eine Anwendung im Narkosepfeil zur Verabreichung per Blasrohr oder Narkosegewehr nötig ist, müssen Anästhetika dabei besonderen Anforderungen genügen. Am wichtigsten ist dabei eine große therapeutische Breite des Medikamentes, da Gewichte der Tiere meist nur geschätzt werden können (WIESNER und VON HEGEL, 1985). In dieser Hinsicht hat sich die HM bis 2004 in über 3420 Narkosen bei Tieren aus mehr als 200 Arten von Säugetieren, Reptilien und Vögeln mit einer Mortalität von nur 0,35% (12 Todesfälle) bewährt (WIESNER, 2004). Für die Anwendung in Wildgattern sind neben Tierschutzaspekten auch im Hinblick auf die spätere Unversehrtheit des Fleisches eine gute lokale Gewebeverträglichkeit sowie die Zulassung für Lebensmittel liefernde Tiere von Bedeutung. Weitere Eigenschaften der HM sind rasche Resorption, schneller Wirkungseintritt, ausreichend lange Wirkungsdauer und die Möglichkeit, durch Nachdosierung bis zum gewünschten Narkosestadium zu vertiefen oder zu verlängern (WIESNER, 1998). Ein zusätzlicher Vorteil ist, dass die angesetzte Lösung auch bei 0°C oder tropischen Verhältnissen über 18 Monate stabil und wirksam bleibt und dabei auch unter Einfluss von Luftsauerstoff nicht toxisch wird (GÖLTENBOTH, 1995). Die HM wird hergestellt, indem man in einem Fläschchen mit 500mg Xylazin - Trockensubstanz diese mit 4ml einer 10%igen Ketaminlösung (entspricht 400mg Ketamin) auflöst. Ein Milliliter dieser kolloiddispersen Lösung enthält dann ca. 125mg Xylazin und 100mg Ketamin. Der im Vergleich zu anderen Mischungsverhältnissen höhere Xylazinanteil der HM macht dadurch einen größeren Teil der Narkose antagonistisierbar (WIESNER, 1988) (Siehe unter 2.2.4.9.: Abschnitt Pharmakodynamik). Unterstützend wirkt beim Säugetier dabei auch Etilefrin (Effortil®), obwohl es kein spezifischer Antagonist einer der beiden Komponenten ist (WIESNER, 2004).

Tabelle 3: Ketamin, Xylazin und Kombinationen: Dosierungsempfehlungen für Fische

<b>Ketamin (mg/kg KG)</b>	<b>Xylazin (mg/kg KG)</b>	<b>Kombinationen (mg/kg KG)</b>	<b>Bemerkungen</b>	<b>Quelle</b>
130-150 i.m. 30 i.v.	100		Lange Aufwachzeiten; Exzitationen	KÖLLE und HENKE, 2004
14-18 i.m. 12-20 i.m.		12 Ketamin + 6 Xylazin	Hai	BROWN, 1993b
66-68 i.m. 12-20 i.m.		12-20 Ketamin + 6 Xylazin	Teleostier; Haie	HARMS, 1999 und 2003
14-18 i.m.			Speziesunterschiede	STOSKOPF, 1994 MACHIN, 2001
66-88				STOSKOPF, 1995
12-20 i.m.		12-20 Ketamin + 6 Xylazin	Haie	STOSKOPF, 1990
66-68 i.m./ 12-20 i.p.			Knochenfische; Haie und Rochen	ROSS, 2001
66-88 i.m.		1-2 Ketamin + 50- 100µg Demitomidin	Knorpel- und Knochenfische	WILLIAMS et al., 1993
30 i.v.			Bei Lachs und Forelle	GRAHAM und IWAMA, 1990
Ohne Dosis- angabe	1,1 i.v. 2,2 i.m.		Hai	DUNN, 1990
		16,5 Ketamin + 7,5 Xylazin	Haitransport	ANDREWS und JONES, 1990
14-18 i.m.		15-25 Ketamin + 6-12 Xylazin	Verschiedene; Knorpelfische	SCHAEFFER, 1997
		5-10 Ketamin + 60-80 Medetomidin i.m.	Hai	SNYDER et al., 1998; STETTER, 2001
		4 Ketamin + 0,4 Medetomidin i.m.; 53-228 Ketamin + 0,6-4,2 Medetomidin	Bonito;  Makrele	WILLIAMS et al., 2004
		6 Ketamin + 0,06 Medetomidin i.m.	Stör	FLEMING et al., 2003
30 i.v.			Cichliden	BRUECKER und GRAHAM, 1992
	100 i.p.		Forellen; künstliche	OSWALD, 1978



Ketamin (mg/kg KG)	Xylazin (mg/kg KG)	Kombinationen (mg/kg KG)	Bemerkungen	Quelle
			Beatmung nötig	
50-100 mg/l <b>Wasser !!!</b>			„Zierfische“	HERKNER, 2001

(KG= Körpergewicht; i.m.= intramuskulär; i.v.= intravenös ; i.p.= intraperitoneal)

### 2.2.5. Narkoseüberwachung

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). Dabei unterscheidet sich die Beurteilung der Narkosetiefe bei Fischen anhand der Reflexe und des klinischen Zustandes in wesentlichen Punkten von derjenigen bei höheren Wirbeltieren (BONATH, 1982). Bereits bei Reptilien überwiegen tierklassenspezifische Reaktionen. Und je einfacher die phylogenetische Entwicklung der Wirbeltiere ist, desto weniger entsprechen die Möglichkeiten der Reflexprüfung herkömmlichen Prinzipien der Narkoseüberwachung bei den Haustieren (BONATH, 1977). Nach BONATH (1982) sind beim Fisch neben Flossenbewegungen und Atmungsverhalten nur der Flossenreflex (entsteht durch Kneifen, dem Zehenreflex der Säuger vergleichbar), der Umkehrreflex (Gleichgewichtssinn) und der Muskeltonus zur Beurteilung der Narkosetiefe geeignet. Beim Flossenreflex handelt es sich wahrscheinlich um einen Spinalreflex, der später als der cerebrale Schmerzreflex ausfällt. Er wird deshalb von BONATH (1977) nicht als zuverlässig eingestuft, im Gegensatz zu den Reaktionen des Gleichgewichtsorgans und dem Verhalten der Kiemendeckelbewegung. Der Autor erwähnt außerdem, dass die bei einigen Spezies auftretende Farbveränderung zu kräftigeren Farben mit einem minderen Nerven- und Muskeltonus, wie er in der Narkose besteht, assoziiert sei. HARMS (1999) führt hingegen blasse Flossensäume, verursacht durch Hypoxie oder Hypotension, als Indikatoren für ein extrem tiefes Narkosestadium an. Als zusätzliche Parameter führt er den Kiefertonus, die Kiemenfarbe und bei entsprechend großen Fischen die Bestimmung der Blutgaswerte an. Und obwohl der Puls beim Fisch nicht zu fühlen sei, könne man unter optimalen Bedingungen dank der dünnen Körperwand teilweise den Herzschlag direkt beobachten. HARMS (1999) und STETTER (2001) berichten beide über unbefriedigende Ergebnisse der Pulsoximetrie beim Fisch und beschreiben als weitere technische Überwachungsmöglichkeiten Doppler und Herzultraschall, sowie Elektrokardiogramm, wohingegen diese Verfahren nach KÖLLE und HENKE (2004) nur sehr wertvollen Einzeltieren oder experimentellen Zwecken mit spezieller Fragestellung vorbehalten bleiben. Dabei ist zu beachten, dass für die meisten Fische „normale“ Herzfrequenzen nicht bekannt sind und sie unter Anästhesie einen deutlich langsameren Herzschlag haben als terrestrische Tiere vergleichbarer Größe (STETTER, 2001).

Bereits durch genaue Beobachtung der Schwimmbewegungen, des Verhaltens, der Einhaltung des Gleichgewichts sowie der Frequenz und Amplitude der Kiemendeckelbewegung in Verbindung mit der Reaktion auf von außen auf das Tier einwirkende visuelle und taktile Stimuli lässt sich der Narkosezustand eines Fisches in allen Phasen der Narkose zuverlässig beurteilen (BONATH, 1977; KÖLLE und HENKE, 2004). HOFFMANN (mündliche Mitteilung 2005) und KÖLLE und HENKE (2004) empfehlen, folgende **Kriterien** bei der Beurteilung der Narkosetiefe heranzuziehen:

- Kiemendeckelbewegung
- Schwimmfähigkeit
- Gleichgewichtsverlust

- Seitenlage / Rückenlage
- Antwort auf Berührungsreize bzw. Verlust der Drucksensitivität / der Wahrnehmung von Kontakt
- Augendrehreflex (Bulbi liegen im Toleranzstadium plan)

### 2.2.6. Narkosestadien

Um die Anästhesietiefe beurteilen zu können, ist es hilfreich, auch beim Fisch eine Einteilung in verschiedenen tiefe Narkosestadien vorzunehmen (STETTER, 2001). Zahlreiche Autoren haben dazu Protokolle mit unterschiedlichen Stufen erstellt (McFARLAND 1959; McFARLAND und KLONTZ, 1969; BONATH 1977 und 1982; STUART, 1981; SEDGWICK, 1986; BELL, 1987; DUNN, 1990; RYAN, 1991; STOSKOPF, 1993a; SENGMÜLLER-SIEBER, 1999; BRETZINGER, 2001; SLADKY et al., 2001; STETTER, 2001; OETINGER, 2003; KÖLLE und HENKE, 2004; WILLIAMS et al., 2004). BROWN (1993b) weist darauf hin, dass zwar generell die meisten Fischarten diese Stadien durchlaufen, aber Abweichungen möglich sind. Diese hängen ab von individuellen Unterschieden der Fische, dem jeweiligen Narkosemittel und der Initialdosis. BRETZINGER (2001) macht darauf aufmerksam, dass die Verhaltensäußerungen der Tiere zudem von mehreren Untersuchern subjektiv unterschiedlich aufgefasst werden. Ferner sind die Reaktionen des Gleichgewichtsorgans und die Atmung zuverlässige Parameter bei der Beurteilung der Narkosetiefe von Fischen, alle übrigen Reaktionen und ihre zeitliche Zuordnung zu den verschiedenen Narkosestadien nicht immer eindeutig (BONATH, 1982). Zusammenfassend wird meist von fünf Narkosestadien ausgegangen, wobei Stadium I und II nochmals in Ebenen unterteilt werden können.

Tabelle 4 : Übersicht Narkosestadien (verändert nach STOSKOPF, 1993a)

Narkosestadium	Ebene	Bezeichnung	Physiologische Anzeichen und Verhaltensäußerungen des Fisches
0		normal	aktives Schwimmen, Reaktion auf äußere Stimuli, Gleichgewicht und Muskeltonus physiologisch
I	1	leichte Sedation	R. auf Reize↓(auf Vibration noch+), Gleichgewicht+, Atmung+, aktive Bewegung↓
	2	tiefe Sedation	Gleichgewicht+, Muskeltonus+, R. auf optische Reize-, Vibration↓↓, aktives Umherschwimmen-, AF↓
II	1	leichte Anästhesie	Gleichgewicht↓↓, Muskeltonus↓, AF↑, Exzitationen, ev. kurze Seitenlage
	2	tiefer Anästhesie	Gleichgewicht-, Muskeltonus-, AF↓↓, keine Positionskorrektur, R. nur auf massive taktile Reize
III		chirurgische Anästhesie (Toleranzstadium)	Gleichgewicht-, Muskeltonus-, AF↓↓, keine Positionskorrektur und keine R. auf Reize mehr
IV		medullärer Kollaps	irreversibler Kreislauf- und Atemstillstand

Zeichenerklärung: ↑ = erhöht, ↑↑ = stark erhöht, ↓ = vermindert, ↓↓ = stark vermindert, + = vorhanden, - = nicht vorhanden, AF = Atemfrequenz, R. = Reaktion

Eine völlig andere Meinung vertreten GILDERHUS und MARKING (1987). Sie testeten die Effektivität 16 anästhetisch wirksamer Chemikalien bei der Regenbogenforelle. Beim Versuch, bei den verschiedenen Wirkstoffen die Zeit bis zum Erreichen der einzelnen Narkosestadien zu bestimmen, kamen sie zu dem Ergebnis, dass nicht bei jedem Anästhetikum die „klassischen“ Stufen offensichtlich wurden. Sie entschieden deshalb, als Zielgröße nicht ein bestimmtes Narkosestadium zu wählen, sondern definierten die sogenannte „handleability“. D.h., der Fisch sollte ergriffen, von einer Hand zur anderen verbracht und flach auf einer horizontalen Oberfläche gehalten werden können, ohne fähig zu sein, so zu zappeln oder zu springen, dass die Handhabung erschwert würde. Denn dieses erwünschte Kriterium erreichten die Tiere je nach Chemikalie entweder bereits im Stadium I, gekennzeichnet durch leichten Gleichgewichtsverlust (siehe Tabelle 4), oder erst spät im Stadium des totalen Reflexverlustes. Dabei machen GILDERHUS und MARKING (1987) immer wieder die Subjektivität solcher Einteilungen bewusst.

Bei der **Aufwachphase** sind verschiedene Stadien gelegentlich nur undeutlich zu differenzieren (HARMS, 1999), lassen sich jedoch ebenso verallgemeinernd in ein Schema fassen, das dem der Narkoseeinleitung entgegenläuft (SLADKY et al., 2001). Hierbei werden ebenso Körperhaltung und -bewegung, Kiemendeckelbewegung und Reaktion auf externe Stimuli beurteilt. Sobald der Fisch selbständig zu atmen beginnt, sollte er am besten sich selbst überlassen werden, auch wenn er noch nicht in der Lage ist, eine normale Körperhaltung einzunehmen, da dies mit dem geringsten Stress verbunden ist (HARMS, 1999). HARMS (1999) empfiehlt, den Fisch bis zur vollständigen Erholung unter reduzierter Beleuchtung zu halten und ein mögliches Entkommen aus dem Behältnis zu verhindern, da einige Tiere beim Aufwachen heftige Exzitationen zeigen.

Bedingt durch den zwangsläufigen Aufenthalt an der Luft nach dem Herausnehmen aus dem Narkosebad verringert sich die Kiemendeckelbewegung oft extrem und kann sogar völlig sistieren. Muss der Fisch nicht länger als 1-2 Minuten an der Außenluft verbleiben, braucht man deswegen keine Maßnahmen zu ergreifen und das Tier wird sich meist völlig unauffällig erholen, sobald es in ein Becken mit frischem Wasser umgesetzt wird (BROWN, 1993b). Dennoch sollte die Atmung in der Erholungsphase sorgfältig überwacht werden (BROWN, 1993b; STOSKOPF, 1993b). Setzen im Frischwasser nicht innerhalb von 30 bis 45 Sekunden wieder Kiemendeckelbewegungen ein, kann versucht werden, den Fisch mit geöffnetem Maul vorwärts (keinesfalls rückwärts, Kiemenschädigung!) durchs Wasser zu schieben (BONATH, 1977; STOSKOPF, 1993b; HARMS, 1999). Auf diese Weise soll vermehrt sauerstoffreiches Wasser an den Kiemen vorbeigeleitet werden, was meist zum Einsetzen der Spontanatmung durch vermehrte Abgabe des Narkotikums führt (BONATH, 1982).

#### 2.2.7. Die Narkose beeinflussende Parameter

Verschiedene innere und äußere Faktoren haben mehr oder weniger starken Einfluss auf Verlauf und Tiefe einer Narkose beim Fisch (BONATH, 1977; KÖLLE und HENKE, 2004). Zu den inneren oder biologischen Faktoren gehören **Größe** und **Gewicht** der Fische, **individuelle Empfindlichkeit**, **Geschlecht**, **Alter**, **Fettgehalt**, **Kondition**, **Stressfaktoren** und besonders die **Spezieszugehörigkeit**. Letzteres wird vor allem bedingt durch die je nach Lebensweise unterschiedliche **Stoffwechselrate**. So haben Forellen einen deutlich höheren Grundumsatz als Karpfen. Dies führt ferner zu unterschiedlichem Sauerstoffbedarf und verschieden starker Ausprägung des Kiemensbereichs bei gleichem Körpergewicht (BONATH, 1977; KÖLLE und HENKE, 2004). Aus diesen Punkten wird ersichtlich, dass die Menge des Anästhetikums, die in einer bestimmten Zeit aufgenommen wird, auch bei gleich großen Fischen stark variieren kann. Der Einfluss der **Fischgröße bzw. des Alters** auf die Narkose ist strittig und es finden sich sehr widersprüchliche Angaben in der Literatur. BONATH (1977) hat in eigenen Untersuchungen keine Relation zwischen Körpergröße und

Narkosezeiten ermitteln können, ebenso SMIT und HATTINGH (1979). Nach KÖLLE und HENKE (2004) zeigen Jungfische aufgrund ihrer höheren Stoffwechselrate kürzere Einleitungs- und Aufwachzeiten als adulte Fische. Und McFARLAND (1959) machte die Erfahrung, dass die Empfindlichkeit für Narkose mit der Körpergröße zunimmt. Ob dies am sich ändernden Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, an Unterschieden im Metabolismus oder anderen mit der Größe in Verbindung stehenden Parametern liegt, ist dabei unbekannt.

Durch **Stress und Krankheit** geschwächte Fische zeigen eine erhöhte Sensitivität gegenüber Narkosen (KÖLLE und HENKE, 2004). Bei wiederholt mit demselben Medikament (Propoxat) narkotisierten Fischen beobachtete BONATH (1977) eine Gewöhnung, die mit einer immer längeren Einleitung und einer verkürzten Aufwachphase einherging. SMITH et al. (1999) fanden bei **mehrmaliger Narkotisierung** von Tilapien mit Tricainmethansulfonat ab dem dritten Kontakt eine deutlich gesteigerte Sensitivität mit schnellerer Einleitung und verzögerter Erholung. Die Narkoseschlafdauer der Fische ist korreliert mit der **Anästhesiedosis und -dauer** (McFARLAND und KLONTZ, 1969; BONATH, 1977). Mit steigender Konzentration wird die Einleitungsphase verkürzt (SYLVESTER, 1975). Andererseits können Dosis und Betäubungsdauer auch **kumulativ** auf den Betäubungseffekt wirken und so mit einer eigentlich niedrigen Dosis mit fortschreitender Dauer auch tiefe Anästhesiestadien erreicht werden (SMITH et al., 1999; KÖLLE und HENKE, 2004).

Auch die **chemischen Eigenschaften** der **Anästhetika** beeinflussen die Anflutungs- und Aufwachzeiten. Verstoffwechslung und Elimination von fettlöslichen Stoffen wie Tricainmethansulfonat (MS222) oder Benzocain sind deshalb bei fetten und adulten Fischen verzögert, und vor der Anwendung neutralisiertes MS222 führt schneller zur Narkose (SMIT und HATTINGH, 1978).

An äußeren Faktoren spielen überwiegend Eigenschaften des Narkosewassers eine Rolle, wie Temperatur, pH - Wert, Härte und Leitfähigkeit, sowie der Sauerstoffgehalt. Besonders die **Temperatur** ist hier von Bedeutung, da sich bei Fischen, wie bei anderen poikilothermen Lebewesen, die Stoffwechselrate bei einer Temperaturerhöhung um 10°C verdoppelt. Daher ist bei höheren Temperaturen mit einer verkürzten Einleitungsphase zu rechnen, was aber nicht für alle Narkotika gleichermaßen zutreffen scheint (KÖLLE und HENKE, 2004). Der **Säure- und Ionengehalt des Wassers** nimmt vor allem über die Reaktion mit den Narkosemitteln Einfluss auf den Anästhesieverlauf. Für die herabgesetzte Wirksamkeit von Barbituraten im Seewasser wird dessen hoher Gehalt an Kalziumionen verantwortlich gemacht. Ob dieser Effekt jedoch auf einer chemischen Reaktion mit dem Narkotikum oder auf dem Einfluss auf die Membranpermeabilität der Kiemen beruht, ist unklar. Chelatbildner, die das Kalzium abfangen, können diese Effekte jedenfalls reduzieren (McFARLAND, 1959; BONATH, 1977). Auf ähnliche Art beeinflusst auch der **pH - Wert** die Narkose. Er verändert die chemische Struktur der Narkotika und ebenso die Membranintegrität der Kiemen (McFARLAND, 1959). Abweichungen nach oben oder unten vom pH - Optimum der jeweiligen Fischart bedeuten zudem einen Stressfaktor (KÖLLE und HENKE, 2004). Nach SYLVESTER (1975) bewirken niedrige **Sauerstoffgehalte** signifikant verkürzte Einleitungsphasen. Dagegen verkürzt sich mit der Dauer des **Luftaufenthaltes** narkotisierter Fische die Aufwachzeit deutlich, woraus BONATH (1977) weiter folgert, das Narkotikum werde - analog der Inhalationsnarkose bei Säugetieren in Abhängigkeit vom Präparat - auch über andere Organsysteme eliminiert und nicht nur über die Kiemen.

#### 2.2.8. Kriterien für die Auswahl eines Betäubungsverfahrens

Je nach Zweck der Betäubung ergeben sich abweichende Anforderungen an ein optimales Narkoseverfahren. Viele Autoren listen dazu wichtige Kriterien auf, nach denen das ideale Anästhetikum für Fische (DUNN, 1985; MARKING und MEYER, 1985; BELL, 1987;

GILDERHUS und MARKING, 1987; STOSKOPF, 1993b; TAYLOR und ROBERTS, 1999; BRETZINGER, 2001; KÖLLE und HENKE, 2004) folgende Voraussetzungen erfüllen sollte:

- schnelle Analgesie
- gute Immobilisation und Muskelrelaxation
- Bewusstlosigkeit und Sedation steuerbar in Relation zur Dosis
- keine depressive Wirkung auf das respiratorische und kardiovaskuläre System
- einfach anzuwenden
- kurze Einleitungsphase (max. 3 Minuten, GILDERHUS und MARKING, 1987)
- schnelle, vorhersagbare und unkomplizierte Aufwachphase (innerhalb von 10 Minuten schwimmfähig, GILDERHUS und MARKING, 1987)
- große therapeutische Breite (auch für den Anwender; keine Todesfälle unter den Tieren auch nach 15-minütigem Aufenthalt im Narkosebad, GILDERHUS und MARKING, 1987)
- Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs bei Transporten und dabei Stressminderung
- günstig in der Anschaffung
- wenig / keine Geweberückstände und damit Wartezeiten
- stabil und lagerfähig,
- aber dennoch umweltfreundlich zu entsorgen
- sicher und ungefährlich in der Handhabung (nicht entzündlich / explosiv)
- nicht toxisch
- gut wasserlöslich bei der Anwendung als Narkosebad
- nicht-schäumend, da dies die Kontrolle der zu betäubenden Fische erschwert und den Gashaushalt des Wassers beeinflusst

Derzeit erfüllt jedoch kein einziges bekanntes Fischanästhetikum all diese oben aufgeführten Kriterien (STOSKOPF, 1993b). Deshalb muss man mögliche Vor- und Nachteile gründlich abwägen mit dem Ziel, die Zeitspanne möglichst kurz zu halten, die Gefahr für Verletzungen oder Komplikationen zu vermeiden und die Überlebensrate der Tiere zu erhöhen (DUNN, 1985).

Zu berücksichtigen ist bei der Wahl des Verfahrens, dass bei allen Betäubungsmethoden Nebenwirkungen oder unerwünschte Effekte auftreten. Außerdem sollte die Anzahl der zu betäubenden Fische in Betracht gezogen werden, da nicht jede Methode für eine größere Menge von Fischen geeignet ist (KÖLLE und HENKE, 2004).

## **2.3. Rechtsgrundlagen**

### **2.3.1. Arzneimittelrecht**

Seit Jahren wird von Fischproduzenten ein zu schmales Spektrum an regulär zugelassenen Arzneimitteln für Fische beklagt (BERNOTH, 1990). Durch Verschärfungen der arzneimittelrechtlichen Situation ist die adäquate Medikamentenversorgung für Nutzfische in vielen europäischen Ländern äußerst schwierig. In Deutschland sind nur sehr wenige Arzneimittel für den Gebrauch bei Nutzfischen registriert (siehe unten), in der Schweiz nur Oxolinsäure und in Österreich kein einziges (HOFFMANN, 2005). Besonders die Anwendung von Anästhetika stellt derzeit ein Problem dar, da für Nutzfische keine entsprechenden Wirkstoffe zugelassen sind. Zu einer weiteren erheblichen Reduzierung der Fischmedikamente kam es auch durch die Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs (BAUR und RAPP, 2003). Höchstmengen für Arzneimittelrückstände in Tieren, die der

Lebensmittelgewinnung dienen, werden erst festgesetzt, wenn alle relevanten Daten zur Unbedenklichkeit von Rückständen des betreffenden Stoffes bekannt sind. Dies ist gleichzeitig Voraussetzung für die Zulassung eines Medikaments nach §21 des Gesetzes über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz / AMG vom 1. Dezember 1998). Für Fischarzneimittel wird dieser Weg der Neuzulassung selten beschritten, da die mit der Zulassung für den pharmazeutischen Unternehmer entstehenden Kosten im Vergleich zu dem aus dem Verkauf des Fischmedikaments zu erwartenden Gewinn unverhältnismäßig hoch sind (BERNOTH, 1990).

Die Einfuhr von Fertigarzneimitteln, die in Deutschland zugelassen sind, aus anderen EU Mitgliedsstaaten ist nach §73 (1) AMG erlaubt, wenn der Empfänger entweder Tierarzt, pharmazeutischer Unternehmer oder Großhändler ist, oder eine Apotheke betreibt. Auch für Tiere, die der Lebensmittelgewinnung dienen, können Arzneimittel, die bei uns nicht zugelassen oder von der Zulassung freigestellt sind, nach § 73 (3) AMG aus einem anderen EU Mitgliedsstaat importiert werden, wenn sie dort zugelassen sind. Der Import darf aber nur über eine Apotheke, auf tierärztliche Verschreibung oder über die tierärztliche Hausapotheke erfolgen. Das Vorliegen eines Therapienotstandes gemäß §56a, Absatz 2 AMG (siehe unter 2.3.1.2) ist auch nach der 14. Novelle des AMG vom 29. August 2005 eine Bedingung dafür. Eine Genehmigung der zuständigen Behörde, die für den Import von Arzneimitteln für Lebensmittel liefernde Tiere bisher vor der Einfuhr eingeholt werden musste, ist zwar nicht mehr nötig. Allerdings muss der Tierarzt jetzt „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). Dies gilt auch, wenn das Arzneimittel bei Tieren angewendet werden soll, die nicht der Gewinnung von Lebensmitteln dienen (UNGEMACH und KLUGE, 2006).

Derzeit gibt es in Deutschland nur zwei Arzneimittel mit einer regulären Zulassung für Fische nach § 21 AMG (Stand: 11.08.2006), die verkehrsfähig sind:

- Sulfadimethoxin / Trimethoprim, Handelsname BORGAL Lösung 24% (Fertigarzneimittel)
- Gonadotropin releasing hormone, Handelsname GONAZON, ist aber in Deutschland nicht im Handel

Von der Zulassungspflicht befreit nach § 60, Absatz 1 AMG und für den Einsatz bei Zierfischen im Handel ist ferner Malachitgrün unter dem Handelsname PROTOCID.

Nach § 36 AMG besteht als weitere Möglichkeit der Zulassung die sogenannte Standardzulassung. Das Bundesministerium wird darin ermächtigt, nach einem Sachverständigengutachten bestimmte Arzneimittel und -gruppen von der Zulassungspflicht nach §21 AMG zu befreien und mit Zustimmung des Bundesrates die Zulassung zu erteilen, soweit eine Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier nicht zu befürchten ist. Das Vorgehen ist in der Verordnung über Standardzulassungen von Arzneimitteln vom 3. Dezember 1982 festgelegt und beinhaltet für Fische folgende drei Präparate (11.08.2006):

- Calciumhydroxid ( $\text{Ca(OH)}_2$  = Löschkalk) ad us. vet.
- Formaldehyd - Lösung 36% (m/m) ad us. vet.
- Natriumchlorid ad us. vet.

### 2.3.1.1. bei Zierfischen

Bei Zierfischen können alle oben aufgeführten Medikamente eingesetzt werden. Dabei ist allerdings zu beachten, dass besondere Empfindlichkeiten bei der Vielfalt an Spezies in der Aquaristik meist nicht ausreichend bekannt sind.

Für die Anwendung von Arzneimitteln bei Fischen, die nicht für diese Tierart zugelassen sind, ist die sogenannte „Kaskaden“-Regelung für die Umwidmung zu berücksichtigen (§56, Absatz 1 und 2, Nr. 1-4 AMG). Danach sind stufenweise Bedingungen einzuhalten, wenn Arzneimittel für eine andere Tierart oder ein anderes Anwendungsgebiet als in der Zulassung festgelegt eingesetzt werden sollen. Die Kriterien für das Vorliegen eines „Therapienotstandes“ (siehe Kapitel 2.3.1.2) als Voraussetzung für die Umwidmung und Herstellung von Arzneimitteln gelten dabei sowohl für Kleintiere und für sogenannte „minor species“, wie verschiedene Geflügelarten, Fische, Schafe, Ziegen und Heimtiere, als auch für Lebensmittel liefernde Tiere (UNGEMACH und KLUGE, 2006).

### 2.3.1.2. bei Lebensmittel liefernden Fischen

Bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, ist es nach den §§ 21a und 56a AMG möglich, Arzneimittel bei Therapieotstand umzuwidmen, unter der Bedingung, dass eine „unmittelbare oder mittelbare Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier nicht zu befürchten ist“ (§56a Absatz 2, AMG). Ein Therapieotstand besteht, wenn für die zu behandelnde Tierart und das Anwendungsgebiet kein Arzneimittel, das zugelassen ist, existiert und die notwendige arzneiliche Versorgung der Tiere ohne die Arzneimittelanwendung ernstlich gefährdet wäre. Wenn also kein für Fische zugelassenes wirksames Präparat zur Verfügung steht, kann man ein für eine andere Lebensmittel liefernde Tierart zugelassenes Arzneimittel verwenden. Diese Umwidmung ist allerdings an bestimmte Vorschriften gebunden, außerdem geht dabei das Produktrisiko vom Hersteller auf den verschreibenden Tierarzt über. Solche Fälle sollten also dem spezialisierten Tierarzt überlassen bleiben (BAUR und RAPP, 2003). Bei der Umwidmung muss ferner die Verordnung über tierärztliche Hausapotheken berücksichtigt werden (TÄHAV vom 27. März 1996). Aus dieser geht hervor, dass die Wartezeit nach der Anwendung von Arzneimitteln, für die keine derartigen Angaben vorliegen, bei Fischen auf 500 Tagesgrade festgelegt werden muss (d.h., bei einer konstanten Wassertemperatur von 10°C dauert die Wartezeit 50 Tage). Grundsätzlich dürfen bei Lebensmittel liefernden Tieren nur Arzneimittel angewendet werden, die in Anhang I-III der VO (EWG) Nr. 2377/90 aufgeführt sind (siehe unter 2.3.1). Nicht als Umwidmung anzusehen und deshalb auch ohne Vorliegen eines Therapieotstandes erlaubt, sind Dosiserhöhungen und die Änderung des Verabreichungsweges (UNGEMACH und KLUGE, 2006).

### 2.3.2. Lebensmittelrecht

Gesetze und Verordnungen, die unter das Lebensmittelrecht fallen, sind Fischetikettierungsgesetz und -verordnung, Fischvermarktungsnormen - Verordnung, Fischhygiene - Verordnung und Fischereierzeugnisse - Vermarktungsverordnung, die wiederum auf entsprechenden EG-Verordnungen beruhen. Von Bedeutung ist dabei die Fischhygiene-Verordnung (FischHV), die sich auf Fische, Meeres- oder Süßwassertiere einschließlich Roggen und Milch, sowie Tiere aus Aquakulturen bezieht (§2 FischHV). Insbesondere der §10 „Betriebseigene Kontrollen und Nachweise“ FischHV ist zu beachten. Wer Tiere aus Aquakulturen schlachtet oder verarbeitet, wird hier verpflichtet zu überprüfen, ob verbotene oder nicht zugelassene Stoffe verabreicht und nach Anwendung zugelassener pharmakologisch wirksamer Stoffe die festgesetzten Wartefristen eingehalten worden sind.

### 2.3.3. Tierschutz

Seit dem Jahr 2002 ist der Tierschutz im Grundgesetz der Bundesrepublik Deutschland verankert: § 20a „**Der Staat schützt** auch in Verantwortung für die künftigen Generationen

die natürlichen Lebensgrundlagen und **die Tiere** im Rahmen der verfassungsmäßigen Ordnung durch die Gesetzgebung und nach Maßgabe von Gesetz und Recht durch die vollziehende Gewalt und die Rechtsprechung.“ Als verpflichtendes Recht gilt das Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Fassung vom 25. Mai 1998 (geändert durch Artikel 2 des Gesetzes vom 12. April 2001). Es besagt in §1, dass „niemand einem Tier ohne vernünftigen Grund Schmerzen, Leiden oder Schäden zufügen“ darf. Auf die Notwendigkeit, geeignete und einfach durchzuführende Betäubungsmöglichkeiten auch für Fische einsetzen zu können, beziehen sich auch die Paragraphen 4 und 5. Nach §4 darf demnach ein Wirbeltier „nur unter Betäubung oder (...) unter Vermeidung von Schmerzen getötet werden“. Die ausführende Person muss die dazu „notwendigen Kenntnisse und Fähigkeiten“ besitzen. Bei Fischen muss es sich dabei nicht zwingend um einen Tierarzt handeln (§5 (1)), woraus ersichtlich wird, wie wichtig besonders die einfache Anwendung einer Betäubungsmethode für diese Tierart ist. Das TierSchG ermächtigt ferner an verschiedenen Stellen das Bundesministerium, durch Rechtsverordnungen mit Zustimmung des Bundesrates weitere Details genauer zu bestimmen. In diesem Zusammenhang werden Fische erwähnt in der Verordnung zum Schutz von Tieren beim Transport (Tierschutztransportverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Juni 1999), §§ 32,33 und in der Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung (Tierschutz-Schlachtverordnung vom 3. März 1997), §§1,10,13 (5), Anlage 3. Als zulässige Betäubungsverfahren sind hier bei Fischen die elektrische Durchströmung, Kohlendioxidexposition, Kopfschlag und Verabreichung eines Stoffes mit Betäubungseffekt - ausgenommen Stoffe wie Ammoniak, die gleichzeitig dem Entschleimen dienen - aufgeführt. Außerdem ist die Kohlendioxidexposition nur bei Salmoniden erlaubt, da ihre Wirkung bei anderen Fischarten als nicht zuverlässig beurteilt wurde. Fische dürfen also nur unter vorheriger Betäubung geschlachtet oder getötet werden (§13 (5)), mit Ausnahme von Aalen und Plattfischen.

Des Weiteren gibt es staatliche Veröffentlichungen mit empfehlendem Charakter. Das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten erstellte im Jahr 1998 ein „Gutachten über Mindestanforderungen an die Haltung von Zierfischen (Süßwasser)“.

Auch die Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz e.V. (TVT) gibt unter anderem in ihren Merkblättern Nr.29, 37 und 49 Anstöße zur Optimierung der Haltungsbedingungen für Fische (29: Empfehlungen zur Halterung von Speisefischen im Einzelhandel; 37: Checkliste zur Überprüfung von Zierfischhaltungen im Zoofacheinzelhandel; 49: Empfehlungen zum tierschutzgerechten Transport von Heimtieren).



### 3. Eigene Untersuchungen

#### 3.1. Problematik und Zielsetzung

##### **Problematik**

Die steigende Nachfrage nach Fischerzeugnissen als Nahrungsmittel, das zu einer gesundheitsfördernden Ernährungsweise beiträgt (LfL Fischerei, 2004; BMELV Fischerei, 2005) und die zunehmende Zahl von Fischpatienten bei praktischen Tierärzten machen immer häufiger den Einsatz von Sedativa und Narkotika bei dieser Spezies nötig. Gleichzeitig wird die Anwendungsmöglichkeit von Tierarzneimitteln durch die deutsche und europäische Arzneimittelgesetzgebung immer weiter eingeschränkt. Derzeit (Juli 2006) ist in Deutschland kein einziges Präparat zur Betäubung von Fischen zugelassen. Tricainmethansulfonat, das in Großbritannien als MS 222 bei Lebensmittel liefernden Fischen eingesetzt werden darf, besitzt keine EU-Zulassung. Es darf zwar eingeführt werden, der Import ist aber unverzüglich bei der zuständigen Veterinärbehörde anzuzeigen. Es liegt also nahe, alternativ Medikamente, die bereits in Deutschland zugelassen sind, auch für Lebensmittel liefernde Tiere, artübergreifend einzusetzen. Diese Voraussetzung ist bei der Hellabrunner Mischung (im folgenden Text nur noch HM genannt), einer Kombination von Ketamin und Xylazin, gegeben. Beide Komponenten sind einfach zu beschaffen und die HM leicht herzustellen. Im Gegensatz zu MS 222, das ausschließlich bei Fischen und Amphibien zur Anwendung kommt, existieren für die HM jahrzehntelange Erfahrungswerte bei über 200 Arten von Säugern, Reptilien und Vögeln (WIESNER, 1998). Die HM ist zudem mindestens 18 Monate stabil haltbar und jederzeit mit Spritzen einfach zu dosieren, während zum Abwiegen des pulverförmigen MS 222 Waagen mit einer Genauigkeit im Milligrammbereich benötigt werden.

Aus den gesetzlichen und staatlichen Vorgaben (siehe Kapitel 2.3.3) ergibt sich die Verpflichtung, die Möglichkeiten der Vermeidung von Schmerzen und Leiden bei Fischen weiter zu erforschen, im vorliegenden Fall den möglichen Einsatz eines Anästhetikums. Die Erprobung von anwenderfreundlichen Alternativen bei der Behandlung von Fischen wird immer dringlicher mit den zunehmend eingeschränkten Therapiemöglichkeiten, zumal BERNOTH bereits 1990 schrieb: „Der dringenden Notwendigkeit, den Wissensumfang über Fischarzneimittel ganz erheblich zu erhöhen, wird allgemein zugestimmt“.

##### **Zielsetzung**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Einsetzbarkeit einer Ketamin - Xylazin - Kombination, der so genannten Hellabrunner Mischung, im Hinblick auf ihre Eignung zur Anwendung als Tauchbadnarkose bei Fischen überprüft. Dies sollte in einer klinischen Anwendungsstudie für drei Fischarten empirisch untersucht werden. Die HM hat sich bereits über viele Jahre als sicheres Narkosemittel bei Haus-, Zoo- und Wildtieren bewährt. Andere Kombinationen von Ketamin und Xylazin wurden bereits erfolgreich bei Fischen eingesetzt, allerdings in Form von Injektionsnarkosen. Ziel war demnach die Etablierung eines nicht invasiven Narkoseverfahrens bei Fischen mit der Möglichkeit der Anwendung auch bei Tieren, die zur Gewinnung von Lebensmitteln dienen, als Alternative zu MS 222.

Zu diesem Zweck wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Ermittlung einer effektiven Dosis der HM bei Fischen zur Erlangung eines ausreichend tiefen Narkosestadiums für Kurzzeithnarkosen
- Beurteilung der Anflutungszeit und Aufwachzeit nach praktischen Gesichtspunkten

- Versuch mit verschiedenen Fischarten, um möglichst alle gängig gehaltenen Arten abzudecken
- Versuch unter verschiedenen Bedingungen, um alle Haltungsansprüche einzubeziehen (Kalt- und Warmwasser; stehende und Fließgewässer)
- Vergleich der optimalen Dosis mit einer Standarddosierung von MS 222 zur
- Überprüfung, ob die HM eine echte Alternative zu MS 222 darstellt

Als optimal effektiv wurde aus Gründen der Praktikabilität die niedrigste Dosis der HM definiert, bei der die Fische innerhalb von etwa 10 Minuten das OP-Toleranzstadium 3 (siehe Kapitel 3.2.8.1.1, Tabelle 5) erreichten und innerhalb von 30 bis 40 Minuten wieder vollständig wach waren.

### 3.2. Material und Methoden

#### 3.2.1. Tiermaterial

##### 3.2.1.1 Koikarpfen

Durch die Tierpark Hellabrunn AG wurden 80 Koikarpfen von einer Firma für Aquarienbau bezogen. Diese Tiere sollen später zum Besatz von Ausstellungsbecken des Aquariums im Tierpark Hellabrunn, München, dienen. Vor Beginn der Vorversuche wurden die Tiere mindestens 14 Tage eingewöhnt. Die Tiere waren im Durchschnitt  $10,1\text{cm} \pm 0,8\text{cm}$  lang (von 7,8 bis 11,5cm) bei einem Gewicht von im Mittel  $13\text{g} \pm 3\text{g}$  (Verteilung von 6 bis 20g).

##### 3.2.1.2 Regenbogenforellen

Die 80 im Versuch vorgesehenen Regenbogenforellen stammten aus einer Forellenzucht südlich von München. Sie wurden dort seit ca. 2 Jahren in großen Beton-Außenbecken gehalten und mindestens zwei Wochen vor Beginn der Vorversuche in die Klinik für Fische und Reptilien der Ludwig-Maximilians- Universität verbracht. Das Gewicht der Tiere betrug zwischen 126 und 258 g (Mittelwert 195g;  $s = 27$ ) bei einer Länge von 23 bis 30 cm ( $26,7 \pm 1,4\text{cm}$ ).

##### 3.2.1.3 Kaiserbuntbarsche

Die 68 Kaiserbuntbarsche bezog das Aquarium des Tierparks Hellabrunn von einem Großhändler. Ihre Hälterung erfolgte bei etwa  $24,5^\circ\text{C}$  in derselben Anlage, wie zuvor die Koikarpfen (siehe unter 3.2.3). Auch die Fütterung war identisch. Aufgrund des Geschlechtsdimorphismus variierten Länge und Gewicht bei diesen Tieren stärker als bei den Forellen und Koi. Die Buntbarsche waren von 9 bis 14 cm lang (Mittelwert  $10,4\text{cm}$ ;  $s = 1,2$ ) bei Gewichten von 8 bis 30g (Mittelwert  $14,6\text{g}$ ;  $s = 5,2$ ).

#### 3.2.2. Tierversuchsgenehmigung

Am 09.11.2005 wurde der Tierversuch mit dem Geschäftszeichen 55.2-1-54-2531-100-05 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

##### **Koikarpfen und Kaiserbuntbarsche**

Diese Fischarten wurden nacheinander im nicht für Besucher zugänglichen Teil des Aquariums im Tierpark Hellabrunn, München, untergebracht. Die Haltung erfolgte bei Wassertemperaturen von durchschnittlich  $20,5^\circ\text{C}$  (Koikarpfen) bzw.  $24,5^\circ\text{C}$

(Kaiserbuntbarsche) in einem 1,9m x 2,85m x 0,8m großen Betonbecken bei Raumtemperaturen von 19 bis 22°C ( $20,5 \pm 1,2$  °C). Die Fische waren dabei durch Aluminiumplatten mit Löchern von 5 mm Durchmesser in 3 verschiedene Abteile getrennt. Nach den Narkosen wurden die Tiere aufgeteilt in zwei Becken von 2,0m x 1,2m x 0,8m (die zwei Gruppen aus den Hauptversuchen) bzw. einem Becken von 3,4m x 1,2m x 0,8m (Tiere aus den Vorversuchen) mit den gleichen Wasserparametern gehalten. Es bestand Anschluss an einen Außenfilter mit Temperaturautomatik. Zusätzlich wurde Luft in die Becken ausgeströmt. Die Beleuchtung erfolgte mittels Zeitschaltuhr im 12 Stunden-Hell-Dunkel-Wechsel. Gefüttert wurde mit handelsüblichen Zierfischflocken und tiefgefrorenen Mückenlarven. Nach Abschluss der Versuche wurden die Tiere am Ende der Nachbeobachtungszeit von über 3 Wochen in große Schaubecken im Besucherbereich des Aquariums umgesetzt.

### **Regenbogenforellen**

In der Klinik für Fische und Reptilien der Ludwig-Maximilians-Universität wurden die Tiere in Gruppen von 12 Fischen in 200l fassenden Glasaquarien gehalten und mit handelsüblichem Forellenfertigfutter versorgt. Dabei waren pro Becken zwei Sauerstoffperforatorsteine angebracht und es bestand ständiger Frischwasserdurchfluss von durchschnittlich 10°C. Die Außentemperatur in den Räumen zur Haltung und Versuchsdurchführung lag durchschnittlich bei  $12^\circ\text{C} \pm 0,66^\circ\text{C}$  (11 bis 13°C). Seit Beendigung der Versuche und einer Nachbeobachtungszeit von über 21 Tagen leben die Tiere im klinikeigenen Forellenteich im Freien.

Alle Fische wurden täglich gefüttert, es fand keine Nüchterung vor den Narkosen statt. Daher wurden die Tiere nach Beendigung eines Versuchstages am Spätnachmittag gefüttert, um eine vollständige Futteraufnahme noch in der Helligkeitsperiode des Tages zu erreichen und gleichzeitig den Zeitabstand bis zur nächsten Narkose möglichst zu verlängern.

#### 3.2.4. Messgeräte

### **Wasserhärte**

Die Feststellung der Wasserhärte erfolgte durch Küvetten - Test im Photometer LASA mit dem Filtereinsatz LCK 327 der Firma Lange.

### **Calcium- und Magnesiumgehalt**

Diese Werte konnten zusätzlich zur Härte des Wassers mit dem LASA, Firma Lange, bestimmt werden.

### **Ammonium-, Nitrat- und Nitritgehalt**

Diese Parameter wurden photometrisch mit Hilfe des Gerätes MultiLab P5 der Firma WTW, Weilheim, und der zugehörigen Untersuchungslösungen festgestellt.

### **pH-Wert**

Der pH-Wert wurde mit der Elektrode SenTix61 der Firma WTW, Weilheim, festgestellt.

### **Länge**

Die Länge der Fische wurde von der äußersten Spitze des Kopfes bis zum Ende der Schwanzflosse mit einem handelsüblichen 30 cm Lineal ermittelt.

### **Gewicht**

Das Gewicht der Fische wurde im Tierpark Hellabrunn mit Hilfe einer handelsüblichen Haushaltswaage der Firma Soehnle (Genauigkeit  $\pm 1\text{g}$ ) ermittelt. In der Klinik für Fische und Reptilien erfolgte die Wägung mit einer digitalen Waage der Firma Shimadzu / Japan (Modell BX 22 KH) bei einer Genauigkeit von  $\pm 0,1\text{g}$ .

### **Sauerstoffgehalt**

Die Sauerstoffkonzentration des Wassers wurde mit Hilfe einer digitalen Sauerstoffmesszelle (OxiCal® - SL, Fa. WTW, Weilheim/Obb.), angeschlossen an das Gerät MultiLab P5, ermittelt.

### **Temperatur der Wasserproben**

Mit dem OxiCal® - SL der Firma WTW, Weilheim/Obb., konnte zusätzlich zum Sauerstoffgehalt die Temperatur gemessen werden.

### **Elektrische Leitfähigkeit**

Mit der Standard - Leitfähigkeitsmesszelle TetraCon® 96 der Firma WTW, Weilheim, wurde die Elektrische Leitfähigkeit der Proben erfasst.

### **Temperatur der Becken**

Die Wassertemperatur in den Becken (Narkose-, Aufwachbecken und Hälterung) wurde überprüft mit dem Marin Control Digital, einem digitalen Messgerät zur Temperaturbestimmung in Aquarien der Firma Aqua Medic. Dessen Messgenauigkeit beträgt im Bereich zwischen  $0^{\circ}\text{C}$  und  $70^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Zusätzlich wurden mehrere handelsübliche Alkoholthermometer für Aquarien eingesetzt, um einen kontinuierlichen Überblick über etwaige Temperaturschwankungen zu bekommen und mit der Angabe des in die Filteranlage integrierten Temperaturreglers verglichen.

### **Abwiegen des MS 222**

Zum genauen Abwiegen kleinster Mengen des MS 222-Pulvers wurde das Gerät KERN 770-13 der Firma Kern & Sohn, Balingen - Frommern, genutzt. Die Waage misst mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,0001\text{g}$ .

#### 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 115,34 mg Ketaminhydrochlorid, entsprechend 100 mg Ketamin.

##### 3.2.5.2 Xylazinhydrochlorid

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

##### 3.2.5.3 Ketamin-Xylazin-Kombination / Hellabrunner Mischung

Aus den beiden oben genannten Präparaten wurde die Hellabrunner Mischung hergestellt, indem 500 mg Xylazin-Trockensubstanz in einem Fläschchen mit 4 ml Ketamin 10%

aufgelöst wurden (siehe oben, Kapitel 2.2.4.10). So entstand eine farb- und geruchlose wässrige Lösung, die pro Milliliter ca. 125 mg Xylazin und 100 mg Ketamin enthielt.

### 3.2.5.4 Tricainmethansulfonat

Das Tricain wurde unter dem Handelsname MS 222® von der Firma Thomson & Joseph Limited, UK, hergestellt und war aus Großbritannien importiert worden.

## 3.2.6. Versuchsaufbau

### 3.2.6.1. Vorversuche

Die Vorversuche, für die maximal 50 Tiere je Fischart vorgesehen waren, dienten zur Ermittlung der optimalen Dosis der HM.

#### 3.2.6.1.1. Regenbogenforelle

Auf dem Versuchstisch wurden nebeneinander das Narkose- und das Aufwachbecken aufgestellt. Als Narkosebecken diente ein Glasaquarium von 25cm x 25cm x 40cm, das in Anpassung an die Körpergröße der Tiere mit 12 l Leitungswasser gefüllt wurde. Als Aufwachbecken diente ein Glasbecken von 60cm x 32cm x 35 cm, das vollständig gefüllt (circa 54 l) und mit Leitungswasserdurchfluß versehen wurde. Sowohl im Narkose-, als auch im Aufwachbecken war ein Sauerstoffperforatorstein angebracht. In beiden Becken waren handelsübliche Alkoholthermometer angebracht und die Temperatur wurde zusätzlich digital kontrolliert (siehe Kapitel 3.2.4). Auf einem weiteren Tisch waren die Waage und das Lineal zur Erfassung der Körpermerkmale bei den Forellen untergebracht. Zur Aufnahme der betäubten Tiere während des Vermessens und Wiegens stand eine 48cm x 33cm x 8cm große Plastikwanne bereit, die mit einem grünen, durchfeuchteten Einmal-Operations-Abdecktuch ausgelegt war.

#### 3.2.6.1.2. Koikarpfen

Als Narkose- und Aufwachbecken für die Koikarpfen dienten zwei Glasbecken von je 30cm x 20cm x 20cm. Das Narkosebecken wurde mit genau 5 l Leitungswasser gefüllt und das Aufwachbecken mit etwa 7 l. Beide Becken wurden mit einem Sauerstoffperforator sowie selbstregulierenden Aquarienheizstäben der Firma Jäger mit 75 Watt Leistung ausgestattet, die auf 20°C eingestellt waren. Zur Überprüfung der Funktion der Heizer wurden auch hier Alkoholthermometer eingesetzt unter zeitweiser digitaler Kontrolle. Die Waagschale der Firma Soehnle wurde mit durchfeuchtetem, grünem Einmal-Operationstuch ausgelegt.



Abbildung 4: Versuchsaufbau Koikarpfen und Kaiserbuntbarsche

### 3.2.6.1.3. Kaiserbuntbarsch

Die Bedingungen und Einrichtungen bei den Versuchen mit den Koikarpfen wurden unverändert für die Buntbarsche übernommen. Nur die Temperatur wurde auf 24,5 °C gesteigert. Außerdem wurden die Buntbarsche aufgrund ihrer besonders empfindlichen Schleimhaut nicht auf einem feuchten Tuch vermessen und gewogen, sondern in einem durchsichtigen Kunststoffbehälter von 12 x 9 x 4 cm, der mit temperiertem Wasser aus dem Aufwachbecken soweit gefüllt wurde, dass der Fisch gerade bedeckt war.

### 3.2.6.2. Hauptversuche

Der Versuchsaufbau für die Hauptversuche war exakt identisch mit dem der jeweiligen Vorversuche.

### 3.2.7. Versuchsablauf

#### 3.2.7.1. Vorversuche

##### 3.2.7.1.1. Arbeitsgang allgemein

Vor Versuchsbeginn wurde die einige Tage zuvor hergestellte HM mit Einwegspritzen der Firma Braun in die abgemessene Wassermenge des Narkosebeckens dosiert. Der bereits eingeschaltete Sauerstoffstrom unterstützte zusätzlich zum Rühren mit der behandschuhten Hand die gleichmäßige Verteilung des Medikaments im Wasser. Vor dem Fang des zu untersuchenden Fisches wurde versucht, dessen Ruheatemfrequenz festzustellen. Dies war allerdings nur bei den Forellen möglich, da deren Hälterungsbecken aus Glas von vorne einsehbar waren, während die zur Haltung der Koikarpfen und Buntbarsche dienenden Betonbecken nur Einblick von oben gewährten, was die exakte Feststellung der Kiemendeckelbewegung nicht erlaubte. Zur Untersuchung wurden die Fische möglichst schonend zufällig aus den verschiedenen Becken (Forellen) bzw. den verschiedenen Beckenabteilungen (Koikarpfen und Buntbarsche) mit 2 feinmaschigen Keschern entnommen. Der zweite Kescher diente zum Schutz vorm Herausspringen der Fische aus dem Fangkescher. Um Stress bei den übrig bleibenden Fischen zu vermeiden und deren Erholungspausen zu verlängern, wurde versucht, die Fische immer abwechselnd aus unterschiedlichen Abteilen oder Becken zu entnehmen. Der gefangene Fisch wurde einzeln in das vorbereitete Narkosebad eingesetzt und dabei eine Stoppuhr gestartet. Mit Erreichen des erwünschten Narkosestadiums wurde der Fisch mit einem Kescher aus dem Narkosebad

gehoben und auf dem feuchten Tuch, das zuvor tariert worden war, gewogen und vermessen. Als im zur Entnahme geeigneten und damit im gewünschten Narkosestadium befindlich wurde ein Fisch beurteilt nach komplettem Verlust von Schwimmfähigkeit und Gleichgewicht mit Seiten- oder Rückenlage und keinerlei Reaktionen auf Reize von außen, seien es optische, taktile oder Vibrationsreize. Nach genau 120 Sekunden außerhalb des Beckens wurde das Tier mit dem Tuch ins Aufwachbecken gehoben und die Stoppuhr erneut gestartet, um die Aufwachzeit zu messen. Sobald der Fisch normale Schwimmbewegungen zeigte, wurde er 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.

Für die Kaiserbuntbarsche wurde das Vorgehen leicht modifiziert, um keine Verpilzung ihrer besonders empfindlichen Schleimhaut zu provozieren. Diese Tiere wurden nicht auf einem feuchten Tuch gewogen und vermessen, sondern in einem kleinen durchsichtigen Kunststoffbehälter, der in die Waagschale gestellt wurde. Das Gefäß war mit Wasser aus dem Aufwachbecken gefüllt und tariert. Die Wassermenge war dabei so bemessen, dass die Körperoberfläche des Fisches gerade bedeckt war (Abbildung 5). Mit diesem Gefäß wurden die Buntbarsche dann auch ins Aufwachbecken überführt.



Abbildung 5: Wiegen der Kaiserbuntbarsche



Abbildung 6: Umsetzen der Kaiserbuntbarsche

Um auch weiterhin den Kontakt der empfindlichen Fischhaut mit einem Kescher zu vermeiden, wurden die erwachten Fische dann mit einer Fischtransporttüte aus durchsichtigem Plastik aus dem Aufwachbecken aufgenommen und in Wasser schwimmend in das Hälterungsbecken verbracht (siehe Abbildung 6).

Bei allen Fischarten und unabhängig von der Dosierung wurde die Narkoselösung nach spätestens fünf Fischen neu angesetzt und dann auch das Wasser im Aufwachbecken ausgetauscht. Letzteres entfiel bei den Regenbogenforellen, da das Aufwachbecken hier mit Frischwasserdurchlauf versorgt war.

Während der Narkose und der Aufwachphase wurden verschiedene Parameter auf einem dafür entworfenen Protokoll vermerkt (siehe unten, Abschnitt 3.2.8.1.1). Viele der Daten ergaben sich aus der Beobachtung der Tiere, aber drei andere Punkte, und zwar 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 (Vibration). Wenn auch dieser Reiz nicht mehr oder nicht sofort beantwortet wurde, erfolgte ein vorsichtiges Berühren des Fisches am Rücken, am Ansatz der Schwanzflosse und bei nur noch schwacher

Reaktion auch im Kopfbereich mit einer 1ml-Einwegspritze. Zeitpunkt und Reaktion der Tiere wurden dann aufgezeichnet.

### 3.2.7.1.2. Ermittlung der Wirksamkeitsgrenze und der optimalen Dosis

Eine Dosis wurde aus praktischen Gründen für unwirksam erachtet, wenn innerhalb von 30 Minuten kein deutlicher Gleichgewichtsverlust oder eine Beeinträchtigung der Reaktionen eintrat. Da es sich um einen klinischen Versuch handelte und keinerlei Anhaltspunkte für die Orientierung bei der Dosierung vorlagen, wurde willkürlich bei jeder Fischart mit 0,1 oder 0,2ml HM/l Wasser begonnen und diese Dosis jeweils verdoppelt, bis eine Wirkung innerhalb des geforderten Zeitraumes zu erkennen war. Da laut statistischem Gutachten für die Versuchsplanung nur maximal 50 Tiere für die Vorversuche vorgesehen waren und pro Dosisstufe 10 Narkosen durchgeführt werden sollten, um statistische Aussagekraft zu erreichen, wurde diese Zahl deutlich unterschritten, wenn auch bei der doppelten und dreifachen Dosis noch keinerlei oder nur sehr schwache Reaktionen innerhalb von 30 Minuten erkennbar waren. Erst bei einer eindeutig wirksamen Dosis, bei der schon deutlich unter 30 Minuten Wirkungen bemerkbar waren, wurden die Versuche mit 10 Tieren realisiert. Daraufhin wurde die Dosis in im Verhältnis kleineren Schritten (0,2 ml/l statt Verdopplung) gesteigert, um herauszufinden, bis zu welcher Dosiserhöhung eine Optimierung der Parameter zu erreichen war, bzw. wann trotz deutlicher Erhöhung keine Beschleunigung der Einleitungsphase ohne größere Nebenwirkungen wie Exzitationen mehr eintrat.

### 3.2.7.2. Hauptversuche

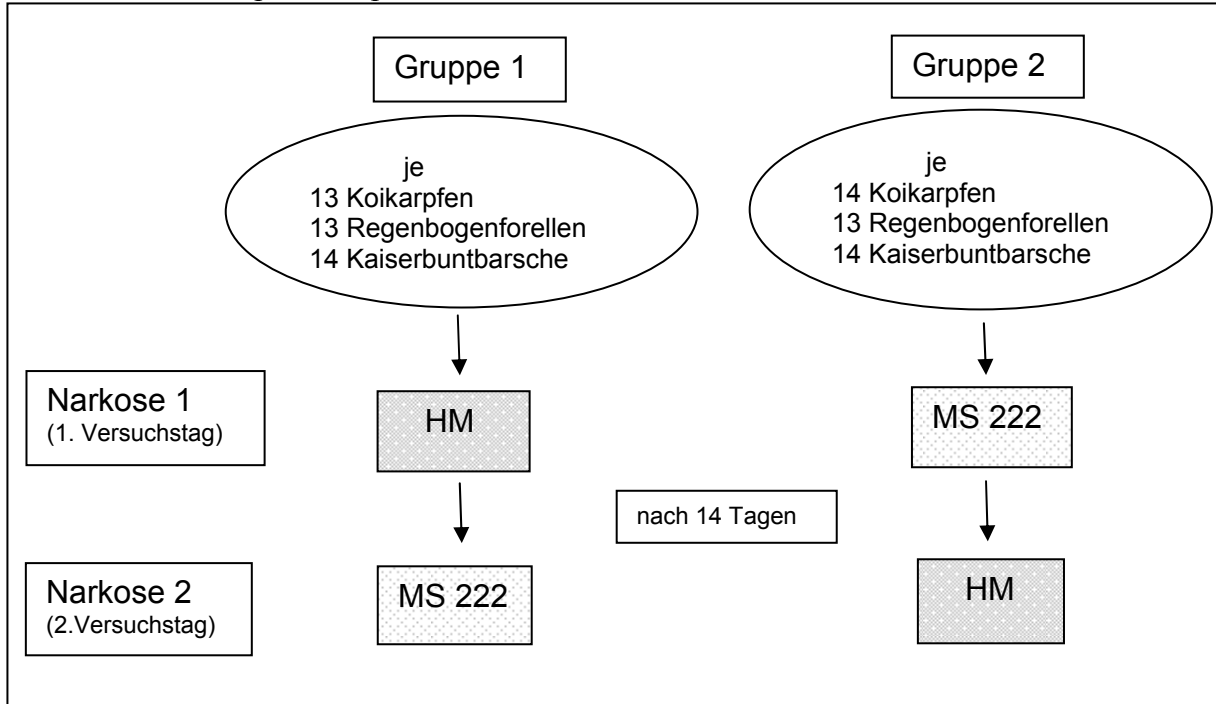
#### 3.2.7.2.1. Vergleich mit MS 222

Das technische Vorgehen bei den Hauptversuchen entsprach dem der Vorversuche. Allerdings wurde hier die in den Vorversuchen für die jeweilige Fischart als optimal ermittelte Dosis der HM kontinuierlich verwendet und die dabei erreichten Ergebnisse mit einer Narkose unter MS 222 in der Standarddosierung verglichen. Als Referenzdosis diente dabei die der Klinik für Fische und Reptilien der LMU München, nach der für Narkosen unabhängig von der Spezies immer 70 mg MS 222/l Wasser eingesetzt werden (siehe auch mittlerer Wert aus Tabelle 1). Aufgrund fehlender Erfahrungswerte bei Kaiserbuntbarschen stellte sich diese Dosis jedoch als innerhalb von 30 Minuten unwirksam heraus und musste deshalb auf 116 mg/l erhöht werden.

In den Hauptversuchen wurde eine Gruppe von 13 bis 14 Fischen jeder Art zuerst einer Narkose mit HM und im Abstand von 14 Tagen einer Narkose mit MS 222 unterzogen. Bei einer zweiten Gruppe derselben Anzahl pro Art wurde umgekehrt zuerst mit MS 222 anästhesiert und nach zwei Wochen Erholung mit HM (siehe Schema 1).



Schema 1: Narkoseplan Hauptversuche



Dabei wurden alle Narkosen einer Fischart mit einem Medikament am gleichen Tag durchgeführt. Nach jeweils fünf Fischen wurde die Narkoselösung frisch angesetzt und das Wasser im Aufwachbecken erneuert, außer bei den Regenbogenforellen, da das Aufwachbecken hier an den Frischwasserdurchlauf angeschlossen war. Die Dosierung der HM erfolgte dabei wie in den Vorversuchen mit Hilfe von Einwegspritzen. Das MS 222 wurde in der für die Beckenfüllung benötigten Menge auf einer Waage der Firma Kern & Sohn mit der Genauigkeit  $d = 0,0001\text{g}$  in der Klinik für Fische und Reptilien der LMU abgewogen und in Plastiktütchen abgefüllt. Der Inhalt dieser Päckchen wurde dann in die bereits abgemessene Wassermenge des Narkosebeckens gegeben und das Tütchen nachgespült. Anschließend wurde durch Rühren eine komplette Durchmischung der Narkoselösung im Becken erreicht.

### 3.2.8. Erfassung der Daten

#### 3.2.8.1. Narkosen

##### 3.2.8.1.1. Narkoseprotokoll

Zur schriftlichen Erfassung der Daten jedes einzelnen Fisches wurde ein zweiseitiges Narkoseprotokoll ausgefüllt (Abbildungen 7 und 8). Vor der Narkose wurden Datum, Narkosenummer, Versuchsort, Fischart, Dosierung, wenn möglich die Atemfrequenz vor Narkosebeginn und Wasser- sowie Raumtemperatur eingetragen. Für den Verlauf der Narkose wurde dann auf der Protokollrückseite die vergangene Zeit seit dem Einbringen ins Narkosebecken, die zugehörige Atemfrequenz und das Einsetzen von Gleichgewichtsverlust, Seitenlage, Rückenlage, Absinken auf den Boden sowie das Auftreten von Exzitationen notiert. Außerdem wurden das Sistieren von Schwimmfähigkeit, Augendrehreflex und der Reaktionen auf Berührung, Vibrationen oder optische Reize vermerkt. Mit dem Erreichen des gewünschten Narkosestadiums (siehe unter 3.2.7.1.1.) wurde der Fisch aus dem Wasser entnommen und die Eintragungen auf der Vorderseite des Protokolls fortgesetzt. Dort wurden die Zeit bis zum Herausnehmen aus dem Narkosebad, eventuelle Abwehrbewegungen, die

Gesamtzeit außerhalb des Beckens sowie die tatsächlich erreichte OP-Toleranz (Operationstoleranz = Duldung eines möglicherweise schmerzhaften Eingriffes) eingetragen. Letzteres erfolgte in fünf Stufen:

Tabelle 5: Beurteilung der OP-Toleranz

OP-Toleranz	Zahlen-code	Merkmale	Bewertung
unzureichend	1	Fisch zappelt dauernd, sobald außerhalb Narkosebecken, heftige Abwehr, nicht zu handhaben	1 bis 2,5 = zu schwach
schwach	2	Keine Abwehr, aber mehrmaliges Zappeln, Handhabung mit Schwierigkeiten verbunden	
ausreichend	3	Keine Abwehr, höchstens einmaliges kurzes Bewegen, gut zu handhaben, Muskulatur relaxiert; regelmäßige Atembewegungen	über 2,5 bis 4,5 = ideal
tief	4	Absolut keine Bewegung, komplette Muskelrelaxation, Atembewegungen eingeschränkt (flach, mit Pausen, stark verlangsamt), im Aufwachbecken sofort wieder einsetzend	
zu tief	5	Wie bei „tief“, jedoch Sistieren der Spontanatmung, Atembewegungen setzen erst nach Hilfsmaßnahmen im Aufwachbecken wieder ein	über 4,5 = zu tief

Um die statistische Auswertung dabei 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“ bedeutet dabei, dass der Fisch nicht gut genug relaxiert ist, um eine sichere Handhabung zu gewährleisten, und dass durch Abwehrbewegungen des Fische eine Verletzungsgefahr für ihn besteht. Als „ideal“ ist insgesamt ein Zustand zu betrachten, indem die Muskulatur des Tieres entspannt ist und eventuell vorübergehende Bewegungen nicht mehr so stark sind, dass sie die Unversehrtheit des Fisches gefährden könnten. Das Tier ist außerdem analgesiert. Zumindest für die Substanzen Ketamin und Xylazin ist nach den von Säugetieren bekannten Wirkungen eine Anästhesie beim Fisch zu vermuten, es ist jedoch zu beachten, dass keine Schmerzreize gesetzt wurden. Aufgrund fehlender Daten beim Säugetier ist für MS 222 die Analgesie in diesem Stadium ebenfalls nur zu vermuten. Aus dem „idealen“ Narkosestadium erwachen die Tiere sicher und ohne Hilfe von außen zu benötigen. „Zu tief“ ist die Narkose, wenn zwar Muskelrelaxation und Analgesie gegeben sind, dieses Stadium aber so tief ist, dass die Spontanatmung im Aufwachbecken nicht ohne Hilfsmaßnahmen wieder einsetzt.

Zu der Aufwachphase wurden Beginn von Bewegung, Wiedererlangen von Gleichgewicht, Reaktionen auf Vibrationen, normalen Schwimmbewegungen, und die Gesamtzeit bis zum vollständigen Aufwachen 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 („Herumschießen“ im Becken) und Versuche, aus dem Becken zu entkommen, als auch subtilere Anzeichen von Erregung, wie das Auftreten einer beschleunigten oder schnappenden Atmung („Spucken“), als Exzitation beurteilt.

Zusätzlich zu den vorgegebenen Parametern wurden auf den Protokollen die Tageszeit und, wo möglich, das phänotypische Geschlecht der Fische festgehalten. Bei den Koikarpfen wurde ferner für jedes Tier eine detaillierte Beschreibung der individuellen Merkmale notiert,

was später bei dieser Spezies eine zweifelsfreie Wiedererkennung der Einzeltiere in beiden Teilen des Hauptversuchs ermöglichte. Auf der Rückseite des Protokolls (siehe Abbildung 8) wurden die Verhaltensänderungen in Anlehnung an das klinische Vorgehen zu dem Zeitpunkt vermerkt, an dem sie beobachtet wurden, und nicht nach einem vorgegebenen Schema. Dabei wurde nicht die Ausprägung verschiedener Verhaltensweisen vermerkt, sondern mit „+“ und „-“, ob sie auftraten oder nicht. Diese Vereinfachung diente der besseren statistischen Auswertbarkeit. Zusätzliche schriftliche Vermerke über individuelle Besonderheiten konnten deshalb nicht in die Auswertungen miteinbezogen werden.

Abbildung 7: Narkoseprotokoll Vorderseite

**Narkoseprotokoll „HM bei Fischen“**

Narkose-Nr.: München, den.....

Versuchsort: Tierpark Hellabrunn  Institut für Zoologie

Fischart:..... Gruppe:..... Gewicht:..... Größe:.....  
Außentemperatur:..... Wassertemperatur:..... Wasser-pH:.....  
Wasserhärte:..... Leitfähigkeit:.....

Besonderheiten:

Dosierung ml HM/ Wasser:.....

**Anflutungszeit**

Wirkungseintritt:.....  
Ataxie:.....  
Seitenlage:.....  
Rückenlage:.....  
Exzitationen:.....  
Absinken auf Boden:.....  
AF (Kiemendeckelbewegung/Min.) vor Narkosebeginn:.....  
AF (Kiemendeckelbewegung/Min.) während Anflutung:.....  
Anflutungszeit bis zum optimalen OP-Stadium gesamt:.....

**OP-Stadium**

Herausnehmen aus Narkosebecken (Min.):.....  
Abwehr: ja  nein   
AF (Kiemendeckelbewegung/Min.) während OP-Stadium:.....  
OP-Toleranz: zu tief tief ausreichend schwach unzureichend

Gesamtzeit außerhalb Becken:.....

**Aufwachphase**

Umsetzen in Aufwachbecken nach (Min.):.....  
Beginn Bewegung: .....  
Exzitationen:.....  
Gleichgewicht ab:.....  
Reaktion auf Vibration ab:.....  
normale Schwimmbewegungen ab:.....  
Gesamtzeit bis vollständig wach:.....



#### 3.2.8.1.2. Digitalfotos / Videosequenzen

Zusätzlich zu den schriftlichen Aufzeichnungen wurden auch digitale Fotos und kurze Videosequenzen von einigen Sekunden bis wenigen Minuten Länge erstellt. Dazu diente die Kamera PowerShot A60 der Firma Canon mit einer Auflösung von 2,0 Megapixeln. Während der Vorversuche wurde nur sporadisch fotografiert und gefilmt, sofern Besonderheiten auftraten. Bei den Hauptversuchen wurde von jedem einzelnen Fisch mindestens ein Foto aufgenommen und bei vielen Einzeltieren die entsprechenden Narkosestadien in repräsentativen Abschnitten gefilmt. Anhand dieser Aufnahmen konnten subjektive Wahrnehmungen bei der Aufarbeitung bestätigt oder widerlegt werden, und bei den Koikarpfen gelang zusammen mit den schriftlichen Aufzeichnungen eine genaue Wiedererkennung der Individuen, was eine spezifischere statistische Auswertung bei dieser Fischart ermöglichte (siehe unten).

#### 3.2.8.2. Wasserproben

Zur Untersuchung und Überwachung der Wasserparameter wurden täglich während des gesamten Versuchszeitraumes drei bis fünf Proben entnommen. Als Gefäße dienten 400 ml fassende Schraubgläser, die unterhalb der Wasseroberfläche ohne Luftblasen verschlossen wurden. Die Proben wurden jeweils am Ende des Versuchstages genommen und dann direkt im Labor der Klinik für Fische und Reptilien untersucht. Die dazu verwendeten Hilfsmittel sind in Kapitel 3.2.4 aufgelistet. Die erhaltenen Ergebnisse wurden tabellarisch protokolliert. Dabei wurden die enthaltene Dosierung des jeweiligen Narkotikums, Sauerstoffversorgung, Durchfluss und Anzahl der Fische, die sich im entsprechenden Wasser aufhielten, vermerkt. Dabei wurden immer der pH-Wert, Ammonium-, Nitrit- und Nitratgehalt in mg/l, die Gesamthärte in °dH und die elektrische Leitfähigkeit in  $\mu\text{S}/\text{cm}$  bestimmt. Der Sauerstoffgehalt konnte aufgrund der langen Regenerationszeit, die die Sonde nach einer Einzelmessung benötigte, nicht ganz kontinuierlich festgestellt werden. Sporadisch wurden der Calciumgehalt und der Magnesiumgehalt in mg/l ermittelt. Neben dem Narkose- und Aufwachbecken wurden so auch die Hälterungsbecken zusätzlich zu den durch das Personal durchgeführten handelsüblichen Tropftests auf einwandfreie Bedingungen überprüft. Auch die gleich bleibende Qualität des Leitungswassers wurde stichprobenartig überwacht.

#### 3.2.9. Statistik

Die gewonnenen Daten wurden mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel 2003 erfasst. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte anschließend mit dem Statistikprogramm SPSS 14.0 im Statistischen Beratungslabor der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte, Standardabweichungen (s), Maxima (Max) und Minima (Min) berechnet. Als statistisch signifikant galten die Ergebnisse bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0,05$ .

Zur Überprüfung der Einflüsse verschiedener Parameter auf die Anflutungszeit / Aufwachzeit wurde eine ANOVA (univariate Varianzanalyse) durchgeführt. Beim Vergleich von nur zwei Variablen kam dabei der t-Test zum Einsatz. Wurden bei dieser Varianzanalyse mit dem Overall - F - Test signifikante Unterschiede festgestellt, so wurden diese mit einem Post-hoc-Test (und zwar dem Tukey - HSD) lokalisiert. Abhängigkeiten der Parameter wurden mit dem Korrelationstest (stetige Merkmale) und dem  $\chi^2$ -Test oder dem Exakten Test nach Fisher untersucht.

Bei den Hauptversuchen wurden die Konfidenzbereiche für die Zielgrößen Anflutungszeit und Aufwachzeit jeweils für die beiden Gruppen mit einer Genauigkeit von 0,5

Standardabweichungen berechnet (die 95% Konfidenzintervalle wurden in dieser Arbeit nicht abgebildet).

Bei den Koikarpfen wurde für den Hauptversuch ein verbundener t-Test durchgeführt, da hier die Tiere wieder erkannt werden konnten und somit verbundene Stichproben vorlagen.

In den Fällen, wo extreme Ausreißer vorkamen, wurden die oben aufgeführten parametrischen Tests durch nonparametrische Tests ersetzt. Eine Lokalisierung der Unterschiede ist mit diesen Tests nicht möglich. Anstelle der ANOVA trat in diesem Fall der Kruskal - Wallis, an die des t-Tests der Mann-Whitney und an die des verbundenen t-Tests der nichtparametrische Wilcoxon - Test.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Vorversuche

#### 4.1.1. Koikarpfen

##### 4.1.1.1. Wirksamkeitsgrenze

Beginnend mit 0,1ml HM pro Liter Wasser wurde die Wirksamkeit der HM bei Koikarpfen geprüft. Ein 8g schwerer und 9cm langer Koi zeigte nach 30 Minuten in dieser Konzentration bei 20°C mit einer Atemfrequenz von 70 pro Minute keinerlei Anzeichen einer sedativen Wirkung und starke Abwehr bei der Entnahme aus dem Narkosebecken. Der nächste Fisch von 10g und 9cm wurde bei der doppelten Dosis, 0,2 ml/l Wasser, getestet. Auch dieses Tier zeigte nach 30 Minuten bei der Entnahme starke Abwehrreaktionen und wirkte nicht ruhiger (Atemfrequenz 75/ Min.). Deshalb wurde ein weiterer Koi bei 0,4ml HM/l Wasser ins Narkosebad gesetzt. Nach 8 Minuten war ein Wirkungseintritt erkennbar, der sich durch leichte Gleichgewichtsdefizite bei vollständiger Reaktion auf äußere Reize zeigte (Atemfrequenz 84/ Min.). Nach 17 Minuten trat deutliche Ataxie und ab 22 Minuten Seitenlage auf. Nach 25 Minuten sank der Fisch auf den Boden ab und wurde aus dem Becken entnommen, weil er keine Reaktionen mehr zeigte. Die Narkosetiefe konnte als „ausreichend“ bezeichnet werden, es bestand allerdings Atemstillstand. Nach dem Einbringen in das Aufwachbecken setzte die Atmung jedoch sofort wieder ein, und das Tier war nach 34 Minuten vollständig wach. Exzitationen traten zu diesem Zeitpunkt nicht auf. Anschließend wurden zwei Fische von 16 bzw. 6g und 11,5 bzw. 8,5cm Länge bei 0,5 ml/l narkotisiert. Das größere Tier erreichte nach 10,7 Minuten ein „tiefes“ (4) Narkosestadium und war in 14 Minuten wach, während das kleine Tier nach 11,5 Minuten nur schwach (2) sediert und nach 15 Minuten wieder völlig wach war. Aufgrund dieser variablen Ergebnisse wurde als untere Grenze einer ausreichenden Wirksamkeit, aber unterhalb der gewünschten Ziele, die Dosis von 0,6 ml/l festgelegt und mit dieser erstmalig 10 Fische nacheinander betäubt.

Tabelle 6: Wirksamkeitsgrenze Koikarpfen

Nr.	Dosis HM ml/l Wasser	Wasser-temperatur (°C)	Gewicht (g)	Länge (cm)	Wirkungseintritt (Min.)	Anflutungszeit (Min.)	OP-Toleranz	Aufwachzeit (Min.)
1	0,1	20	8	9	-	>30	1	0
2	0,2	20	10	9	-	>30	1	0
3	0,4	20	12	9,5	8	25	3	34
4	0,5	20	16	11,5	5	10,7	4	14
5	0,5	20	6	8,5	3	11,5	2	15

Erklärung: OP-Toleranz: 1=unzureichend, 2=schwach, 3=ausreichend, 4=tief, 5=zu tief

##### 4.1.1.2. Ermittlung der optimalen Dosis

Zehn Fische von durchschnittlich  $12,6 \pm 2,5$ g Gewicht und  $10 \pm 0,6$ cm Länge wurden mit 0,6ml HM pro l Wasser narkotisiert. Ein Wirkungseintritt war durchschnittlich nach  $2,45 \pm 0,83$  Minuten zu beobachten, und die Anflutungszeit dauerte etwa  $11,3 \pm 2,28$  Minuten. Dabei wurde eine OP-Tiefe von  $2,8 \pm 0,79$  erreicht, also am unteren Limit der idealen Tiefe, die von über 2,5 bis 4,5 reicht. (Einteilung siehe Tabelle 5, Kap.3.2.8.1.1). In der Anflutungsphase traten dabei bei 60% der Tiere Exzitationen auf (n=6) und in der Aufwachphase bei 20%

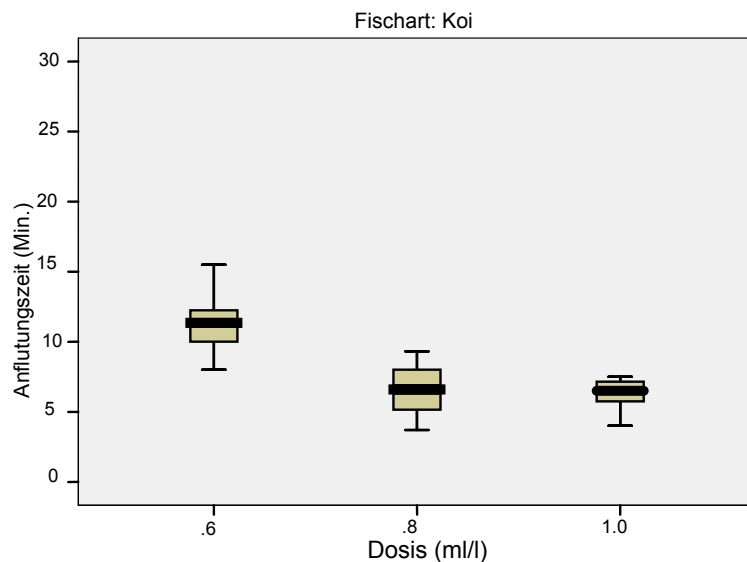


(n=2). Letztere dauerte insgesamt etwa  $24,15 \pm 7,02$  Minuten, bei zwei Fischen jedoch 35 Minuten.

Nachfolgend wurden zehn Koikarpfen mit 0,8ml HM pro l Wasser betäubt, die im Mittel  $9,9 \pm 0,8$ cm lang und  $11,8 \pm 2,57$ g schwer waren. Eine Wirkung trat nach durchschnittlich  $1,8 \pm 0,42$  Minuten ein und führte nach etwa  $6,65 \pm 1,95$  Minuten zu einer mittleren OP-Toleranz von  $3,5 \pm 0,53$ . Bei 60% (n=6) der Tiere wurden dabei in der Einleitung Exzitationen beobachtet, beim Aufwachen hingegen nur bei 20% (n=2). Die Zeit bis zum vollständigen Erwachen betrug im Schnitt  $24,5 \pm 5,3$  Minuten und dauerte bei zwei Tieren mit 32 Minuten etwas länger, als die gewünschte Zeit von unter 30 Minuten.

Die zehn Fische, die mit 1,0ml HM pro Liter Wasser getestet wurden, waren durchschnittlich  $9,7 \pm 0,8$ cm lang und  $11,8 \pm 2,57$ g schwer. Beginnende Wirkungen waren ab  $1,9 \pm 0,46$  Minuten festzustellen und die Anflutungszeit betrug  $6,32 \pm 1,16$  Minuten. Dabei wurde eine mittlere OP-Toleranz von  $3,3 \pm 1,06$  erreicht, bei der allerdings bei 80% der Tiere (n=8) Exzitationen auftraten. Die Aufwachphase dauerte  $27,5 \pm 6,24$  Minuten, bei einem Tier 35 und einem anderen sogar 40 Minuten. Diese waren bei keinem Tier von Exzitationen begleitet.

Graphik 1: Zusammenhang Dosis und Anflutungszeit, Koikarpfen Vorversuche



[An dieser Stelle wird für alle folgenden Abbildungen die Form der Darstellung mittels „Boxplots“ erklärt:

Die „Box“ ist das Rechteck, das 50% der Daten beinhaltet. Die vertikale Länge der Box heißt „Interquartilsabstand“ IQR. Der Querbalken im Zentrum zeigt den Median an, also denjenigen Datenwert, der genau in der Mitte aller beobachteten Werte liegt (entspricht nicht dem arithmetischen Mittel). Die Extensionslinien nach oben und unten sind die „Whisker“, deren Länge maximal den 1,5-fachen IQR beträgt und deren Endpunkte ( $\top$ ;  $\perp$ ) durch einen Wert aus den Daten bestimmt werden. Werte, die weiter als das 1,5-fache des IQR entfernt liegen, werden als Ausreißer bezeichnet. Milde Ausreißer (mit  $\circ$  gekennzeichnet) liegen zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen des IQR. Extreme Ausreißer (durch \* dargestellt) sind weiter als das 3-fache des IQR von der Box entfernt.]

Eines der wichtigsten Merkmale, die Anflutungszeit, unterschied sich zwischen 0,6 ml/l und 0,8 ml/l signifikant, nicht aber zwischen 0,8 ml/l und 1,0 ml/l (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7: Unterschiede Dosis bezüglich Anflutungszeit, Koikarpfen

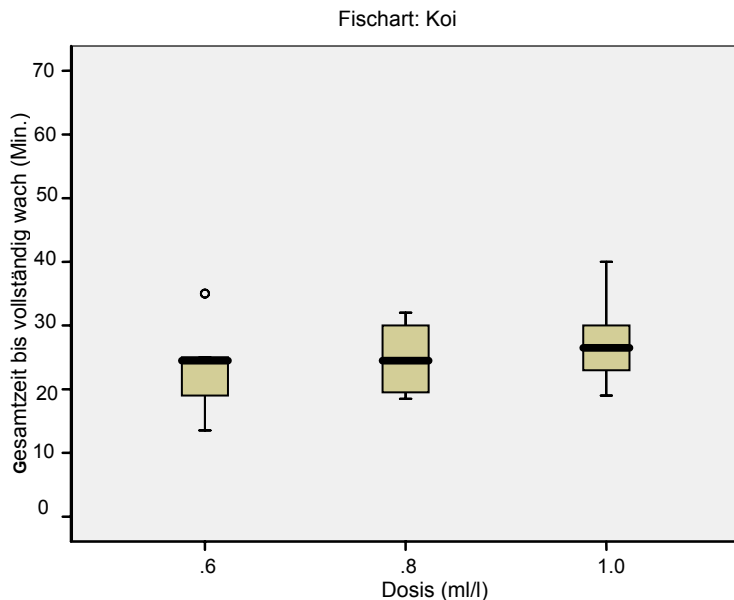
Dosis 1	Dosis 2	Signifikanz ( p-Wert)
in ml/l		
.6	.8	.000
	1.0	.000
.8	.6	.000
	1.0	.914
1.0	.6	.000
	.8	.914

Tabelle 8: Unterschiede Dosis bezüglich Aufwachzeit, Koikarpfen

Dosis 1	Dosis 2	Signifikanz ( p-Wert)
in ml/l		
.6	.8	.991
	1.0	.463
.8	.6	.991
	1.0	.537
1.0	.6	.463
	.8	.537

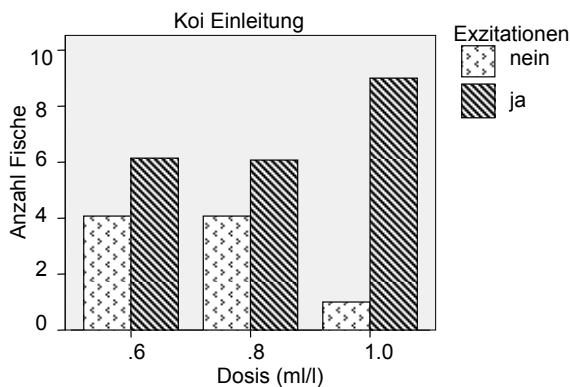
Für die Aufwachzeit ließ sich dagegen statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Dosierungen nachweisen, wie aus den p-Werten über 0,05 ersichtlich wird (siehe Tabelle 8).

Graphik 2: Zusammenhang Dosis und Aufwachzeit, Koikarpfen Vorversuche

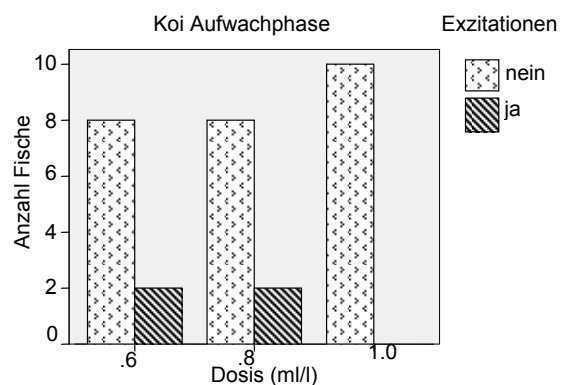


Die Häufigkeit von Exzitationen in der Einleitungs- und Aufwachphase wurde bezüglich eines Zusammenhanges mit der Dosierung statistisch überprüft, ein solcher ließ sich jedoch nicht nachweisen. Der Übersicht halber werden die aufgetretenen Exzitationen in folgenden Balkendiagrammen dargestellt:

Graphik 3: Häufigkeit Exzitationen Einleitungsphase nach Dosis, Koikarpfen



Graphik 4: Häufigkeit Exzitationen Aufwachphase nach Dosis, Koikarpfen

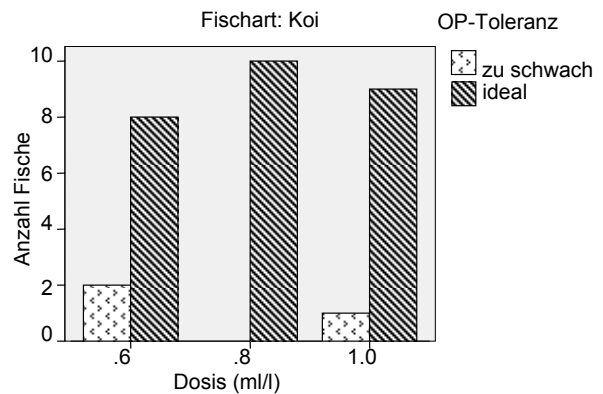


Bei 0,6ml HM /l Wasser trat zweimal und bei 1,0 ml/l einmal eine Narkosetiefe im unzureichenden Bereich auf, ein unerwünscht tiefes oder irreversibles Stadium trat nie ein und wurde deshalb in den Abbildungen nicht dargestellt.

Tabelle 9: OP-Toleranz und Dosis, Koikarpfen

		OP-Toleranz (Anzahl Fische)		gesamt
		zu schwach	ideal	
Dosis (ml/l)	.6	2	8	10
	.8	0	10	10
	1.0	1	9	10
gesamt		3	27	30

Graphik 5: OP-Toleranz und Dosis, Koikarpfen



Aufgrund des signifikanten Unterschiedes in der Anflutungszeit zwischen der Dosis 0,6 ml/l und 0,8 ml/l und der fehlenden Signifikanz für Unterschiede zur nächst höheren Dosis 1,0 ml/l wurde 0,8ml HM pro Liter Wasser als die optimale Dosierung bei Koikarpfen gefunden.

#### 4.1.2. Regenbogenforellen

##### 4.1.2.1. Wirksamkeitsgrenze

Aufgrund der Erfahrungen mit den Koikarpfen und den wesentlich niedrigeren Wassertemperaturen ( $9,4^{\circ}\text{C} \pm 0,4^{\circ}\text{C}$  statt  $20,05^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) wurde die erste Forelle gleich mit 0,2ml HM pro Liter Wasser getestet. Das Tier wog 180g und war 26cm lang. Innerhalb von 35 Minuten konnten bei einer Atemfrequenz von 72 pro Minute keinerlei Anzeichen einer Sedation festgestellt werden, und der Fisch wehrte sich heftig gegen die Entnahme aus dem Narkosebecken, weshalb er nur für 60 Sekunden zum Wiegen und Vermessen außerhalb des Wassers behalten wurde. Im Aufwachbecken setzten Bewegungen jedoch erst nach fünf Minuten ein und das Tier befand sich bis zu diesem Zeitpunkt seit dem Einbringen ins Becken in Seitenlage. Nach 15 Minuten war das Tier vollständig wach und konnte zurück in ein Hälterungsbecken gesetzt werden.

Das nächste Tier von 27cm Länge und 220g Gewicht wurde mit 0,4ml HM pro Liter Wasser betäubt. Ein Wirkungseintritt war bereits nach 4,5 Minuten zu beobachten, der sich in beginnendem Gleichgewichtsverlust und leichter Seitenlage bei vollständiger Reaktion auf Reize äußerte. Die Atemfrequenz betrug dabei 76 pro Minute. Ab sieben Minuten befand sich der Fisch bis zur Entnahme in Seitenlage. Ein Absinken auf den Boden war nur vorübergehend zu beobachten. Nach 14 Minuten wurde die Narkose der Forelle nach den Kriterien in Kapitel 2.2.5 als ausreichend tief beurteilt und der Fisch aus dem Narkosebad entnommen. Dabei wurde bei einer gleichmäßigen Atemfrequenz von 10 pro Minute keine Abwehr gezeigt, aber da das Tier innerhalb der 120 Sekunden außerhalb des Wassers dreimal kurz zappelte, wurde die OP-Toleranz als unzureichend ausgewiesen. Im Aufwachbecken begann der Fisch nach einer Minute, sich zu bewegen und war nach zehn Minuten vollständig wach.

Da innerhalb von 30 Minuten deutliche Wirkungen eingetreten waren, wurde mit der Ermittlung der optimalen Dosis fortgefahren.

Tabelle 10: Wirksamkeitsgrenze Regenbogenforellen

Nr.	Dosis HM ml/l Wasser	Wasser- temperatur (°C)	Gewicht (g)	Länge (cm)	Wirkungs- eintritt (Min.)	Anflutungs- zeit (Min.)	OP- Toleranz	Aufwach- zeit (Min.)
1	0,2	9	180	26	-	>35	1	15
2	0,4	9	220	27	4,5	14	1	10

Erklärung: OP-Toleranz: 1= unzureichend, 2=schwach, 3=ausreichend, 4=tief, 5=zu tief

#### 4.1.2.2.Ermittlung der optimalen Dosis

Mit weiteren neun Regenbogenforellen wurde die Versuchsreihe bei der Dosis 0,4 ml/l fortgeführt. Die insgesamt 10 Forellen wogen im Schnitt 197g ( $\pm 19,9$ g) bei einer Länge von 26,45cm ( $\pm 1,09$ cm). Der Wirkungseintritt erfolgte durchschnittlich nach 3 Minuten ( $\pm 0,9$  Minuten), die gesamte Anflutungszeit dauerte 10,3 Minuten ( $\pm 2,55$  Minuten) und war bei 80% (n=8) der Tiere von Exzitationen begleitet. Die tatsächlich erreichte OP-Toleranz lag zwischen 1 und 2 (Mittelwert =  $1,6 \pm 0,84$ ). Die Zeit bis zum Aufwachen dauerte etwa 21,5 Minuten ( $\pm 8,79$  Minuten), wobei ein Fisch mit 43 Minuten Aufwachzeit auffiel. Bei 60% der Tiere war diese Phase von Exzitationen begleitet.

Die Dosis 0,6 ml/l wurde als nächst höhere ebenfalls mit 10 Fischen realisiert. Die Durchschnittswerte dieser Gruppe waren eine Länge von 26cm ( $\pm 1,94$ cm) und ein Gewicht von 185,2g ( $\pm 33,03$ g) mit einer Zeit bis zu ersten Wirkungen von 1,82 Minuten ( $\pm 0,47$  Minuten). Die Reaktionen auf äußere Reize blieben im Mittel ab 7,9 Minuten ( $\pm 0,81$ ) aus und riefen damit OP-Toleranzen von 2,5 ( $\pm 0,85$ ) hervor. Die Einleitungsphase verlief bei 100% der Fische mit stärkeren oder schwächeren Störungen und die Aufwachphase gestaltete sich bei 20% ohne Verhaltensauffälligkeiten. Nach durchschnittlich 29,15 Minuten ( $\pm 8,72$  Minuten) waren die meisten Forellen wach, mit Ausnahme von drei Tieren, die 34,5, 35 und 45 Minuten benötigten (diese Zahlen sind in den Mittelwert 29,15 einberechnet worden).

Anschließend wurde die Dosis 0,8 ml/l an 11 weiteren Tieren getestet. Da ein Tier nicht aus der Narkose erwachte, aber mindestens 10 Tiere nachbeobachtet werden sollten, wurde ein zusätzliches Tier mit dieser Dosis betäubt. Aufgrund des tödlichen Zwischenfalls wurde die Dosis von 0,8 ml/l als zu hoch bewertet, da keine organische oder infektiöse Todesursache bei der pathologischen Untersuchung des Tierkörpers festzustellen war und deshalb die Narkose mit HM als Todesursache nicht ausgeschlossen werden konnte. Die gewonnenen Daten dieses Fisches wurden dennoch in die folgenden Mittelwertsangaben integriert, mit Ausnahme der Aufwachzeit. Die Tiere waren  $26,5\text{cm} \pm 1,16\text{cm}$  lang und  $194 \pm 33,27\text{g}$  schwer. Mit einem Wirkungseintritt nach  $1,7 \pm 0,23$  Minuten und einer Anflutungszeit von durchschnittlich  $6,1 \pm 2,18$  Minuten wurde eine OP-Toleranz von  $2,36 \pm 1,29$  erreicht, die noch unterhalb derer bei 0,6 ml/l blieb (2,5). Dabei erlitten 90,9% (10 von 11) der Forellen Exzitationen, die bei einigen Exemplaren nicht nur durch spuckende Atembewegungen, wie bei den niedrigeren Dosierungen, sondern durch heftige Abwehrbewegungen und Fluchtversuche gekennzeichnet waren. In der Aufwachphase war dies bei 63% der Tiere (7 von 11) der Fall, wobei die Exzitationen hier immer nur sehr schwach ausgeprägt waren und meist nur in starken Maulbewegungen erkennbar waren. Die Aufwachzeit erschien deutlich länger mit durchschnittlich 36 Minuten (18 bis 60 Minuten  $\pm 14,86$  Minuten; bei einem Fisch keine Angabe, da verstorben). Statistisch konnte für diesen subjektiv empfundenen Unterschied keine Signifikanz nachgewiesen werden.

Der verstorbene Fisch wog 168g bei 25cm Länge und nach einem Wirkungseintritt bei 1,5 Minuten zeigte er nach 9 Minuten Reaktionslosigkeit bei erhaltener Atmung. Bei der Entnahme aus dem Narkosebad wehrte er sich nicht, zappelte aber während des Wiegens und Vermessens kurz leicht, weshalb die Narkosetiefe nur mit 1 bis 2 beurteilt wurde. Nach 120 Sekunden wurde das Tier ins Aufwachbecken gesetzt, wo eine spontane Atmung ausblieb.

Solange unterstützende Maßnahmen durchgeführt wurden, bewegte der Fisch Maul und Kiemendeckel, sich selbst überlassen sistierten diese Atembewegungen aber nach wenigen Sekunden. Als Hilfsmaßnahme wurde der Fisch mit dem Kopf voran durch das Wasser bewegt, der Schlauch für den Durchlauf des Narkosebeckens vor seinem Maul platziert und die Sauerstoffperfusion im Becken erhöht. Als nach 30 Minuten derartiger Behandlung die Atembewegungen bei Beendigung jeglicher Manipulation dennoch immer wieder aufhörten, wurden die Wiederbelebungsversuche eingestellt und der Fisch der Sektion zugeführt, die jedoch keine Hinweise auf die Todesursache lieferte.

Graphik 6: Zusammenhang Dosis und Anflutungszeit, Regenbogenforellen Vorversuche

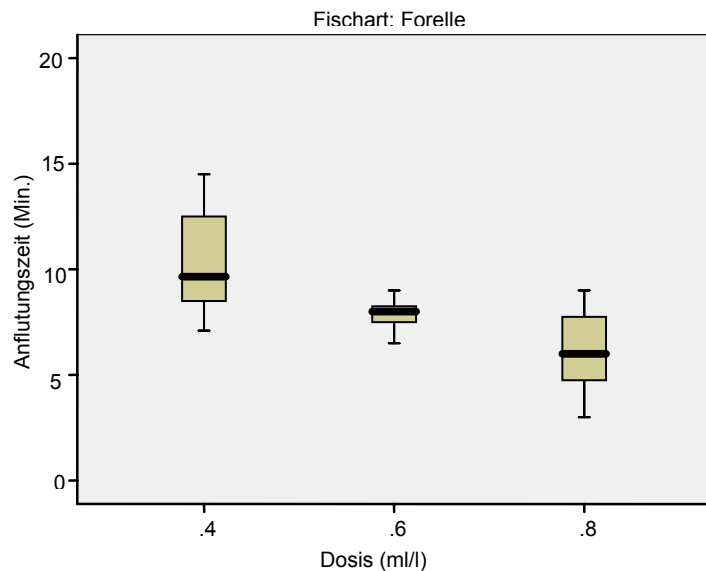


Tabelle 11: Unterschiede Dosis bezüglich Anflutungszeit, Regenbogenforellen

Dosis 1	Dosis 2	Signifikanz
in ml/l		(p-Wert)
.4	.6	.024
	.8	.000
.6	.4	.024
	.8	.116
.8	.4	.000
	.6	.116

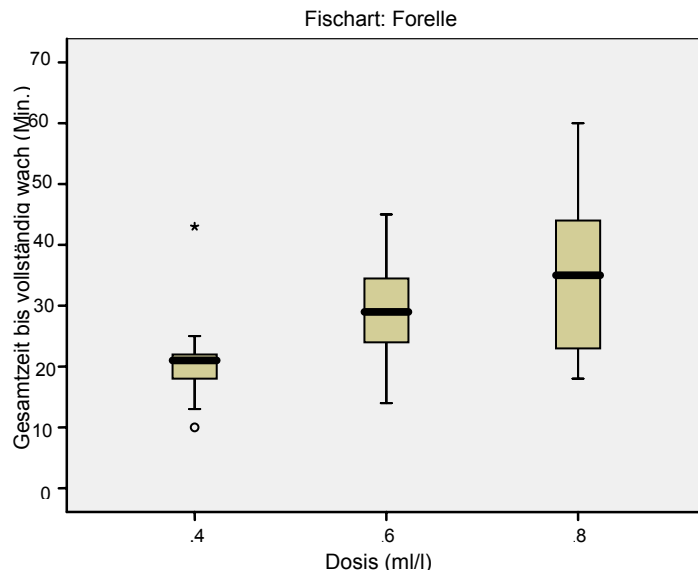
Tabelle 12: Unterschiede Dosis bezüglich Aufwachzeit, Regenbogenforellen

Dosis 1	Dosis 2	Signifikanz
in ml/l		(p-Wert)
.4	.6	.293
	.8	.018
.6	.4	.293
	.8	.360
.8	.4	.018
	.6	.360

Aus obiger Tabelle 11 wird ersichtlich, dass die Anflutungszeit bei der Dosis 0,4 ml/l signifikant länger war, als bei 0,6 ml/l (p-Wert 0,024). Zwischen 0,6 ml/l und 0,8 ml/l bestand hingegen bezüglich der Anflutungszeit kein signifikanter Unterschied.

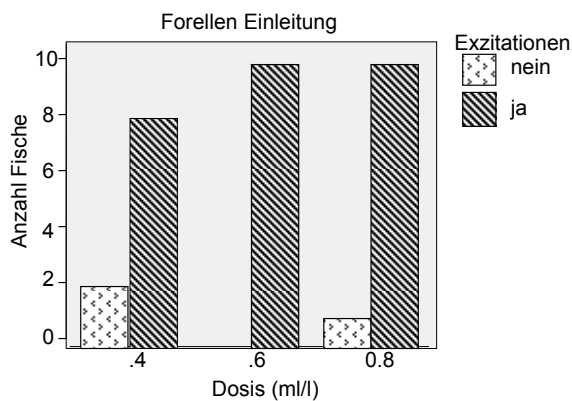
Tabelle 12 sowie die folgenden Abbildungen verdeutlichen diese Sachverhalte für die Aufwachzeit.

Graphik 7: Zusammenhang Dosis und Aufwachzeit, Regenbogenforellen Vorversuche

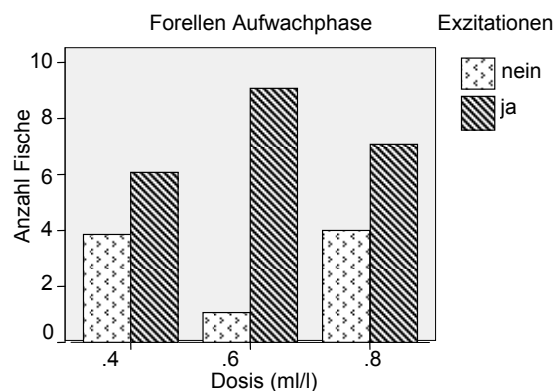


Die Dauer bis zum vollständigen Wachzustand war großen Schwankungen innerhalb der einzelnen Dosierungen unterworfen. Entsprechend stellte sich der Unterschied zwischen den Dosierungen bezüglich der Aufwachzeit nicht als statistisch signifikant dar. Einzig die Zeitspanne bis zum Aufwachen zwischen 0,4 ml/l und 0,8 ml/l unterschieden sich deutlich (p-Wert 0,018).

Graphik 8: Häufigkeit Exzitationen Einleitungsphase nach Dosis, Regenbogenforellen



Graphik 9: Häufigkeit Exzitationen Aufwachphase nach Dosis, Regenbogenforellen

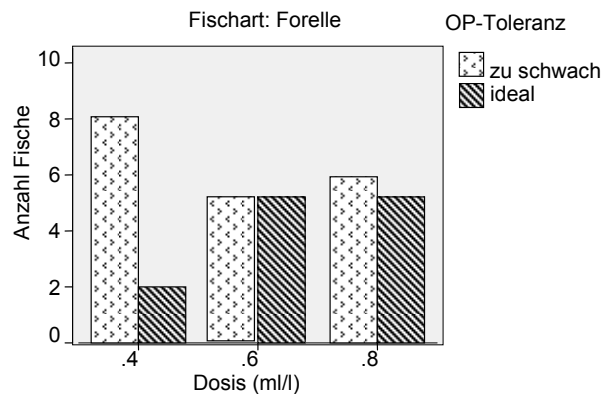


Die Häufigkeit des Auftretens von Exzitationen in der Einleitungs- und Aufwachphase ist in diesen beiden Balkendiagrammen zusammengefasst. Die statistische Untersuchung auf einen Zusammenhang zwischen Dosierung und Häufigkeit von Exzitationen verlief negativ. Nachfolgend werden die erreichten Narkosestadien bei den verschiedenen Dosierungen tabellarisch und graphisch dargestellt. Das Auftreten der verschiedenen Stadien ließ sich nicht mit der Dosis in Zusammenhang bringen. Dabei ist die Aussagekraft der statistischen Untersuchung mit dem Chi - Quadrat - Test aber eingeschränkt, da die Stichprobenzahl für diesen Test größer sein sollte. Auch die erhöhte Dosis von 0,8 ml/l führte nicht zu besseren Ergebnissen bezüglich der Narkosetiefe.

Tabelle13: OP-Toleranz und Dosis, Regenbogenforellen

	Dosis (ml/l)	OP-Toleranz (Anzahl Fische)		Gesamt
		zu schwach	ideal	
	.4	8	2	10
	.6	5	5	10
	.8	6	5	11
Gesamt		19	12	31

Graphik 10: OP- Toleranz und Dosis, Regenbogenforellen



Aufgrund der überwiegend unzureichenden Narkosetiefe bei 0,4 ml/l und der signifikant kürzeren Einleitung bei 0,6 ml/l musste bei Forellen die Dosis 0,6 ml HM pro Liter Wasser als die für diese Fischart geeignete angesehen werden. Die nächst höhere Dosis von 0,8 ml/l kann nicht empfohlen werden, da sich damit weder die Narkosetiefe noch die Anflutungszeit deutlich verbessern ließen und ein ungeklärter Todesfall auftrat.

#### 4.1.3. Kaiserbuntbarsche

##### 4.1.3.1. Wirksamkeitsgrenze

Beginnend mit einer Dosierung von 0,1ml HM pro Liter Wasser wurde die Reaktion der Kaiserbuntbarsche überprüft. Dazu wurde ein 12g schweres und 9,5cm langes männliches Tier in das Narkosebad verbracht. Nach 20 Minuten trat vorübergehend mäßige Seitenlage auf, der Fisch erlangte jedoch innerhalb einer Minute eine normale Position zurück, die er aufrechterhalten konnte, bis er nach 30 Minuten aus dem Becken entnommen wurde. Dabei zeigte er Abwehr und die OP-Toleranz war unzureichend. Im Aufwachbecken begann das Tier sofort, sich zu bewegen, allerdings leicht unkoordiniert. Nach 10 Minuten konnte es als vollständig wach beurteilt werden. Die Atemfrequenz des Fisches nahm im Narkosebad von anfänglich 120 pro Minute auf 72 pro Minute nach 15 Minuten ab.

Das nächste Tier wurde mit 0,2ml HM/l betäubt. Es handelte sich um ein 14g schweres und 10 cm langes Weibchen, das nach 3,5 Minuten eine Wirkung erkennen ließ und ab 10 Minuten zwischen Rücken- und Seitenlage wechselte. Die Reaktion auf Berührung und Vibration blieb bei einer Atemfrequenz von 132 pro Minute voll erhalten, während durch optische Reize bereits nach 1,5 Minuten keine Fluchtreaktion mehr zu provozieren war. Nach 30 Minuten war keine Vertiefung des Narkosezustandes zu erreichen und das Tier wurde aus dem Narkosebad entfernt. Dabei zeigte es keine Abwehr, bewegte sich jedoch während der 120 Sekunden außerhalb des Beckens ständig und die OP-Toleranz wurde mit 1 bewertet. Im Aufwachbecken begann das Tier sofort sich zu bewegen und war nach 35 Minuten voll wach.

Nachfolgend wurde ein 11cm langes und 18g schweres Weibchen in 0,3ml HM/l verbracht. Nach 7,5 Minuten waren Gleichgewichtsprobleme erkennbar, die ab 12 Minuten zu einem Wechsel zwischen Seiten- und Rückenlage führten. Die Atemfrequenz des Fisches betrug 120 pro Minute, und Reaktionen auf optische Reize waren ab 4 Minuten nicht mehr erkennbar. Nach 28 Minuten reagierte das Tier noch auf Vibration und Berührung, da es aber nur noch schwache Schwimmbewegungen zeigte, wurde es dem Becken entnommen. Dabei wehrte es sich nicht, und innerhalb der 120 Sekunden außerhalb des Beckens flösselte es nur leicht mit

den Brustflossen, weshalb die OP-Toleranz als schwach eingestuft wurde. Im Aufwachbecken zeigte der Fisch sofort Bewegungen der Flossen und Reaktionen auf äußere Reize, befand sich aber nach 70 Minuten immer noch in Seitenlage, um sich dann plötzlich aufzurichten und völlig normales Verhalten zu zeigen.

Da dieses Ergebnis immer noch weit entfernt von einer gewünschten Anflutungszeit von unter 10 Minuten lag, wurde der nächste Kaiserbuntbarsch bei 0,4ml HM pro Liter Wasser getestet. Dieses weibliche Tier wog 8g bei 9,5cm Länge und zeigte bei 3,2 Minuten beginnenden Gleichgewichtsverlust. Nach 5 Minuten befand es sich in Rückenlage, in der es sich ruhig im Becken bewegte. Die Reaktion auf Berührung und Vibration blieb bis 17 Minuten im Narkosebad erhalten. Da sich an diesem Zustand nichts mehr änderte, wurde das Tier nach 17,5 Minuten entnommen, wobei es keine Abwehr zeigte. Im Wiegebehälter war es ganz ruhig und atmete mit einer Frequenz von 30 pro Minute bei ausreichender OP-Toleranz. Im Aufwachbecken setzte sofort Bewegung ein und der Fisch war nach 45 Minuten völlig wach. Bei dieser Dosis war innerhalb von 30 Minuten ein narkosegeeignetes Stadium erreicht und in weiteren Versuchen mit in kleinen Schritten erhöhten Dosen sollte eine optimale Dosis gefunden werden.

Tabelle 14: Wirksamkeitsgrenze Kaiserbuntbarsche

Nr.	Dosis HM ml/l Wasser	Wassertemperatur (°C)	Gewicht (g)	Länge (cm)	Wirkungseintritt (Min.)	Anflutungszeit (Min.)	OP-Toleranz	Aufwachzeit (Min.)
1	0,1	24	12	9,5	18	>30	1	10
2	0,2	24	14	10	3,5	>30	1	35
3	0,3	24	18	11	7,5	28	2	70
4	0,4	24	8	9,5	3,2	17,5	3	45

Erklärung: OP-Toleranz: 1= unzureichend, 2=schwach, 3=ausreichend, 4=tief, 5=zu tief

#### 4.1.3.2.Ermittlung der optimalen Dosis

Beginnend mit 0,6ml HM pro Liter Wasser wurden 10 Buntbarsche von  $17 \pm 7,26$ g Gewicht und  $10,95 \pm 1,66$ cm Länge untersucht. Nach durchschnittlich  $2,1 \pm 0,7$  Minuten erfolgte der Wirkungseintritt und die gesamte Anflutungsphase dauerte  $11,85 \pm 3,55$  Minuten. Die Tiere erreichten dabei eine mittlere OP-Toleranz von  $2,3 \pm 0,67$  und waren nach  $22,3 \pm 3,15$  Minuten vollständig wach. Einleitungs- und Aufwachphase waren bei je 10% der Fälle (n=1) von Exzitationen begleitet. Die Geschlechterverteilung von männlich zu weiblich lag innerhalb dieser Gruppe bei 3 zu 7, bei den folgenden zwei Gruppen bei 2 zu 8.

Mit der Dosis 0,8ml HM pro Liter Wasser wurden weitere 10 Tiere von  $16,4 \pm 6,09$ g Gewicht und  $10,75 \pm 1,23$ cm Länge getestet. Erste Wirkungen konnten im Mittel nach  $1,58 \pm 0,89$  Minuten beobachtet werden. Bis zum Erreichen einer Narkosetiefe von  $3,1 \pm 0,88$  brauchten die Fische insgesamt etwa  $8,2 \pm 1,58$  Minuten. Nach  $19,8 \pm 4,57$  Minuten waren sie vollständig wach, wobei diese Phase von keinerlei Exzitationen begleitet war. Bei der Anflutung waren bei 20% der Tiere (n=2) Erregungszustände zu verzeichnen.

Für die Dosis 1,0ml HM pro Liter Wasser kamen 10 Fische von  $12,4 \pm 4,5$ g Gewicht und  $10,01 \pm 0,83$ cm Länge zum Einsatz. Bei dieser Dosis setzte die Wirkung im Schnitt nach  $1,45 \pm 0,44$  Minuten ein, und die gesamte Einleitungsphase dauerte  $7,35 \pm 2,15$  Minuten. Bei 10% der Tiere (n=1) wurden Exzitationen beobachtet. Die erzielte OP-Toleranz betrug durchschnittlich  $3,6 \pm 0,69$ . Nach  $37,9 \pm 19,15$  Minuten waren die Tiere völlig wach, erlitten während dieser Phase aber zu 30% (n=3) Erregungszustände. Dabei war ein Tier nach 45 Minuten, drei weitere erst nach mehr als 60 Minuten wach.



Graphik 11: Zusammenhang Dosis und Anflutungszeit, Kaiserbuntbarsche Vorversuche

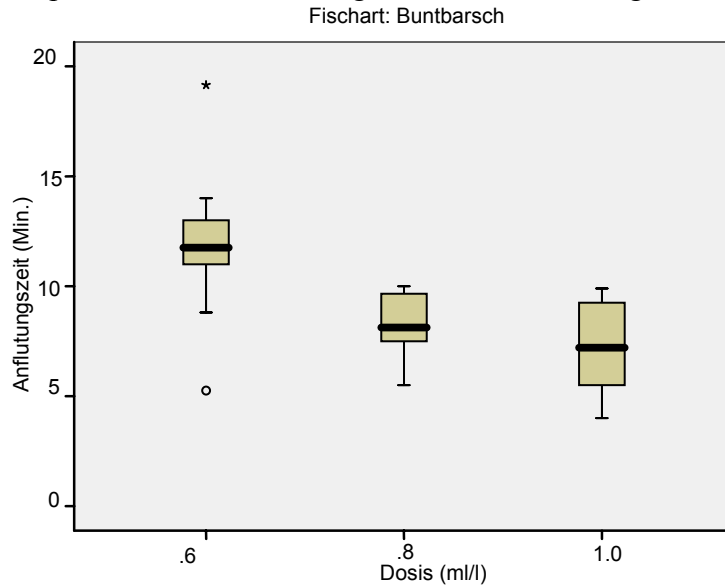


Tabelle 15: Unterschiede Dosis bezüglich Anflutungszeit, Kaiserbuntbarsche

Dosis 1	Dosis 2	Signifikanz
in ml/l		(p-Wert)
.6	.8	.010
	1.0	.002
.8	.6	.010
	1.0	.741
1.0	.6	.002
	.8	.741

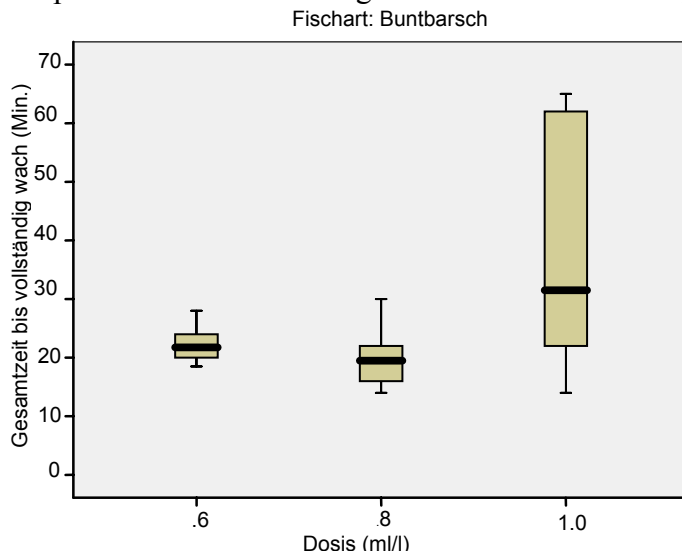
Tabelle 16: Unterschiede Dosis bezüglich Aufwachzeit, Kaiserbuntbarsche

Dosis 1	Dosis 2	Signifikanz
in ml/l		(p-Wert)
.6	.8	.879
	1.0	.014
.8	.6	.879
	1.0	.004
1.0	.6	.014
	.8	.004

Aus Graphik 11 und Tabelle 15 wird ersichtlich, dass bezüglich der Anflutungszeit in Abhängigkeit von der Dosis zwischen 0,6 und 0,8 ml/l ein signifikanter Unterschied bestand (p-Wert 0,010), während dies zwischen 0,8 und 1,0 ml/l nicht der Fall war (p-Wert 0,741 und damit größer als 0,05).

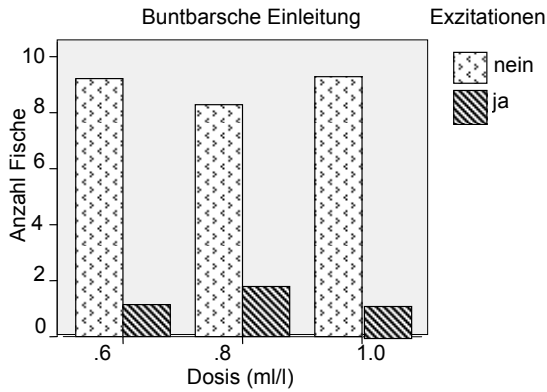
Tabelle 16 und Graphik 12 stellen die entsprechenden Verhältnisse bei der Aufwachzeit dar.

Graphik 12: Zusammenhang Dosis und Aufwachzeit, Kaiserbuntbarsche Vorversuche

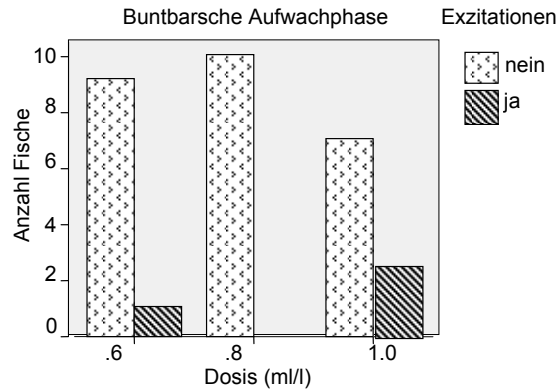


Zwischen 0,6 und 0,8 ml/l bestand kein signifikanter Unterschied bezüglich der Aufwachzeit (p-Wert 0,879), zwischen 0,8 und 1,0 ml/l traf dies hingegen zu (p-Wert 0,004), da diese bei 1,0 ml/l wesentlich länger war.

Graphik 13: Häufigkeit Exzitationen Einleitungsphase und Dosis, Kaiserbuntbarsche



Graphik 14: Häufigkeit Exzitationen Aufwachphase und Dosis, Kaiserbuntbarsche

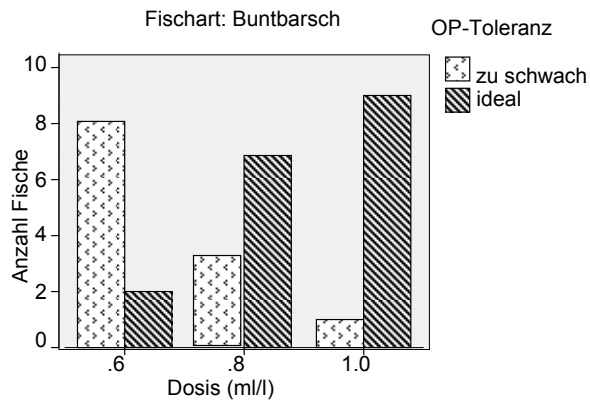


Es bestand kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang zwischen der Häufigkeit des Auftretens von Exzitationen und der Dosis sowohl in der Einleitungs- als auch in der Aufwachphase.

Tabelle 17: OP-Toleranz und Dosis, Kaiserbuntbarsche

		OP-Toleranz (Anzahl Fische)		Gesamt
		zu schwach	ideal	
Dosis (ml/l)	.6	8	2	10
	.8	3	7	10
	1.0	1	9	10
Gesamt		12	18	30

Graphik 15: OP-Toleranz und Dosis, Kaiserbuntbarsche



Aufgrund dieser Ergebnisse konnte die Dosis 0,8ml HM/l als geeignet bezeichnet werden. Bei dieser Dosierung ließ sich im Gegensatz zu 0,6 ml/l eine deutlich kürzere Anflutungszeit mit besserer Narkosetiefe von durchschnittlich  $3,1 \pm 0,88$  (ideal: ab 2,5) erreichen. Im Vergleich zu 1,0 ml/l war die Aufwachzeit wesentlich kürzer, ohne dass die anderen Parameter von der höheren Dosis positiv beeinflusst wurden, denn die Unterschiede bezüglich der OP-Toleranz besaßen keine statistische Signifikanz.

## 4.2. Hauptversuche

### 4.2.1. Vergleich Hellabrunner Mischung und MS 222

#### 4.2.1.1. Koikarpfen

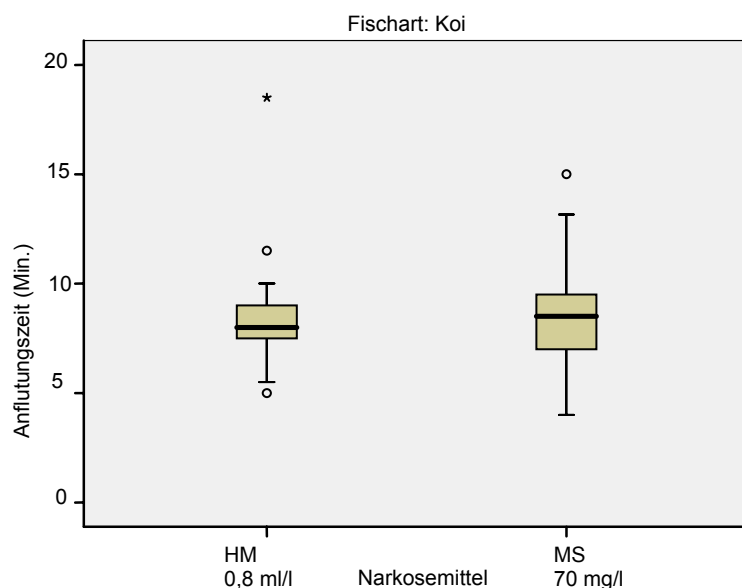
Die Fische in den zwei Gruppen mit insgesamt 27 Tieren, die für den Hauptversuch eingesetzt wurden, waren im Schnitt  $13,66 \pm 2,98\text{g}$  schwer und  $10,3 \pm 0,7\text{cm}$  lang. Die Wassertemperatur betrug während der Versuchsphase durchschnittlich  $20,11 \pm 0,21^\circ\text{C}$  (Min= $20^\circ$ , Max= $20,5^\circ$ ).

##### 4.2.1.1.1. Anflutungszeit

Die Anflutungszeit dauerte für die Fische beider Gruppen mit  $0,8\text{ml HM / l Wasser}$  von 5 bis 19 Minuten mit einem Mittelwert von  $8,48$  Minuten ( $s = 2,44$ ).

Bei  $70\text{mg MS 222 / l Wasser}$  dauerte die Einleitungsphase von 4 bis 15 Minuten bei einem Schnitt von  $8,38 \pm 2,46$  Minuten und war damit durchschnittlich  $0,1$  Minuten kürzer. Es bestand keine statistische Signifikanz (p-Wert  $0,702$ ).

Graphik 16: Zusammenhang Narkosemittel und Anflutungszeit, Koikarpfen



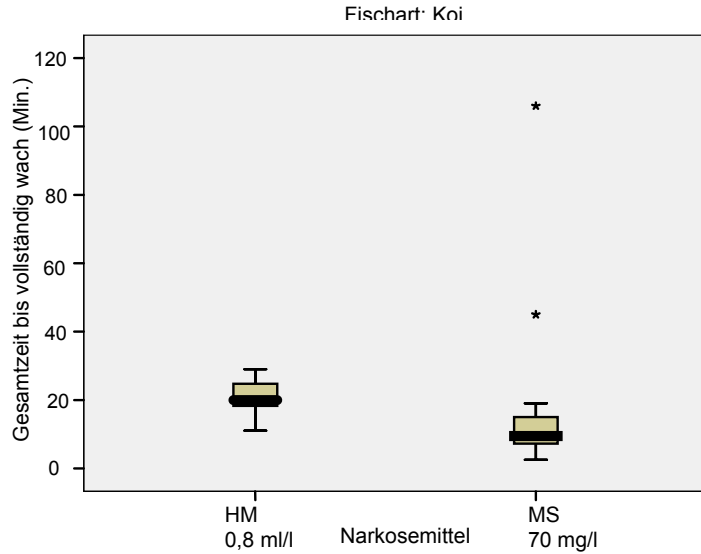
##### 4.2.1.1.2. Aufwachzeit

Mit der HM benötigten die Tiere im Mittel  $20,78 \pm 4,43$  Minuten um vollständig aufzuwachen (Min= $11$ ; Max= $29$  Minuten).

Nach MS 222 dauerte die Aufwachphase von 3 bis 106 Minuten durchschnittlich  $14,65$  Minuten mit einer Standardabweichung von  $19,88$  und variierte damit stärker, bedingt durch zwei Ausreißer. Nach einer Narkose mit MS 222 waren die Fische im Mittel  $6,13$  Minuten früher wach.

Dieser Unterschied zwischen den Aufwachzeiten besaß statistische Signifikanz (p-Wert  $0,000$ ).

Graphik 17: Zusammenhang Narkosemittel und Aufwachzeit, Koikarpfen



4.2.1.1.3. OP-Toleranz

Bei den Koikarpfen konnte für jedes Tier genau nachvollzogen werden, welche OP-Toleranz das Individuum mit MS 222 und im Gegensatz dazu mit der HM erreichte.

Die deshalb mit verbundenen Wertepaaren berechnete Statistik zeigte keine signifikanten Unterschiede bezüglich der erreichten OP-Toleranz zwischen HM und MS 222 bei den Koikarpfen auf. Aus der Kreuztabelle wird ersichtlich, dass auch kein Zusammenhang mit einem bestimmten Individuum und der erreichbaren Narkosetoleranz besteht.

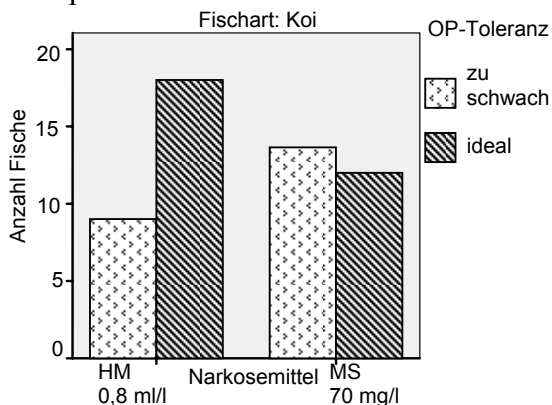
Insgesamt erreichten in 27 HM - Narkosen 18 von 27 Tieren (66,7%) das ideale Narkosestadium von über 2,5 (Mittelwert 2,93; s = 0,78). Von genau diesen 18 Tieren erreichten unter MS 222 nur 9 das Stadium „ideal“, die anderen 9 waren zu schwach narkotisiert.

Von den 13 Fischen, die unter MS 222 eine ideale OP-Toleranz erreichten, waren 4 unter HM zu schwach betäubt, 9 hingegen ideal. 14 von 27 Narkosen (51,85%) waren bei MS 222 zu schwach (Mittelwert 2,41; s = 1,25).

Tabelle 18: OP-Toleranz bei verschiedenen Narkosemitteln, Koikarpfen

			OP- Toleranz MS		Gesamt
			zu schwach	ideal	
OP -Toleranz HM	zu schwach	Anzahl	5	4	9
	ideal	Anzahl	9	9	18
Gesamt		Anzahl	14	13	27

Graphik 18: OP-Toleranz und Narkosemittel, Koikarpfen



4.2.1.1.4. Auftreten von Exzitationen

Die Einleitungsphase mit 0,8ml HM /l Wasser verlief bei 9 von 27 Tieren (33,3%) unruhig, in der Aufwachphase war dies bei 3 Tieren (ca.11%) der Fall.

Mit MS 222 wurden bei 12 von 27 Tieren (ca. 44%) Exzitationen in der Einleitungsphase beobachtet und bei 10 Tieren (37 %) in der Aufwachphase.

Tabelle 19: Exzitationen Einleitungsphase und Narkosemittel, Koikarpfen

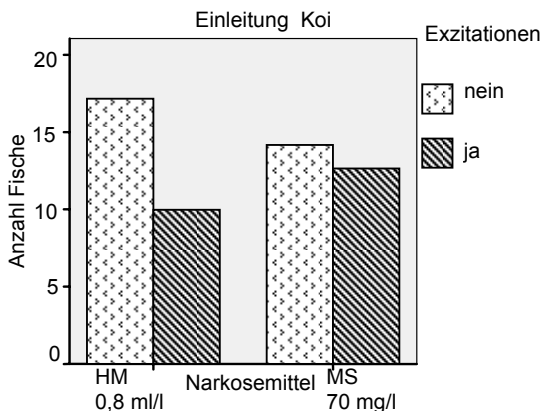
		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Narkosemittel	HM	18	9	27
	MS	15	12	27
Gesamt		33	21	54

Tabelle 20: Exzitationen Aufwachphase und Narkosemittel, Koikarpfen

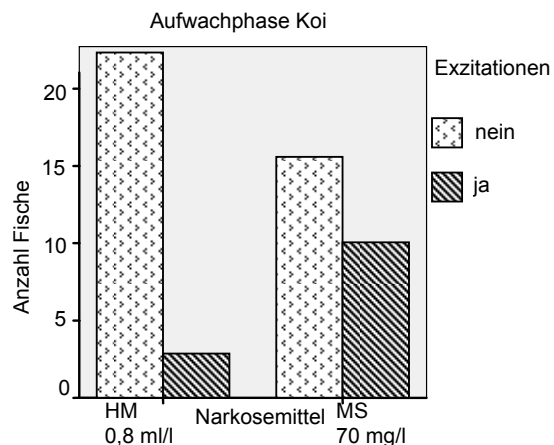
		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Narkosemittel	HM	24	3	27
	MS	17	10	27
Gesamt		41	13	54

Diese Unterschiede in der Häufigkeit der Exzitationen zwischen HM und MS 222 in der Einleitungs- und Aufwachphase waren nicht signifikant (p-Wert 0,583 bzw. 0,054).

Graphik 19: Häufigkeit Exzitationen Einleitungsphase und Narkosemittel, Koikarpfen



Graphik 20: Häufigkeit Exzitationen Aufwachphase und Narkosemittel, Koikarpfen



4.2.1.1.5. Korrelationen

4.2.1.1.5.1.HM: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge

Anflutungszeit und Aufwachzeit waren weder untereinander noch mit Gewicht oder Länge korreliert, wenn Koikarpfen mit HM betäubt wurden. Einzig der Zusammenhang zwischen Länge und Gewicht war signifikant (p-Wert 0,00 und damit kleiner als 0,05).

Tabelle 21: Korrelationen HM, Koikarpfen

		Anflutungszeit	Gewicht	Länge	Gesamtzeit bis vollständig wach
Anflutungszeit	Korrelation nach Pearson	1	.206	.072	.072
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert		.303	.722	.721
	N	27	27	27	27
Gewicht	Korrelation nach Pearson	.206	1	.850	.152
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.303		.000	.451
	N	27	27	27	27
Länge	Korrelation nach Pearson	.072	.850	1	.065
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.722	.000		.746
	N	27	27	27	27
Gesamtzeit bis vollständig wach	Korrelation nach Pearson	.072	.152	.065	1
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.721	.451	.746	
	N	27	27	27	27

Fischart = Koi, Narkosemittel = HM; N = Anzahl Fische

#### 4.2.1.1.5.2.MS 222: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge

Auch bei MS 222 gilt für Koikarpfen, dass keine Abhängigkeit der Anflutungs- und Aufwachzeit von Länge und Gewicht bestand. Zwischen Länge und Gewicht bestand jedoch eine Korrelation (Signifikanz von 0,00). Zudem gab es bei MS 222 eine positive Korrelation der Anflutungszeit mit der Aufwachzeit (p-Wert 0,029).

Tabelle 22: Korrelationen MS 222, Koikarpfen

		Anflutungszeit	Gewicht	Länge	Gesamtzeit bis vollständig wach
Anflutungszeit	Korrelation nach Pearson	1	.056	.116	.116
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert		.783	.565	.029
	N	27	27	27	27
Gewicht	Korrelation nach Pearson	.056	1	.848	-.063
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.783		.000	.755
	N	27	27	27	27
Länge	Korrelation nach Pearson	.116	.848	1	-.073
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.565	.000		.716
	N	27	27	27	27
Gesamtzeit bis vollständig wach	Korrelation nach Pearson	.116	-.063	-.073	1
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.029	.755	.716	
	N	27	27	27	27

Fischart = Koi, Narkosemittel = MS; N = Anzahl Fische

#### 4.2.1.1.5.3.Einfluss der Tageszeit

Weder bei der HM noch bei MS 222 ließ sich bezüglich der Anflutungszeit oder der Aufwachzeit ein Einfluss der Tageszeit bei den Koikarpfen feststellen.

4.2.1.1.6. weitere Beobachtungen

Nach der Narkose mit 0,8ml HM /l Wasser atmeten einige der Koikarpfen in den 120 Sekunden außerhalb des Wassers im Verlauf der ersten Minute gleichmäßig, während die Atembewegungen in der zweiten Minute ungleichmäßig wurden oder sistierten. Bei keinem Fisch setzte die Atmung in der Gesamtzeit komplett aus. Die 27 Fische zeigten Atemfrequenzen von 2 bis 80 mit im Mittel 23,74 (s = 19,2) Kiemendeckel- und Maulbewegungen pro Minute. Im Aufwachbecken begann ein Tier erst nach 60 Sekunden, ein anderes nach 90 Sekunden wieder mit der Atmung, alle anderen atmeten sofort etwa 60 mal pro Minute. (Durchschnittliche Atemfrequenz Anflutung:  $82,2 \pm 12,6$  pro Minute)

Im Anschluss an die Narkose mit 70mg MS 222 /l Wasser setzte bei 15 Fischen die Atmung aus. Bei den übrigen war sie regelmäßig, aber überwiegend extrem schnell und manchmal fast nur noch als "Flattern" der Kiemendeckel zu bezeichnen. Die Frequenz reichte von 2 bis 168 pro Minute, im Durchschnitt betrug sie 86,9 (s = 56,6) pro Minute. Alle Tiere atmeten im Aufwachbecken sofort wieder regulär. (Durchschnittliche Atemfrequenz Anflutung:  $73,5 \pm 16,8$  pro Minute)

Bei den Koikarpfen wurden keine weiteren auffälligen Beobachtungen gemacht.

4.2.1.2. Regenbogenforelle

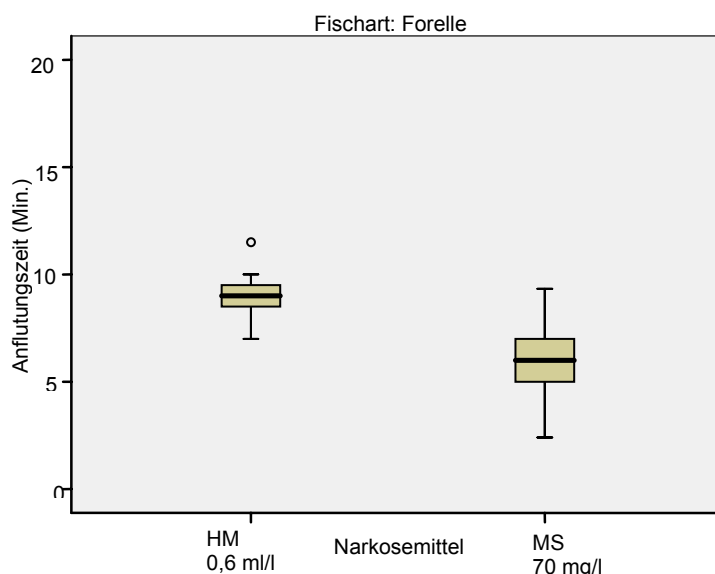
Für die Hauptversuche wurden insgesamt 26 Forellen in zwei Gruppen eingesetzt. Diese Tiere waren  $26,9 \pm 1,3$ cm lang und wogen  $196,28 \pm 26,55$ g. Die Wassertemperatur betrug dabei  $9,02 \pm 0,17^\circ\text{C}$  (von 8,5 bis 9,5°C).

4.2.1.2.1. Anflutungszeit

Bei beiden Gruppen dauerte die Einleitungsphase mit 0,6ml HM /l Wasser von 7 bis 11 Minuten durchschnittlich  $8,99 \pm 0,93$  Minuten.

Mit 70mg MS 222/l benötigten die Forellen 2,4 bis 9,33 Minuten. Der Mittelwert mit der Standardabweichung von 1,46 betrug 5,98 Minuten und damit 3,01 Minuten weniger als derjenige unter HM. Der p-Wert betrug hier 0,000 und deshalb war der Unterschied zwischen HM und MS 222 signifikant.

Graphik 21: Zusammenhang Narkosemittel und Anflutungszeit, Regenbogenforellen

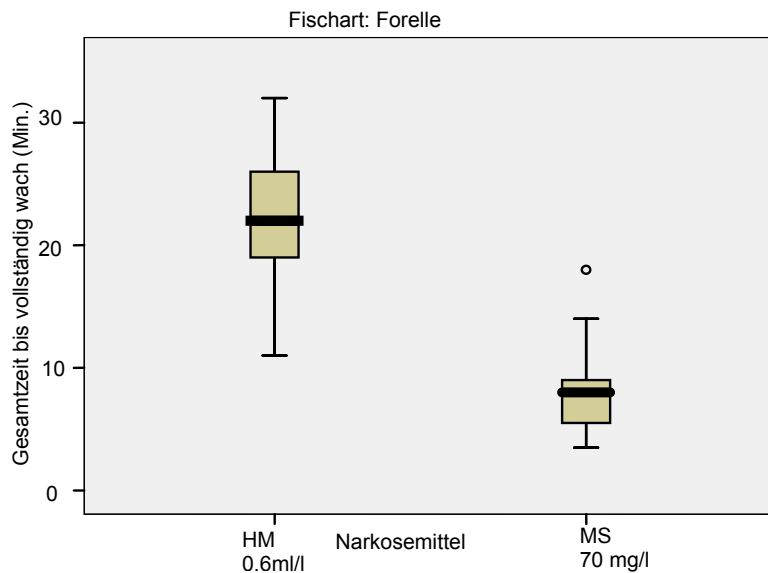


4.2.1.2.2. Aufwachzeit

Bis die Tiere vollständig wach waren, dauerte es nach einer Narkose mit 0,6ml HM /l Wasser von 11 bis 32 Minuten bei einem Mittelwert von  $22,13 \pm 5,65$  Minuten.

Nach einer Betäubung mit 70mg MS 222 /l Wasser dauerte die Aufwachphase hingegen von 3,5 bis 18 Minuten durchschnittlich nur  $8,05 \pm 3,14$  Minuten und damit im Mittel 14,08 Minuten weniger als bei HM. Dieser Unterschied war statistisch signifikant (p-Wert 0,000).

Graphik 22: Zusammenhang Narkosemittel und Aufwachzeit, Regenbogenforellen



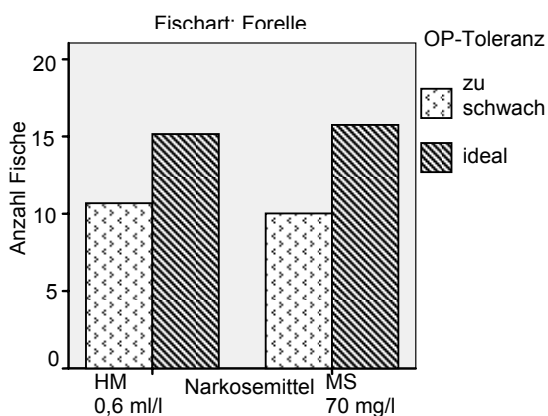
4.2.1.2.3. OP-Toleranz

Bezüglich der OP-Toleranz bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Narkosen mit HM und mit MS 222. Mit der HM erreichten 15 von 26 Fischen (57,7%) eine Narkosetiefe von über 2,5 (Mittelwert 2,77;  $s = 1,03$ ), und bei MS 222 war dies bei 16 von 26 Tieren (61,5%) der Fall (Mittelwert 2,85;  $s = 1,26$ ).

Tabelle 23: OP-Toleranz und Narkosemittel, Regenbogenforellen

			OP-Toleranz		Gesamt
			zu schwach	ideal	
Narkosemittel	HM	Anzahl	11	15	26
	MS	Anzahl	10	16	26
Gesamt		Anzahl	21	31	52

Graphik 23: OP-Toleranz und Narkosemittel, Regenbogenforellen





4.2.1.2.4. Auftreten von Exzitationen

Bei der Einleitungsphase unter HM traten bei 24 von 26 Forellen (92,3%) meist schwache Exzitationen auf, in der Aufwachphase war dies bei 15 von 26 Tieren der Fall (57,7%). Unter der Anflutung mit MS 222 erlebten 23 von 26 Tieren Erregungszustände (88,5%), beim Aufwachen nur ein einziger Fisch (3,85%).

Tabelle 24: Exzitationen Einleitungsphase und Narkosemittel, Regenbogenforellen

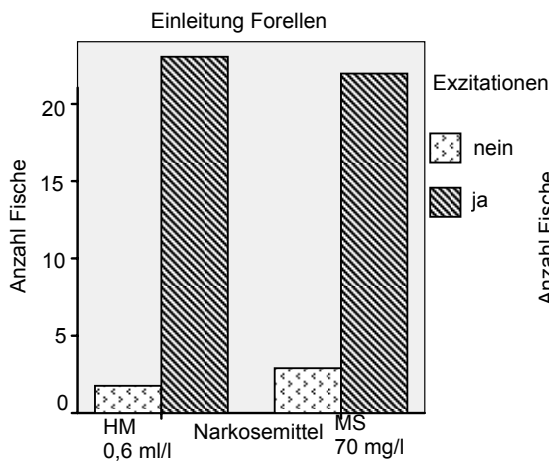
		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Narkosemittel	HM	2	24	26
	MS	3	23	26
Gesamt		5	47	52

Tabelle 25: Exzitationen Aufwachphase und Narkosemittel, Regenbogenforellen

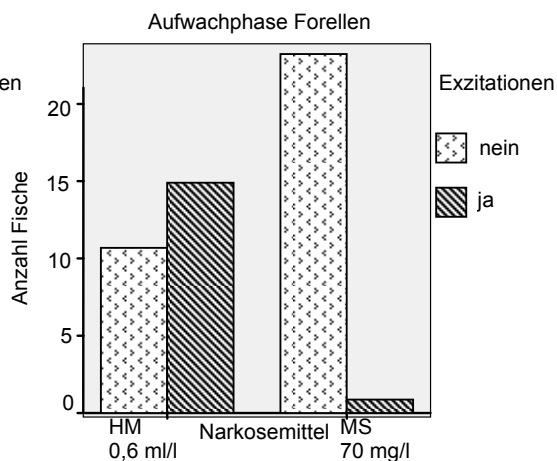
		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Narkosemittel	HM	11	15	26
	MS	25	1	26
Gesamt		36	16	52

Bezüglich der Unterschiede im Auftreten von Exzitationen in der Einleitungsphase zwischen HM und MS 222 bestand keine Signifikanz (p-Wert 1,0), die Differenz der Häufigkeit von Exzitationen in der Aufwachphase war jedoch hoch signifikant (p-Wert 0,000).

Graphik 24: Häufigkeit Exzitationen Einleitungsphase und Narkosemittel, Regenbogenforellen



Graphik 25: Häufigkeit Exzitationen Aufwachphase und Narkosemittel, Regenbogenforellen



4.2.1.2.5. Korrelationen

4.2.1.2.5.1. HM: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge

Ein Zusammenhang zwischen Länge und Anflutungszeit sowie zwischen Gewicht und Anflutungszeit war bei den Narkosen mit HM nicht erkennbar. Dies gilt auch für den Zusammenhang zwischen Anflutungs- und Aufwachzeit. Lediglich Gewicht und Länge der Fische waren untereinander korreliert.

Tabelle 26: Korrelationen HM, Regenbogenforellen

		Anflutungszeit	Gewicht	Länge	Gesamtzeit bis vollständig wach
Anflutungszeit	Korrelation nach Pearson	1	-.375	-.360	.057
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert		.059	.071	.782
	N	26	26	26	26
Gewicht	Korrelation nach Pearson	-.375	1	.837	-.069
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.059		.000	.736
	N	26	26	26	26
Länge	Korrelation nach Pearson	-.360	.837	1	-.020
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.071	.000		.922
	N	26	26	26	26
Gesamtzeit bis vollständig wach	Korrelation nach Pearson	.057	-.069	-.020	1
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.782	.736	.922	
	N	26	26	26	26

Fischart = Forellen, Narkosemittel = HM, N = Anzahl Fische

#### 4.2.1.2.5.2. MS: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge

Auch bei den MS 222-Narkosen gab es keinen Zusammenhang der Anflutungszeit oder der Aufwachzeit mit der Länge und dem Gewicht der Tiere. Zwischen Einleitungszeit und Dauer der Aufwachphase an sich bestand ebenfalls keine Korrelation, dies gilt wiederum nur für Länge und Gewicht der Forellen.

Tabelle 27: Korrelationen MS 222, Regenbogenforellen

		Anflutungszeit	Gewicht	Länge	Gesamtzeit bis vollständig wach
Anflutungszeit	Korrelation nach Pearson	1	.135	.225	.222
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert		.510	.270	.276
	N	26	26	26	26
Gewicht	Korrelation nach Pearson	.135	1	.868	-.311
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.510		.000	.122
	N	26	26	26	26
Länge	Korrelation nach Pearson	.225	.868	1	-.247
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.270	.000		.224
	N	26	26	26	26
Gesamtzeit bis vollständig wach	Korrelation nach Pearson	.222	-.311	-.247	1
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.276	.122	.224	
	N	26	26	26	26

Fischart = Forellen, Narkosemittel = MS; N = Anzahl Fische

#### 4.2.1.2.5.3. Einfluss der Tageszeit

Weder bei MS 222 noch bei der HM waren Einflüsse der Tageszeit auf die Dauer der Anflutungs- und Aufwachphase bei Regenbogenforellen festzustellen.

#### 4.2.1.2.6. Farbveränderungen

Bei den Forellen wurden keine augenfälligen Veränderungen bemerkt.

#### 4.2.1.2.7. weitere Beobachtungen

Innerhalb der Anflutungsphase trat bei 6 Forellen unter HM im ersten Versuchsteil Vomitus auf. Insgesamt zeigte ein einziger Fisch Kotabsatz bei einer HM - Narkose. Unter MS 222 war weder Vomitus noch Kotabsatz zu beobachten.

Nach der Narkose mit 0,6ml HM /l Wasser zeigten 12 der 26 Forellen in den 120 Sekunden außerhalb des Wassers gar keine Atembewegungen bzw. bewegten nur das Maul, aber nicht die Kiemendeckel, was nicht als Atembewegung beurteilt wurde. Die 14 anderen Tiere zeigten tiefe und gleichmäßige Kiemendeckel- und Maulbewegungen mit einer Frequenz von 1 bis 10 pro Minute bei durchschnittlich 2,5 (s = 2,28) pro Minute. Im Aufwachbecken setzte bei einem Tier die Atmung nach 20 Sekunden, bei einem weiteren nach 40 und bei zwei anderen nach 30 Sekunden ein. Alle anderen begannen sofort regelmäßig und gleichmäßig zu atmen. (Durchschnittliche Atemfrequenz Anflutung HM:  $62,8 \pm 11,8$  pro Minute)

11 von 26 Tieren zeigten in dieser Phase nach 70mg MS 222 /l Wasser nur leichte Maulbewegungen, alle anderen atmeten mit Frequenzen von 40 bis 100 etwa 56,5 mal pro Minute (s = 15,2). Bei allen 26 Forellen setzte danach die Atmung im Aufwachbecken augenblicklich wieder ein.

(Durchschnittliche Atemfrequenz Anflutung MS 222:  $66,6 \pm 9,6$  pro Minute)

#### 4.2.1.3. Kaiserbuntbarsch

Die zwei Gruppen von Kaiserbuntbarschen bestanden zusammen aus 28 Tieren mit einem Gewicht von durchschnittlich  $14,30 \pm 4,77$ g und einer Länge von 9 bis 12,5cm (Mittelwert  $10,33 \pm 1,09$ cm). Die Wassertemperatur betrug zwischen 24 und 24,5°C (im Mittel  $24,49 \pm 0,07$ °C).

Anmerkung: ursprünglich sollten alle drei Fischarten mit der Standarddosierung von 70mg MS 222/l verglichen werden. Da aber die ersten beiden Kaiserbuntbarsche, die in ein Narkosebad dieser Konzentration verbracht wurden, innerhalb von 30 Minuten keine Anzeichen einer ausreichenden Narkosetiefe zeigten, musste diese Dosierung verändert werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass nicht einmal für das „Standardnarkotikum“ MS 222 bei der großen Anzahl an Spezies für jede Fischart eine empfehlenswerte Dosis existiert und diese für jeden Fisch neu eruiert werden muss.

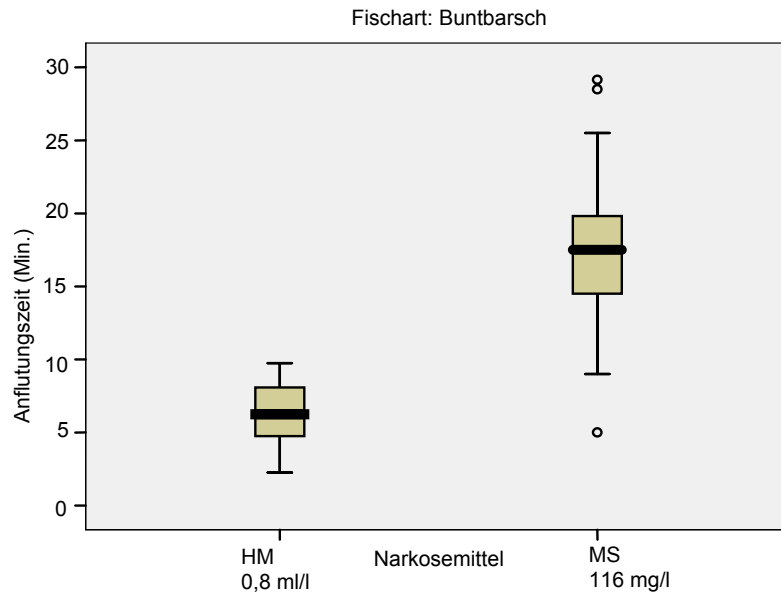
Beim ersten dieser zwei Tiere handelte es sich um ein Weibchen von 18g Gewicht und 11,5cm Länge, bei dem nach 8 Minuten ein Wirkungseintritt beobachtet wurde. Es verlor aber bis zuletzt seine Schwimmfähigkeit nicht, trotz Gleichgewichtsstörung. Nach 30 Minuten zeigte das Tier zwar bei der Entnahme aus dem Narkosebad keine Abwehr, zappelte dann jedoch während der Zeit außerhalb des Beckens und war im Aufwachbecken sofort wieder völlig wach. Entsprechende Beobachtungen konnten bei dem zweiten Fisch gemacht werden, der mit 70mg MS 222/l betäubt werden sollte. Dieses männliche Tier wog 12g bei 9cm Länge und zeigte das gleiche Verhalten wie das Weibchen zuvor. Die Dosis bei den Hauptversuchen wurde deshalb nach den in Kapitel 5.1.2. dargestellten Überlegungen auf 116 mg/l festgelegt. Eine Dosisfindung für MS 222 sollte nicht Bestandteil dieser Arbeit sein.

##### 4.2.1.3.1. Anflutungszeit

Die Einleitungsphase mit 0,8ml HM pro Liter Wasser dauerte bei den 28 Tieren von 2 bis 10 Minuten mit einem Mittelwert von 6,18 Minuten und einer Standardabweichung von 2,23.

Bei 116mg MS 222 pro Liter Wasser dauerte die Anflutung von 5 bis 29 Minuten mit durchschnittlich  $17,20 \pm 5,41$  Minuten etwa 11,02 Minuten (Differenz der Mittelwerte) und damit signifikant länger als bei HM (p-Wert 0,000).

Graphik 26: Zusammenhang Narkosemittel und Anflutungszeit, Kaiserbuntbarsche



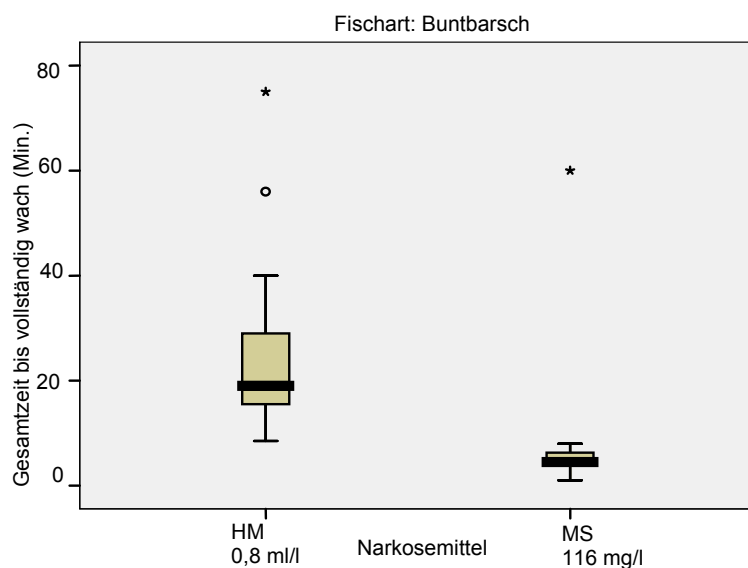
#### 4.2.1.3.2. Aufwachzeit

Unter HM benötigten die Fische zum Aufwachen von 9 bis 75 Minuten (Mittelwert 24,20 Minuten;  $s = 14,23$ ).

Bei MS 222 waren die Tiere zwischen einer und 60 Minuten vollständig wach, im Durchschnitt nach 6,75 Minuten ( $s = 10,56$ ). Die Größe der Standardabweichung ließe auf eine große Variabilität der Aufwachzeit schließen, tatsächlich benötigte aber nur ein Fisch 60 Minuten Aufwachzeit. Lässt man diesen Wert unberücksichtigt, dauerte diese Phase bei den übrigen 27 Tieren von 1 bis 8 Minuten durchschnittlich  $4,69 \pm 1,64$  Minuten.

Die Dauer der Aufwachzeiten bei HM und MS 222 unterschied sich mit 17,45 Minuten (Differenz der Mittelwerte) signifikant ( $p$ -Wert 0,000).

Graphik 27: Zusammenhang Narkosemittel und Aufwachzeit, Kaiserbuntbarsche



4.2.1.3.3. OP-Toleranz

Auch mit dem 1,66-fachen der üblichen Standarddosis von 70 mg/l, also 116 mg/l, ließ sich bei keinem der 28 Barsche (0%) eine ausreichende Narkosetiefe erreichen (Mittelwert  $1,5 \pm 0,51$ ).

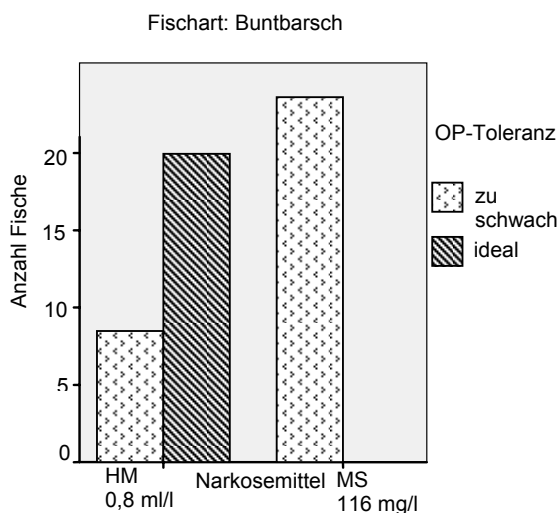
Bei den HM - Narkosen erlangten 20 von 28 Tieren (71,43%) eine OP-Toleranz von mindestens 3 und damit „ausreichend“ (Mittelwert  $3,0 \pm 0,77$ ). Zu tiefe Stadien traten nicht auf.

Der Unterschied zwischen HM und MS 222 bezüglich der OP-Toleranz war in diesem Fall signifikant.

Tabelle 28: OP-Toleranz und Narkosemittel, Kaiserbuntbarsch

			OP-Toleranz		Gesamt
			zu schwach	ideal	
Narkosemittel	HM	Anzahl	8	20	28
	MS	Anzahl	28	0	28
Gesamt		Anzahl	36	20	56

Graphik 28: OP-Toleranz und Narkosemittel, Kaiserbuntbarsche



4.2.1.3.4. Auftreten von Exzitationen

Nach der HM traten bei einem einzigen Tier in der Anflutungszeit Exzitationen auf (3,57%), die Aufwachphase verlief bei allen Tieren völlig ruhig (0% Exzitationen).

Mit MS 222 erlebten 3 Tiere sowohl in der Einleitungs- als auch in der Aufwachphase Unruhezustände (jeweils 10,71%).

Diese Unterschiede waren nicht von statistischer Signifikanz (p-Werte 0,611 und 0,236).

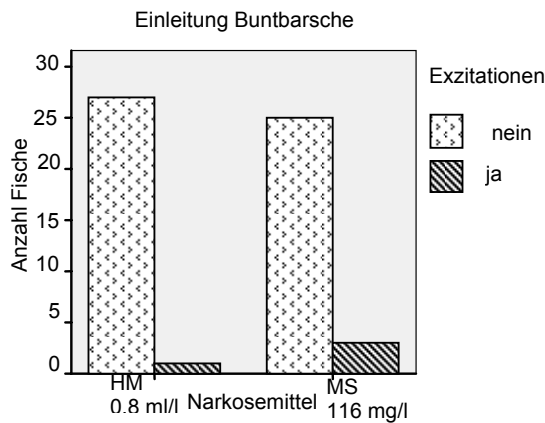
Tabelle 29: Exzitationen Einleitungsphase und Narkosemittel, Kaiserbuntbarsche

		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Narkosemittel	HM	27	1	28
	MS	25	3	28
Gesamt		52	4	56

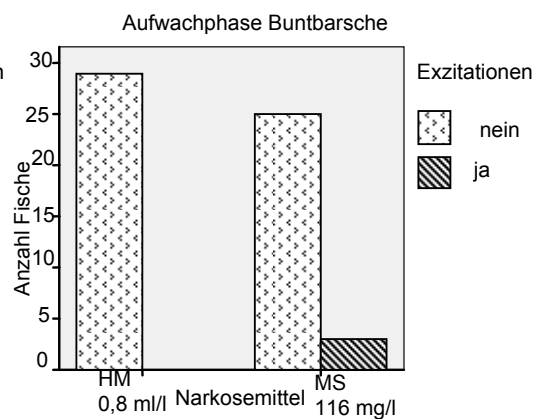
Tabelle 30: Exzitationen Aufwachphase und Narkosemittel, Kaiserbuntbarsche

		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Narkosemittel	HM	28	0	28
	MS	25	3	28
Gesamt		53	3	56

Graphik 29: Häufigkeit Exzitationen Einleitungsphase und Narkosemittel, Kaiserbuntbarsche



Graphik 30: Häufigkeit Exzitationen Aufwachphase und Narkosemittel, Kaiserbuntbarsche



#### 4.2.1.3.5. Korrelationen

##### 4.2.1.3.5.1.HM: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge

Bei den Buntbarschen bestand ein negativer Zusammenhang zwischen der Anflutungszeit und dem Gewicht der Fische (p-Wert 0,043). Bei der Aufwachzeit galt dies außerdem für die Länge. Auch zwischen Anflutungszeit und Aufwachzeit bestand eine Korrelation positiver Natur unter der HM. Je länger und je schwerer ein Kaiserbuntbarsch war, desto kürzer schien die Aufwachphase zu sein bei einer Narkose mit HM. Bei der Anflutung galt dies nur bezüglich des Gewichtes. Tiere mit längerer Anflutungszeit benötigen auch mehr Zeit zum Aufwachen aus der Narkose.

Tabelle 31: Korrelationen HM, Kaiserbuntbarsche

		Anflutungszeit	Gewicht	Länge	Gesamtzeit bis vollständig wach
Anflutungszeit	Korrelation nach Pearson	1	-.386	-.354	.408
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert		.043	.065	.031
	N	28	28	28	28
Gewicht	Korrelation nach Pearson	-.386	1	.947	-.438
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.043		.000	.020
	N	28	28	28	28
Länge	Korrelation nach Pearson	-.354	.947	1	-.470
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.065	.000		.012
	N	28	28	28	28
Gesamtzeit bis vollständig wach	Korrelation nach Pearson	.408	-.438	-.470	1
	Signifikanz (2-seitig) / p-Wert	.031	.020	.012	
	N	28	28	28	28

Fischart = Buntbarsch, Narkosemittel = HM; N = Anzahl Fische

4.2.1.3.5.2.MS 222: Anflutungszeit / Aufwachzeit mit Gewicht / Länge

Aus der folgenden Tabelle wird ersichtlich, dass bei den Narkosen mit MS 222 keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Anflutungs- und Aufwachzeit mit Länge und Gewicht feststellbar waren. Zwischen Anflutungszeit und Aufwachzeit bestand jedoch eine positive Korrelation (p-Wert 0,006).

Tabelle 32: Korrelationen MS 222, Kaiserbuntbarsche

		Anflutungszeit	Gewicht	Länge	Gesamtzeit bis vollständig wach
Anflutungszeit	Korrelation nach Pearson	1	.046	-.078	.290
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert		.817	.692	.006
	N	28	28	28	28
Gewicht	Korrelation nach Pearson	.046	1	.922	-.168
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.817		.000	.393
	N	28	28	28	28
Länge	Korrelation nach Pearson	-.078	.922	1	-.162
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.692	.000		.411
	N	28	28	28	28
Gesamtzeit bis vollständig wach	Korrelation nach Pearson	.290	-.168	-.162	1
	Signifikanz (2-seitig) /p-Wert	.006	.393	.411	
	N	28	28	28	28

Fischart = Buntbarsch, Narkosemittel = MS; N = Anzahl Fische

4.2.1.3.5.3. Einfluss der Tageszeit

Bei den Kaiserbuntbarschen ließ sich unter der HM und unter MS 222 weder bei der Dauer der Anflutungszeit noch bei der der Aufwachzeit ein Zusammenhang mit der Tageszeit erkennen.

4.2.1.3.5.4. HM: Anflutungszeit und Aufwachzeit mit Geschlecht

Da bei den Kaiserbuntbarschen eine phänotypische Geschlechtsbestimmung möglich war, wurden diese Tiere auf Einflüsse des Geschlechts auf die Narkose hin untersucht. Insgesamt wurden 18 weibliche und 9 männliche Tiere betäubt.

Mit der HM dauerte die Einleitungsphase bei den Männchen durchschnittlich  $5,41 \pm 2,43$  Minuten, bei den Weibchen  $6,65 \pm 2,11$  Minuten.

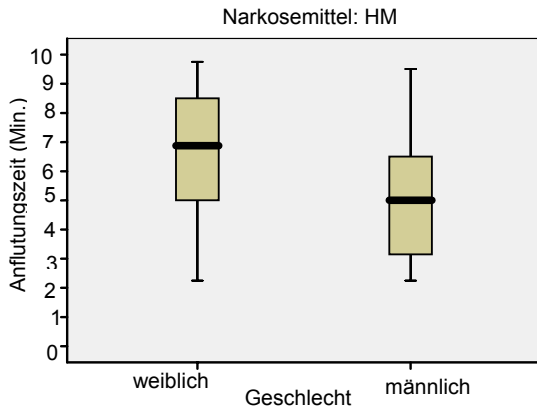
Für die Aufwachphase benötigten die männlichen Tiere im Mittel  $22,0 \pm 9,19$  Minuten, die weiblichen Fische brauchten 26,0 Minuten ( $s = 16,32$ ).

Diese Unterschiede waren statistisch nicht signifikant.

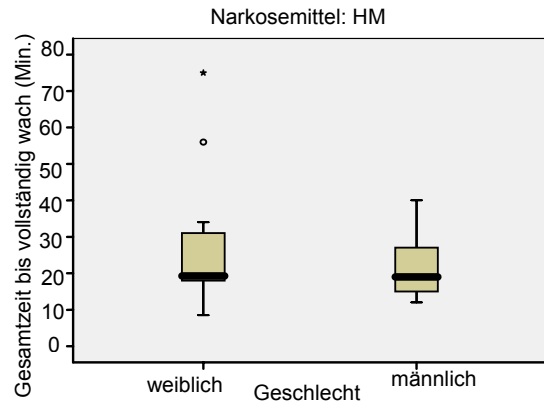
Tabelle 33: Korrelationen Geschlecht HM; Kaiserbuntbarsche

	Geschlecht	N (Anzahl Fische)	Mittelwert
Anflutungszeit (Min.)	weiblich	18	6.65
	männlich	9	5.41
Gesamtzeit bis vollständig wach (Min.)	weiblich	18	26.00
	männlich	9	22.00

Graphik 31: Zusammenhang Geschlecht und Anflutungszeit HM, Kaiserbuntbarsche



Graphik 32: Zusammenhang Geschlecht und Aufwachzeit HM, Kaiserbuntbarsche



4.2.1.3.5.5. MS 222: Anflutungszeit und Aufwachzeit mit Geschlecht

Die Einleitungsphase dauerte unter MS 222 bei den männlichen Fischen im Schnitt  $17,18 \pm 7,15$  Minuten, bei den Weibchen  $17,33 \pm 4,71$  Minuten.

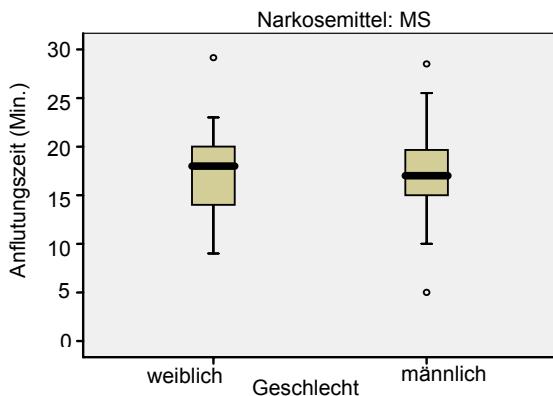
Zum Aufwachen nach MS 222 benötigten männliche Tiere etwa  $4,61 \pm 1,87$  Minuten, bei den weiblichen Tieren dauerte es  $7,94$  Minuten ( $s = 13,09$ ) bis zum Aufwachen.

Für diese Unterschiede bestand keine statistische Signifikanz.

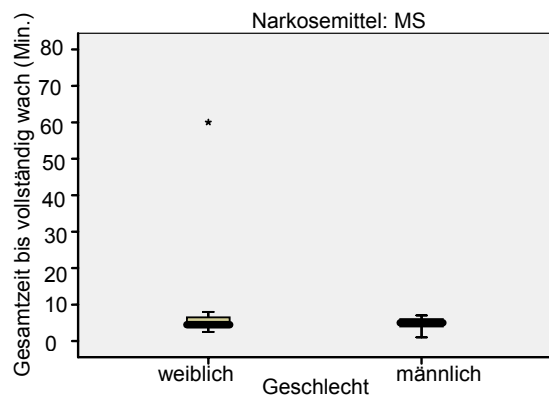
Tabelle 34: Korrelationen Geschlecht MS 222, Kaiserbuntbarsche

	Geschlecht	N (Anzahl Fische)	Mittelwert
Anflutungszeit (Min.)	weiblich	18	17.33
	männlich	9	17.18
Gesamtzeit bis vollständig wach (Min.)	weiblich	18	7.94
	männlich	9	4.61

Graphik 33: Zusammenhang Geschlecht und Anflutungszeit MS 222, Kaiserbuntbarsche



Graphik 34: Zusammenhang Geschlecht und Aufwachzeit MS 222, Kaiserbuntbarsche



Auch zwischen der Reaktion der Geschlechter auf die Narkose mit HM oder MS 222 bestand kein Zusammenhang.



#### 4.2.1.3.6. Farbveränderungen

Die in schwarz gestrichenen Betonbecken gehaltenen Kaiserbuntbarsche änderten ihre Farbe unterschiedlich je nach verwendetem Narkosemittel (Abbildungen 9-16, S.85).

Die Narkose- und Aufwachbecken waren aus Glas, standen auf weißem Untergrund und der Hintergrund war blau, um die Tiere optimal beobachten zu können.

Bei der HM waren die Tiere beim Einbringen ins Narkosebecken sehr dunkel und ihre Körperfärbung hellte sich im Verlauf der Narkose auf. Dunkle Streifen und Flecken verloren sich, einige weibliche Tiere wirkten im Aufwachbecken dann fast weiß oder silbrig. Bei MS 222 wurden die Fische augenblicklich mit dem Verbringen in die Narkoselösung sehr hell und wurden im Gegensatz zu der HM immer dunkler mit längerem Aufenthalt im Narkosebad. Hellere Stellen zwischen dunkelblauen und schwarzgrauen Streifen und Flecken glichen sich in der Tönung den Flecken und Streifen an.

Alle narkotisierten Fische, unabhängig vom verwendeten Pharmakon, fielen jedoch nach dem Zurücksetzen in die Hälterungsbecken gegenüber den sich schon länger in diesen Becken aufhaltenden Artgenossen durch eine hellere Färbung auf, die sich jedoch am Ende eines Versuchstages immer wieder angeglichen hatte.

#### 4.2.1.3.7. weitere Beobachtungen

Fünf der 28 Kaiserbuntbarsche setzten in der Einleitungsphase bei 0,8ml HM/l Kot ab, bei einem Tier war dies unter der Einwirkung von 116mg MS 222/l der Fall. Vomitus trat bei keiner der Narkosen bei den Buntbarschen auf.

Die Atmung der Buntbarsche in den 120 Sekunden außerhalb des Narkosebeckens nach der Narkose mit 0,8ml HM /l Wasser war, sofern vorhanden, kräftig und tief. Bei sieben Fischen waren gar keine Atembewegungen zu erkennen, bei einigen anderen Tieren setzte die Atmung zwischendurch aus. Die durchschnittliche Atemfrequenz der 21 atmenden Tiere betrug von 4 bis 60 pro Minute etwa 27,9 (s = 21,72). Im Aufwachbecken begannen ausnahmslos alle Tiere sofort wieder regelmäßig zu atmen mit einer Frequenz von 20 bis 40 pro Minute. (Durchschnittliche Atemfrequenz Anflutung HM: 85,7 pro Minute; s = 21,2)

Nach der Narkose mit 116mg MS 222 /l Wasser atmeten 2 Tiere nicht, die anderen 26 zeigten eine sehr flache und schnelle Atemfrequenz von im Mittel 99,7 (s = 23,46) pro Minute (insgesamt von 60 bis 160 pro Minute). Auch diese Tiere atmeten im Aufwachbecken alle sofort normal weiter, auch diejenigen mit Atempausen. (Durchschnittliche Atemfrequenz Anflutung MS 222: 95,2 pro Minute; s = 15,6)



Abbildung 9: Kaiserbuntbarsch  
3 Min. in 0,8ml HM /l ♂



Abbildung 10: Kaiserbuntbarsch  
9 Min. in 0,8ml HM /l ♂



Abbildung 11: Kaiserbuntbarsch  
2 Min. in 0,8ml HM /l ♀



Abbildung 12: Kaiserbuntbarsch  
5 Min. in 0,8ml HM /l ♀



Abbildung 13: Kaiserbuntbarsch  
1 Min. in 116mg MS 222 /l ♂



Abbildung 14: Kaiserbuntbarsch  
11 Min. in 116mg MS 222 /l ♂



Abbildung 15: Kaiserbuntbarsch  
2 Min. in 116mg MS 222 /l ♀



Abbildung 16: Kaiserbuntbarsch  
11 Min. in 116mg MS 222 /l ♀

#### 4.2.2. Vergleich Fischarten

Um einen möglichst großen Stichprobenumfang zu erreichen, wurden Daten von Narkosen aus den Vorversuchen mit einbezogen. Dadurch ergeben sich unterschiedliche Fischzahlen, die Ergebnisse sind jedoch zuverlässiger.

#### 4.2.2.1. Hellabrunner Mischung

##### 4.2.2.1.1. 0,6 ml/l

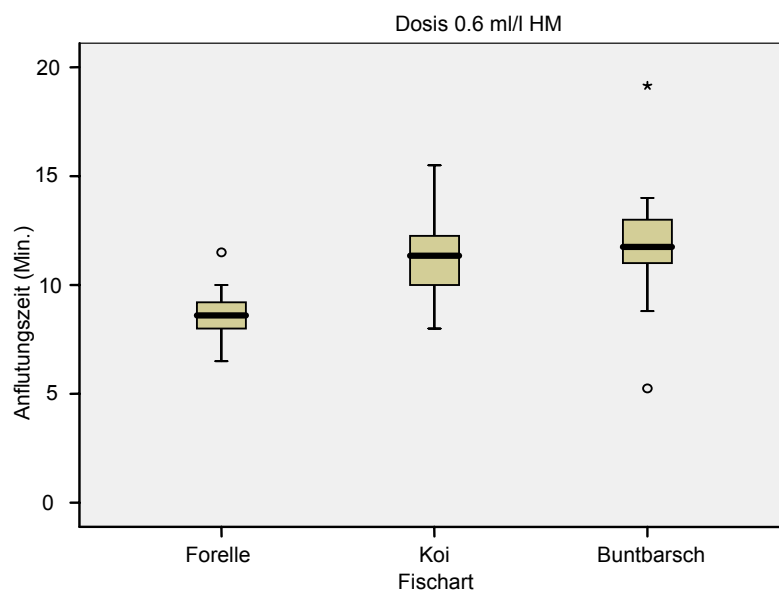
Bei der Dosis 0,6ml HM/l wurden die Daten von je 10 Kaiserbuntbarschen und Koikarpfen denen von 36 Regenbogenforellen gegenübergestellt.

##### 4.2.2.1.1.1. Anflutungszeit

Der Unterschied in der Anflutungszeit mit 0,6ml HM/l zwischen den Regenbogenforellen und den beiden anderen Fischarten war signifikant. Die Koikarpfen und die Kaiserbuntbarsche unterschieden sich jedoch kaum. Der nonparametrische Kruskal - Wallis Test beschrieb den Unterschied zwischen den Fischarten ohne Differenzierung mit  $p=0,000$ . Verglichen mit den Boxplots kann aber hier der parametrische Test als zuverlässig angesehen werden, der die Signifikanz beim Unterschied zwischen den Forellen und den anderen beiden Fischarten lokalisierte, während der Unterschied von Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen keine Signifikanz aufwies.

Die mittlere Anflutungszeit für die Fischarten betrug bei den 10 Koikarpfen 11,27, bei den 36 Regenbogenforellen 8,66 und bei den 10 Kaiserbuntbarschen 11,85 Minuten.

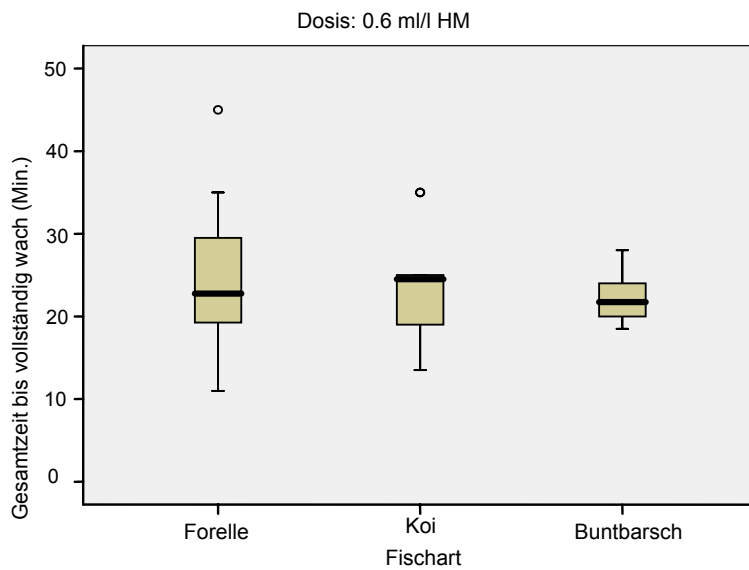
Graphik 35: Anflutungszeit Vergleich Fischarten, 0,6ml HM/l



##### 4.2.2.1.1.2. Aufwachzeit

Bezüglich der Aufwachzeit nach 0,6ml HM/l bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Fischarten, sowohl bei parametrischer als auch nonparametrischer Testung. Im Mittel dauerte die Aufwachphase bei den 10 Koikarpfen 24,15 Minuten, bei den 36 Regenbogenforellen 24,08 und bei den 10 Kaiserbuntbarschen 22,3 Minuten.

Graphik 36: Aufwachzeit Vergleich Fischarten, 0,6ml HM/l



#### 4.2.2.1.1.3. OP-Toleranz

Die Unterschiede bei der erreichten OP - Toleranz waren nicht signifikant.

Tabelle 35: OP-Toleranz Vergleich Fischarten, 0,6ml HM/l

		OP-Toleranz (Anzahl Fische)		Gesamt
		zu schwach	ideal	
Fischart	Forellen	16	20	36
	Koi	4	6	10
	Buntbarsch	9	1	10
Gesamt		29	27	56

#### 4.2.2.1.1.4. Exzitationen

Die Häufigkeit des Auftretens von Exzitationen unterschied sich sowohl in der Einleitungs- als auch in der Aufwachphase signifikant.

Tabelle 36: Exzitationen Einleitungsphase Vergleich Fischarten, 0,6ml HM/l

		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Forellen	2	34	36
	Koi	2	7	9
	Buntbarsch	9	1	10
Gesamt		13	42	55

Tabelle 37: Exzitationen Aufwachphase Vergleich Fischarten, 0,6ml HM/l

		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Forellen	12	24	36
	Koi	8	2	10
	Buntbarsch	9	1	10
Gesamt		29	27	56

4.2.2.1.2. 0,8 ml/l

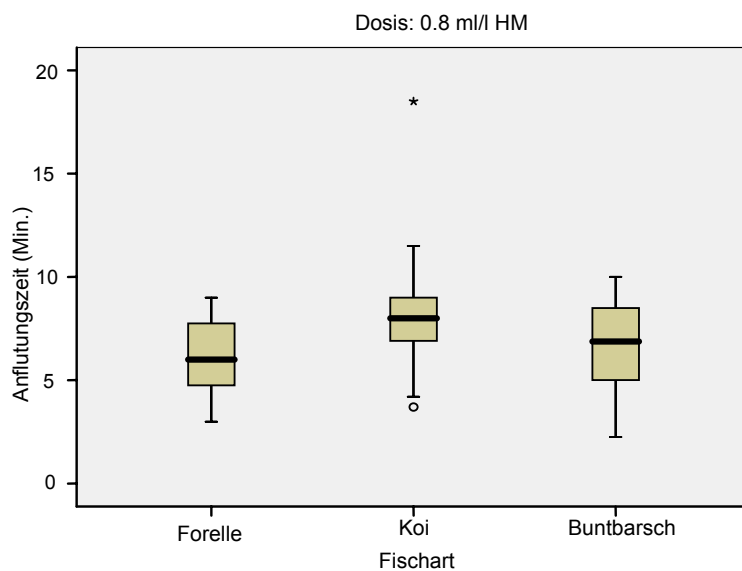
Verglichen wurden die Ergebnisse von 37 Koikarpfen-, 38 Kaiserbuntbarsch- und 11 Regenbogenforellennarkosen (bzw. 10 Regenbogenforellen bezüglich Aufwachzeit).

4.2.2.1.2.1. Anflutungszeit

Der nonparametrische Kruskal - Wallis Test berechnete eine Signifikanz von 0,041 für die Unterschiede in der Anflutungszeit bei 0,8ml HM /l Wasser zwischen den drei Fischarten. (Beim parametrischen Test, der hier von den Ausreißern verzerrt wird, erscheinen die Unterschiede nicht signifikant, wobei der p-Wert von 0,050 beim Vergleich der Koikarpfen mit den Kaiserbuntbarschen genau an der Grenze liegt (Es gilt: Signifikanz liegt vor bei  $p < 0,05$ .)

Durchschnittlich dauerte die Anflutungszeit mit 0,8ml HM /l Wasser bei den 37 Koikarpfen 7,99, bei den 11 Regenbogenforellen 6,14 und bei den 38 Kaiserbuntbarschen 6,71 Minuten.

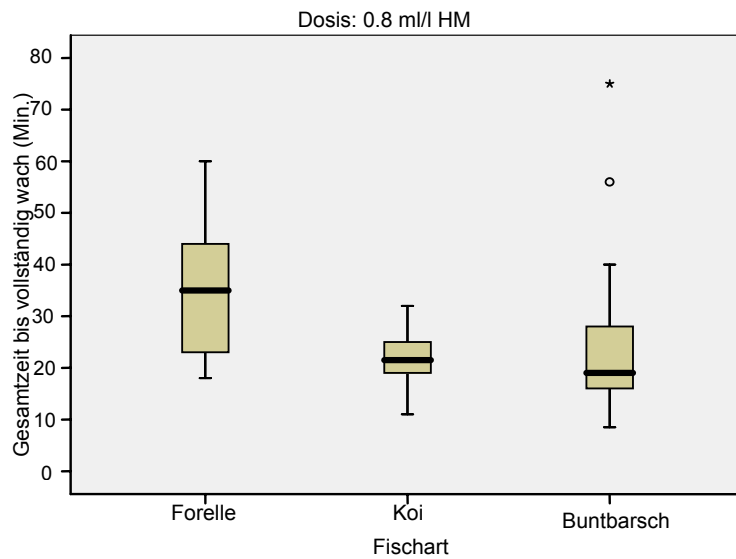
Graphik 37: Anflutungszeit Vergleich Fischarten, 0,8ml HM/l



4.2.2.1.2.2. Aufwachzeit

Die Unterschiede in der Aufwachzeit mit 0,8ml HM/l bei den verschiedenen Fischarten waren signifikant (Kruskal - Wallis  $p=0,005$ ; parametrischer Test: Unterschied zwischen Koikarpfen und Kaiserbuntbarsch nicht signifikant). Diese Zeit betrug bei 37 Koikarpfen 21,78, bei 10 Regenbogenforellen 36,10 und bei 38 Kaiserbuntbarschen 23,04 Minuten.

Graphik 38: Aufwachzeit Vergleich Fischarten, 0,8ml HM/l



#### 4.2.2.1.2.3. OP-Toleranz

Die erreichte Narkosetiefe unterschied sich zwischen den Fischarten nicht signifikant.

Tabelle 38: OP-Toleranz Vergleich Fischarten, 0,8ml HM/l

		OP-Toleranz (Anzahl Fische)		Gesamt
		zu schwach	ideal	
Fischart	Forellen	6	5	11
	Koi	9	28	37
	Buntbarsch	12	26	38
Gesamt		27	59	86

#### 4.2.2.1.2.4. Exzitationen

Die Häufigkeit des Auftretens von Exzitationen zeigte in der Einleitungs- und Aufwachphase signifikante Unterschiede zwischen den drei Fischarten.

Bei den Regenbogenforellen traten sowohl in der Anflutungs- als auch in der Aufwachzeit überwiegend Erregungszustände auf, bei den anderen beiden Fischarten kamen in der Einleitungs- und Aufwachphase meist keine Exzitationen vor. Bei den Koikarpfen war dieser Unterschied allerdings nur sehr gering in der Anflutungsphase.

Tabelle 39: Exzitationen Einleitungsphase Vergleich Fischarten, 0,8ml HM/l

		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Forellen	1	10	11
	Koi	20	17	37
	Buntbarsch	35	3	38
Gesamt		56	30	86

Tabelle 40: Exzitationen Aufwachphase Vergleich Fischarten, 0,8ml HM/l

		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Forellen	4	7	11
	Koi	32	5	37
	Buntbarsch	38	0	38
Gesamt		74	12	86

4.2.2.1.3. 1,0 ml/l

Bei dieser Dosis wurden 10 Koikarpfen und 10 Kaiserbuntbarsche verglichen. Bei den Regenbogenforellen wurde diese Dosis nicht eingesetzt.

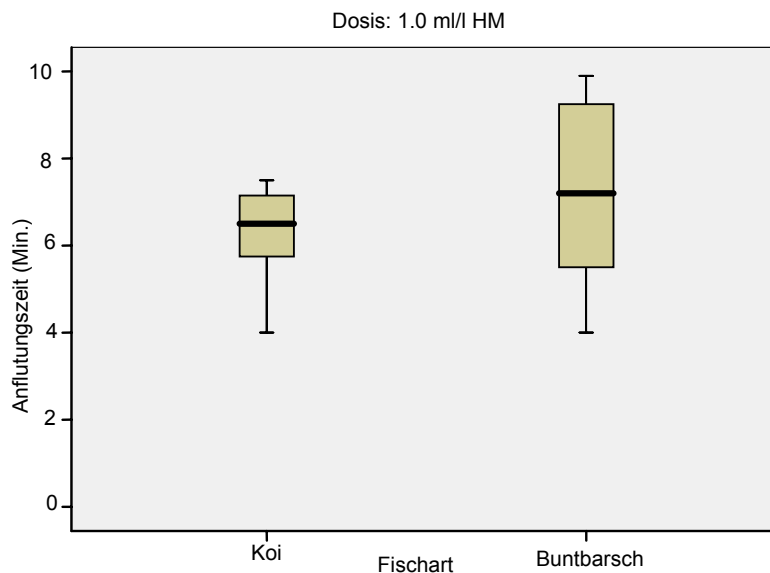
4.2.2.1.3.1. Anflutungszeit

Die Anflutungszeit unterschied sich nicht signifikant bei Koikarpfen und Buntbarschen mit 1,0ml HM /l Wasser.

Tabelle 41: Anflutungszeit Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l

	Fischart	N (Anzahl Fische)	Mittelwert	Standardabweichung
Anflutungszeit (Min.)	Koi	10	6.32	1.157
	Buntbarsch	10	7.35	2.146

Graphik 39: Anflutungszeit Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l



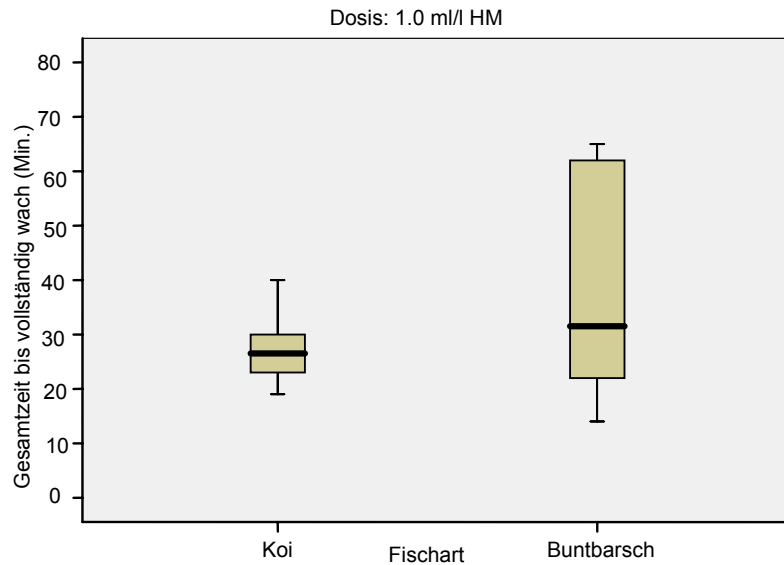
4.2.2.1.3.2. Aufwachzeit

Auch die Unterschiede in der Aufwachzeit zwischen Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen besaßen keine statistische Signifikanz bei der Dosis 1,0ml HM /l Wasser.

Tabelle 42: Aufwachzeit Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l

	Fischart	N (Anzahl Fische)	Mittelwert	Standardabweichung
Gesamtzeit bis vollständig wach (Min.)	Koi	10	27.50	6.241
	Buntbarsch	10	37.90	19.145

Graphik 40: Aufwachzeit Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l



#### 4.2.2.1.3.3. OP-Toleranz

Die erreichte Narkosetiefe war bei beiden Fischarten überwiegend ideal.

Tabelle 43: OP-Toleranz Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l

		OP-Toleranz (Anzahl Fische)		Gesamt
		zu schwach	ideal	
Fischart	Koi	2	8	10
	Buntbarsch	1	9	10
Gesamt		3	17	20

#### 4.2.2.1.3.4. Exzitationen

In der Anflutungsphase traten bei den Koikarpfen bei fast allen Narkosen mit 1,0ml HM/l Exzitationen auf, bei den Kaiserbuntbarschen hingegen fast nie, weshalb die Unterschiede signifikant waren.

Tabelle 44: Exzitationen Einleitungsphase Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l

		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Koi	1	9	10
	Buntbarsch	9	1	10
Gesamt		10	10	20

In der Aufwachphase erlitten bei beiden Arten die meisten Tiere keine Erregungszustände.

Tabelle 45: Exzitationen Aufwachphase Vergleich Fischarten, 1,0ml HM/l

		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Koi	10	0	10
	Buntbarsch	7	3	10
Gesamt		17	3	20



4.2.2.2.MS 222 70 mg/l

Bei MS 222 gibt es nur eine Dosierung, die in dieser Arbeit bei mehreren Fischarten eingesetzt wurde, nämlich 70 mg/l bei 27 Koikarpfen- und 26 Regenbogenforellennarkosen.

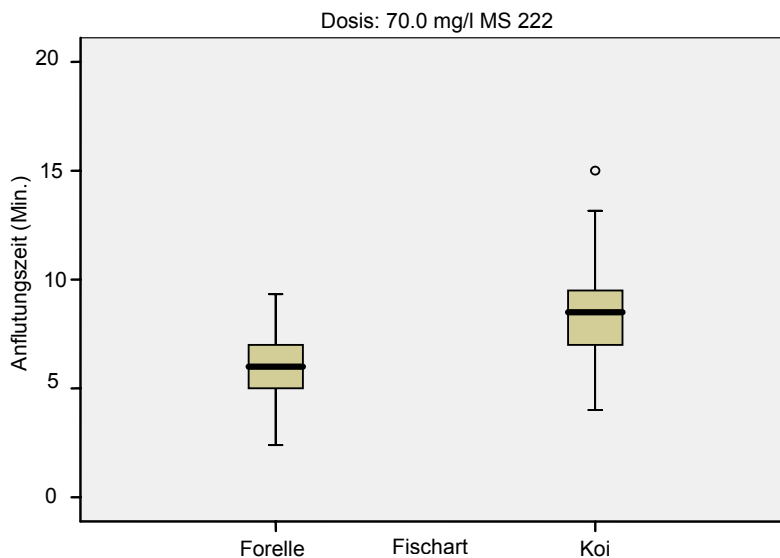
4.2.2.2.1. Anflutungszeit

Die Anflutungszeit mit 70mg MS 222 /l Wasser unterschied sich signifikant bei Regenbogenforelle und Koikarpfen (p - Wert 0,000).

Tabelle 46: Anflutungszeit Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l

	Fischart	N (Anzahl Fische)	Mittelwert	Standardabweichung
Anflutungszeit (Min.)	Forellen	26	5.98	1.460
	Koi	27	8.38	2.460

Graphik 41: Anflutungszeit Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l



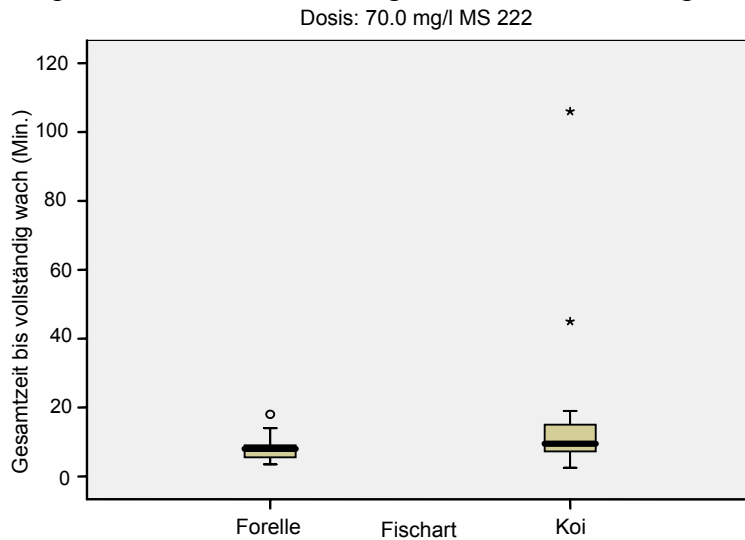
4.2.2.2.2. Aufwachzeit

Auch die Aufwachzeit bei beiden Fischarten unterschied sich deutlich (p - Wert 0,042).

Tabelle 47: Aufwachzeit Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l

	Fischart	N (Anzahl Fische)	Mittelwert	Standardabweichung
Gesamtzeit bis vollständig wach (Min.)	Forellen	26	8.05	3.141
	Koi	27	14.65	19.878

Graphik 42: Aufwachzeit Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l



#### 4.2.2.2.3. OP-Toleranz

Die Unterschiede bezüglich der OP-Toleranz waren nicht als signifikant zu bezeichnen.

Tabelle 48: OP-Toleranz Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l

		OP-Toleranz (Anzahl Fische)		Gesamt
		zu schwach	ideal	
Fischart	Forellen	10	16	26
	Koi	14	13	27
Gesamt		24	29	53

#### 4.2.2.2.4. Exzitationen

Die Unterschiede in der Häufigkeit von Exzitationen zwischen den Koikarpfen und Regenbogenforellen mit 70mg MS 222 /l Wasser waren sowohl in der Anflutungs- als auch in der Aufwachzeit signifikant. Während sich bei den Koikarpfen in beiden Phasen die Anzahl der Tiere, die Exzitationen erlitten, kaum von der der Tiere ohne Erregungszustände unterschied, gab es bei den Forellen deutliche Differenzen. Letztere erlebten während der Anflutung fast alle Exzitationen, in der Aufwachphase dagegen nur 1 Fisch.

Tabelle 49: Exzitationen Einleitungsphase Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l

		Exzitationen in der Einleitungsphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Forellen	3	23	26
	Koi	14	13	27
Gesamt		17	36	53

Tabelle 50: Exzitationen Aufwachphase Vergleich Fischarten, 70mg MS 222/l

		Exzitationen in der Aufwachphase (Anzahl Fische)		Gesamt
		nein	ja	
Fischart	Forellen	25	1	26
	Koi	17	10	27
Gesamt		42	11	53

### 4.3. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

#### 4.3.1. Koikarpfen

Als optimale Dosis der HM im Narkosebad ergab sich für die Koikarpfen 0,8ml /l Wasser. Damit dauerte die Anflutungszeit durchschnittlich 8,48 (s = 2,44) Minuten, und nach etwa 20,78 (s = 4,43) Minuten waren die Tiere im Schnitt wach. Dabei erreichten 66,7% der Tiere (18 von 27 Tieren) eine ideale OP-Toleranz. In der Einleitungsphase erlitten 33,3 % der Tiere Exzitationen (9 von 27 Fischen), in der Aufwachphase war dies bei nur circa 11% (3 Tieren) der Fall.

Bei 70mg MS 222 /l Wasser dauerte die Einleitungsphase mit im Mittel 8,38 (s = 2,46) Minuten etwa genauso lang, wie bei 0,8ml HM /l Wasser. Die Aufwachphase war bei durchschnittlich 14,65 (s = 19,88) Minuten dagegen etwa 6 Minuten kürzer. Mit MS 222 wurde bei 48,15% der Fische (13 Tieren) eine ideale OP-Toleranz erreicht. Exzitationen traten während der Anflutung bei 44% der Tiere (12 von 27 Tieren) auf, in der Aufwachphase bei 37% (10 Tiere).

#### 4.3.2. Regenbogenforellen

Die Dosis 0,6ml HM /l Wasser war für die Forellen am besten geeignet. Die Einleitung dauerte damit im Schnitt 8,99 (s = 0,93) Minuten und die Aufwachphase 22,13 (s = 5,65) Minuten. 15 von 26 Fischen (57,7%) erreichten eine ideale OP-Toleranz. Bei 24 der 26 Tiere (92,3%) zeigte sich in der Anflutung exzitatives Verhalten, in der Aufwachphase bei 15 Tieren (57,7%).

Mit 70mg MS 222 /l Wasser dauerte die Anflutung durchschnittlich 5,98 (s = 1,46) Minuten, also etwa 3,01 Minuten weniger und war damit signifikant kürzer als mit der HM. Auch die Aufwachphase verlief mit etwa 8,05 (s = 3,14) Minuten signifikant schneller und zwar im Schnitt um 14,08 Minuten. Die mit MS 222 erreichte ideale OP-Toleranz bei 16 von 26 Fischen (61,5%) unterschied sich kaum von der der HM. In der Einleitungsphase erlitten 23 Forellen (88,5%) Exzitationen, in der Aufwachphase nur eine (3,85%).

#### 4.3.3. Kaiserbuntbarsche

Wie bei den Koikarpfen war 0,8ml HM /l Wasser die niedrigst-mögliche Dosis für die Kaiserbuntbarsche. Die Einleitung dauerte durchschnittlich 6,18 (s = 2,23) Minuten und die Aufwachzeit 24,2 (s = 14,23) Minuten. Dabei erreichten 20 von 28 Buntbarschen (71,4%) eine ideale Narkosetiefe. In der Anflutungsphase waren bei einem (3,75%) und in der Aufwachphase bei keinem Tier Exzitationen zu erkennen.

Mit 116mg MS 222 /l Wasser dauerte die Anflutung bis zur Reaktionslosigkeit im Mittel 17,2 (s = 5,41) Minuten und war damit signifikant länger als bei der HM. Der Unterschied zwischen den Aufwachzeiten bei beiden Narkosemitteln war ebenfalls signifikant. Bei MS 222 war diese Phase mit durchschnittlich 6,75 (s = 10,56) Minuten kürzer als bei der HM. Kein einziger Fisch erreichte mit 116mg MS 222 /l Wasser eine ideale Narkosetiefe. Jeweils drei Tiere (10,71%) erlitten in der Einleitungs- und Aufwachphase Exzitationen.

Bei den Narkosen mit 0,8ml HM /l Wasser wurden negative Korrelationen zwischen Gewicht und Länge einerseits und der Aufwachzeit andererseits festgestellt. Schwerere und längere Tiere wurden schneller wach. Zwischen dem Gewicht und der Anflutungszeit bestand der gleiche Zusammenhang. Die Anflutungs- und Aufwachzeit wiesen eine positive Korrelation auf.

Letzterer Zusammenhang ist auch der einzige, der bei den Narkosen mit 116mg MS 222 /l Wasser gefunden wurde.

#### 4.3.4. Vergleich Fischarten

Im Verlauf der Vor- und Hauptversuche wurden die Fischarten teilweise mit der gleichen Dosierung der beiden Narkosemittel untersucht, jedoch bei unterschiedlichen, der jeweiligen Lebensweise angepassten, Temperaturen.

Mit 0,6ml HM /l Wasser wurden insgesamt 36 Regenbogenforellen und je 10 Koikarpfen und Kaiserbuntbarsche untersucht. Die mittlere Anflutungszeit der Forellen von 8,66 Minuten unterschied sich signifikant von der der beiden anderen Arten, die 11,27 (Koi) und 11,85 (Barsche) Minuten dauerte. Die Aufwachzeiten zwischen 22 und 24 Minuten unterschieden sich nicht signifikant, ebenso wie die erreichte OP-Toleranz, die überwiegend zu schwach war. Sehr uneinheitlich war die Häufigkeit von Exzitationen bei dieser Dosis.

Bei 0,8ml HM /l Wasser konnten die Daten von 37 Koi, 11 Forellen und 38 Buntbarschen herangezogen werden. Dabei unterschieden sich die durchschnittlichen Anflutungszeiten von 7,99 (Koi), 6,14 (Forellen) und 6,71 (Buntbarsche) Minuten signifikant. Dies trifft auch auf die Aufwachzeiten von 21,78 (Koi), 36,1 (Forellen) und 23,04 (Buntbarsche) Minuten zu. Das Auftreten von Exzitationen unterschied sich ebenfalls signifikant zwischen den Arten, da die Forellen sowohl in der Einleitungs- als auch in der Aufwachphase zum überwiegenden Teil Erregungszustände erlitten, während bei den Koikarpfen und Buntbarschen das Gegenteil der Fall war.

Die Dosis 1,0ml HM /l Wasser kam bei 10 Koikarpfen und 10 Kaiserbuntbarschen zum Einsatz. Bezüglich der Anflutungszeit (6,32 bzw. 7,35 Minuten) und der Aufwachzeit (27,5 bzw. 37,9 Minuten) bestanden keine signifikanten Unterschiede. Die erreichte Narkosetiefe war bei beiden Arten meist ideal. In der Einleitungsphase traten bei 9 von 10 Koikarpfen Exzitationen auf und damit signifikant mehr als bei den Barschen, wo dies nur bei einem von 10 Tieren der Fall war. Die Aufwachphase verlief bei beiden Arten ruhig.

Auch die Dosis von 70mg MS 222 /l Wasser wurde bei zwei Arten verwendet, nämlich bei 27 Koikarpfen und 26 Regenbogenforellen. Die Einleitung verlief bei den Forellen mit einem Mittelwert von 5,98 Minuten signifikant schneller als bei den Koi mit 8,38 Minuten. Auch die Aufwachzeiten wichen deutlich voneinander ab mit durchschnittlich 8,05 Minuten bei den Forellen und 14,65 Minuten bei den Koi. Im Gegensatz zur erreichten OP-Toleranz unterschied sich die Häufigkeit der Exzitationen signifikant. In der Anflutungsphase kam es bei den Forellen 23mal und in der Aufwachphase nur einmal zu Exzitationen. Bei den Koikarpfen war dies in der Einleitung bei etwa der Hälfte der Tiere der Fall (13 von 27), in der Aufwachphase bei 10 von 17.

Die Reaktionen der Fische auf die beiden Narkosemittel zeigten überwiegend deutliche tierartige Abweichungen.

## 5. Diskussion

### 5.1. Diskussion der Methode

#### 5.1.1. Auswahl der Fischarten

Die drei Fischarten Koikarpfen, Regenbogenforelle und Kaiserbuntbarsch wurden ausgewählt, um sowohl häufige Vertreter der Hobby- als auch der Nutztierhaltung zur Lebensmittelgewinnung einbeziehen zu können. Dabei ist der Koikarpfen sogar als beiden Gruppen zugehörig zu betrachten. Denn sowohl der Koikarpfen, eine Farbvariante, als auch die Wildform und die in Teichen gezüchteten Speisekarpfen gehören dem Genus *Cyprinus* an und tragen alle den lateinischen Namen *Cyprinus carpio carpio*. Außerdem wurden die Arten nach den Umweltbedingungen der Gewässer, in denen sie beheimatet sind, ausgewählt. Der Karpfen dient dabei als Beispiel einer Art, die in stehenden Gewässern von eher niedrigen Temperaturen (16 - 24°C) zuhause ist, im Gegensatz zu den Kaiserbuntbarschen aus dem tropischen Malawisee als stehendem Gewässer höherer Temperatur (24 - 28°C). Die Regenbogenforelle als möglicher Speisefisch lebt in kalten Fließgewässern (8 - 20°C). Generell wurden zur besseren Vergleichbarkeit ausschließlich Süßwasserfische gewählt. Bei den Untersuchungen handelte es sich nicht um Letalversuche und für diese drei Fischarten waren die Voraussetzungen zur anschließenden Haltung unter optimalen Bedingungen in der Klinik für Fische und Reptilien der LMU und im Tierpark Hellabrunn gewährleistet.

#### 5.1.2. Vorgehensweise

Zur Beurteilung der erreichten Narkosetiefe wurden die in Kapitel 2.2.5. und 2.2.6. beschriebenen Kriterien herangezogen. Dabei handelte es sich um Kiemendeckelbewegung, Schwimffähigkeit, Gleichgewichtsverlust, Seitenlage / Rückenlage, Reaktion auf Reize (optische, taktile oder Vibrationsreize) sowie Augendrehreflex. Letzterer konnte allerdings nicht zur Bewertung herangezogen werden, da die Beurteilung der Augenstellung insbesondere bei den relativ kleinen Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen nicht möglich war. Die Kontrolle dieser Parameter diente gleichzeitig als einzige und ausreichende Maßnahme zur Narkoseüberwachung. Geräte oder invasive Verfahren kamen nicht zum Einsatz. Pulsoximetrie, Doppler und Herzultraschall sowie Elektrokardiogramm werden in der Praxis bei Fischen im Allgemeinen nicht eingesetzt und bleiben laut KÖLLE und HENKE (2004) nur sehr wertvollen Einzeltieren oder experimentellen Zwecken mit spezieller Fragestellung vorbehalten. HARMS (1999) und STETTER (2001) berichten zudem beide über unbefriedigende Ergebnisse der Pulsoximetrie beim Fisch. Ferner sind für die meisten Fische physiologische Herzfrequenzen gar nicht bekannt (STETTER, 2001).

In Anlehnung an die klassische Einteilung der Narkosestadien beim Mensch nach dem Guedel - Narkoseschema haben viele Autoren entsprechende Einteilungen für Fische vorgenommen (siehe Kapitel 2.2.6.; McFARLAND 1959; McFARLAND und KLONTZ, 1969; BONATH 1977 und 1982; STUART, 1981; SEDGWICK, 1986; BELL, 1987; DUNN, 1990; RYAN, 1991; STOSKOPF, 1993a; SENGMÜLLER-SIEBER, 1999; BRETZINGER, 2001; SLADKY et al., 2001; STETTER, 2001; OETINGER, 2003; KÖLLE und HENKE, 2004; WILLIAMS et al., 2004). Aufgrund der mit GILDERHUS und MARKING (1987) übereinstimmenden Erfahrung, dass die MS 222 - Narkose bei Forellen extrem schnell abläuft und die untersuchten drei Fischarten verschiedene Verhaltensweisen bei den Narkosen mit den beiden Anästhetika zeigten, wurde diese Einteilung im Narkoseprotokoll nicht berücksichtigt, da tatsächlich nicht immer alle Stadien nachvollziehbar waren. Um dennoch

die eingetretene OP-Toleranz einheitlich festhalten zu können, wurde die Einteilung in verschiedenen tiefe Stadien anhand eines stark vereinfachten selbst erstellten Schemas getroffen (Kapitel 3.2.8.1.1., Tabelle 5). BRETZINGER (2001) bemerkt außerdem, dass die Verhaltensäußerungen der Tiere von mehreren Untersuchern subjektiv unterschiedlich aufgefasst werden können. In die eigene Unterteilung der OP-Toleranz wurde auch das Verhalten der Tiere nach Entnahme aus dem Narkosebad einbezogen. Im Laufe der Versuche zeigte sich, dass die Fische sich außerhalb des Wassers sehr unterschiedlich handhaben ließen, auch wenn sie alle im Narkosebecken Verhalten und Reaktionen gezeigt hatten, die laut Einteilung der Narkosestadien in der Literatur eine tiefe Narkose bedeuten sollten. Dieser Umstand erklärt auch, warum die OP-Toleranz mancher Fische bei der Protokollierung als unzureichend eingestuft werden musste, obwohl sie dem Narkosebad erst entnommen worden waren, wenn nach den oben aufgelisteten Kriterien eigentlich eine ausreichende Narkosetiefe angenommen werden konnte. Möglicherweise wird diese Diskrepanz aber auch von der Dauer des Luftaufenthaltes bestimmt (siehe dazu Kapitel 2.2.7).

Es war nicht Ziel dieser Arbeit zu überprüfen, wie lange eine Anästhesie unter der HM andauern kann. Denn die Dauer der OP-Toleranz war großen Schwankungen unterworfen. Um diese Dauer jeweils zu ermitteln, hätten einzelne Tiere unter Umständen sehr lange außerhalb des Wassers gehalten werden müssen. Dies hätte zu größeren Belastungen für die Tiere geführt und außerdem keine einheitliche Beurteilung der Aufwachphase erlaubt, da der Ablauf dieser Phase von der Dauer des Luftaufenthaltes mit beeinflusst wird. Eine Anästhesiedauer, die zwei Minuten übersteigt, kann durch den Einsatz von Rezirkulationssystemen erzielt werden.

Die Zeit von 120 Sekunden außerhalb des Wassers nach Erreichen des gewünschten Toleranzstadiums war so bemessen, dass genug Spielraum zum Wiegen, Vermessen und Fotografieren der Tiere vorhanden war. Sie sollte einheitliche Untersuchungsbedingungen gewährleisten und ausreichend sein, um Untersuchungen, einfache Eingriffe und Prozeduren wie das Abstreifen von Laich zu erlauben und gleichzeitig kurz genug, um die Tiere keinem unangemessenen Stress auszusetzen. Nach BROWN (1993b) kann ein Fisch eine Zeitspanne von bis zu zwei Minuten außerhalb des Wassers ohne besondere Maßnahmen problemlos verkraften. Die hier gemachten Beobachtungen bestätigen diese Aussage.

Bei der Ermittlung der optimalen Dosis der HM für jede Fischart wurde individuell die Grenze festgelegt, ab der eine Dosis als prinzipiell wirksam galt. Diese Zeit wurde einheitlich mit 30 Minuten veranschlagt. Dies geschah, ebenso wie die Festlegung, dass eine optimale Dosis innerhalb von 10 Minuten zu einer OP-Toleranz führen sollte, aus Gründen der Praktikabilität. Eine länger dauernde Einleitungsphase erhöht den Personalaufwand, der zur Überwachung dieses sensiblen Stadiums erforderlich ist und verstärkt zusätzlich die Stoffwechselbelastung für das Tier, dessen Organismus sich länger mit dem Pharmakon auseinandersetzen muss. Ferner besteht die Gefahr einer Akkumulation des Narkotikums, was die Risiken in der Aufwachphase und die Belastung des Fischkörpers mit Arzneimittelrückständen erhöht. Ein weiterer praktischer Grund, warum der Fisch möglichst kurz im Narkosebecken verbleiben sollte, ist die zunehmende Belastung des Narkosewassers mit Stoffwechselprodukten und Ausscheidungen des Tieres, was die Anzahl der Fische, für die das Narkosebad eingesetzt werden kann, einschränkt und die Bedingungen verschlechtert. Eine möglichst kurze Einleitungsphase ist somit ein Zeit- und Kostenfaktor, der zudem die Sicherheit einer Narkose beeinflusst. Eine Einleitung von wesentlich weniger als 10 Minuten wurde für diese ersten Untersuchungen nicht als nötig erachtet.

Dies sind auch die Gründe dafür, warum bei der Ermittlung der optimalen Dosis das Hauptaugenmerk auf die Einleitungszeit gelegt wurde. Die Aufwachzeit und die Häufigkeit von Exzitationen wurden dabei weniger durch die Zeit, die der Fisch im Narkosebad

verbrachte, beeinflusst, als vielmehr über die Dosis. Deshalb wurde die niedrigste Dosis, die zu einer Einleitung von unter 10 Minuten führte als die optimale bewertet, wenn bei einer weiteren Steigerung dieser Dosis keine deutliche weitere Verkürzung dieser Zeit mehr zu erreichen war, sondern negative Wirkungen wie Exzitationen oder eine verlängerte Aufwachphase überwogen. Letztere sollte bei der optimalen Dosis nicht länger 30 bis 40 Minuten dauern, um auch hier die Belastung für Tiere und Personal in der Praxis im Rahmen zu halten. Außerdem begründet dies, warum die Fische nicht länger im Narkosebad mit einer niedrigeren Dosierung belassen wurden. Um auf diese Weise die kürzestmögliche Anflutungszeit zu ermitteln, hätten weitergehende Untersuchungen durchgeführt werden müssen. Außerdem zeigte sich im Verlauf der Vorversuche, dass sich auch bei längerem Belassen im Anästhesiebecken ein bestimmtes erreichtes Narkosestadium nicht weiter vertiefen ließ, sondern diese Stufe erst in der nächst höheren Dosis überwunden wurde.

Zum Vergleich mit dem herkömmlichen „Standard - Anästhetikum“ MS 222 wurden alle Fische im Hauptversuch mit beiden Narkosemitteln betäubt. Da die Zielsetzung dieser Arbeit nicht beinhaltete, eine ideale Dosis von MS 222 für die drei verwendeten Fischarten zu finden, wurde die Standarddosis der Klinik für Fische und Reptilien der LMU von 70 mg/l für alle drei Fischarten eingesetzt. Dabei stellte sich diese Dosis allerdings als zu niedrig für die Kaiserbuntbarsche heraus. Bei diesen Tieren ließ sich innerhalb von 30 Minuten keine Wirkung erkennen. Dies wurde zwar nur an zwei Fischen überprüft, die geringe Wirksamkeit auch der schließlich höher gewählten Dosis bestätigt allerdings die Repräsentativität dieser Ergebnisse. Um die Dosis des MS 222 für die Kaiserbuntbarsche nicht willkürlich festzulegen und andererseits auch keine Versuche zur Dosisfindung für MS 222 durchführen zu müssen, da diese nicht im Tierversuchsantrag enthalten waren, wurde versucht, ein Schema zu finden. Anhand der Angaben auf dem Beipackzettel des verwendeten MS 222 wurde deshalb die Dosis 116,6 mg/l wie folgt festgelegt: Dort werden für Forellen- und Karpfenspezies Dosierungsangaben bezüglich Sedation und Anästhesie gemacht. Zur Sedation von Forellen sollen 10 bis 30 mg/l und für Karpfen 20 bis 30 mg/l eingesetzt werden. Zur Anästhesie werden bei Forellen 30 bis 180 mg/l und bei Karpfen 30 bis 200 mg/l angegeben. Auf die Kaiserbuntbarsche treffen die Empfehlungen für „tropische Süßwasserfische“ zu, bei denen lediglich Angaben zur Sedation von 30 bis 50 mg/l gemacht werden (Thomson & Joseph Limited, Norwich / UK; Issue May '98; siehe auch: ALPHARMA technical bulletin 5/2001). Um einen Vergleich der Dosierungen bei den Buntbarschen mit denen der zwei anderen Spezies ziehen zu können, wurde die Dosis von 70 mg/l in Relation zu den oben aufgeführten Angaben gebracht. Dabei ergibt sich die anästhesierende Dosis bei Regenbogenforellen und Koikarpfen mit 70 mg/l als das 2,3fache der oberen Grenze der empfohlenen sedativen Dosis. Dementsprechend wurde die obere Grenzdosierung zur Sedation bei tropischen Süßwasserarten (50 mg/l) mit 2,3 multipliziert und so das Ergebnis von circa 116,6 mg/l errechnet.

Die Hauptversuche sollten entsprechend der statistischen Planung pro Fischart mit zwei Gruppen zu je mindestens 10 Tieren durchgeführt werden. Für jede Fischart waren außerdem 10 Reservetiere vorgesehen. Laut Versuchsplan sollte bei jeder Fischart zuerst die eine Gruppe von mindestens 10 Tieren mit HM und die andere Gruppe mit MS 222 untersucht werden. Nach einer Erholungsphase von 14 Tagen wurden die beiden Gruppen mit dem jeweils anderen Narkosemittel anästhesiert. Dabei wurden 13 (Regenbogenforellen) bzw. 14 (Koikarpfen und Kaiserbuntbarsche) Tiere pro Gruppe eingesetzt, also die Ersatztiere teilweise mit einbezogen. Aufgrund des eingeschränkten Beckenvolumens im Verhältnis zur Größe der Tiere wurde bei den Regenbogenforellen die Zahl von Reservetieren niedriger gehalten.

Die Fische der zwei Gruppen wurden jeweils mit beiden Narkotika untersucht, um den Einfluss individueller Empfindlichkeiten der Fische innerhalb der Arten zu minimieren.

Gleichzeitig konnten dadurch trotzdem für beide Narkosemittel jeweils mehr als 20 Narkosen durchgeführt und so die Aussagekraft der Ergebnisse maximiert werden. Eine Beeinflussung der Daten im zweiten Versuchsteil durch die vorhergehende Narkose konnte durch die dazwischen liegende Erholungspause von mindestens 14 Tagen annähernd ausgeschlossen werden. Diese Annahme geht auch mit der Arbeit von SMITH et al. (1999) konform, in der Tilapienhybride alle sieben Tage insgesamt viermal mit 200 mg/l MS 222 bei 26°C narkotisiert wurden. Bei der zweiten Narkose nach einer Woche Erholung waren dabei keine signifikanten Änderungen der Narkoseparameter zu beobachten. Erst ab der dritten Narkose nach 14 Tagen wurden signifikant kürzere Einleitungszeiten und verzögerte Aufwachphasen gemessen. Diese Reaktionen wurden von den Autoren als Toleranzentwicklung interpretiert.

Zumindest für MS 222 kann die Pause zwischen den Narkosen als absolut ausreichend angesehen werden, da Tricainmesilat in der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs im Anhang II, Verzeichnis der Stoffe, für die keine Höchstmengen für Rückstände gelten, aufgelistet ist. Es müssen also nach EU - Recht keine Wartezeiten eingehalten werden, wenn ein Fisch nach der Behandlung mit MS 222 zur Lebensmittelgewinnung dienen soll. Auf der Packung des verwendeten MS 222 der Firma Thomson & Joseph Limited, UK, ist zwar eine Wartezeit von 70 Tagesgraden angegeben. Diese ist aber selbst für die Regenbogenforellen bei Haltungstemperaturen von nur 9 bis 10 °C nach sieben bis acht Tagen abgelaufen. Auch Ketamin ist im selben Anhang der VO (EWG) Nr. 2377/90 für alle Tierarten aufgeführt. Bei Xylazinhydrochlorid gilt dies nur mit der Einschränkung für „Rinder und Equiden“. PICKERING et al. (1982) untersuchten Bachforellen (*Salmo trutta*), die empfindlicher als Regenbogenforellen sind, bezüglich ihrer Erholung von Stress. Nachdem die Tiere aus ihren gewohnten Becken gefangen und Blutproben entnommen worden waren, wurden nachfolgend blutgetragene Stressparameter sowie Wachstum und Verhalten überwacht. Eine Erholungspause von zwei Wochen reichte aus, um diese Parameter wieder zu normalisieren.

Bei der Anwendung der HM bei Säugetieren wird oft der Vorteil der Antagonisierbarkeit des Xylazinanteils genutzt. Die Wirkung der dabei zum Einsatz kommenden  $\alpha_2$  - Antagonisten wurde aus verschiedenen Gründen in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Da ein Verhältnis von Ketamin zu Xylazin wie in der HM als Tauchbadnarkose bei Knochenfischen bisher in der Literatur nicht erwähnt wurde, sollten erst einmal ausschließlich die Wirkungen dieser Kombination auf drei Fischarten untersucht werden. Mit dem Einsatz eines Antagonisten wären dabei die Ergebnisse während der Nachbeobachtungszeit von drei Wochen von dessen Einfluss überlagert worden. Eventuell auftretende unerwünschte oder Nebenwirkungen der HM wären nicht von solchen der Antagonisten zu unterscheiden gewesen. Zudem sollte ein direkter Vergleich mit MS 222 gezogen werden, für das kein Antagonist existiert. Für die Tiere hätten weitere Narkosen zur Untersuchung der Antagonisierbarkeit wesentlich mehr Stress bedeutet, da sie außer dem erneuten Narkosebad einem weiteren Bad mit fremder Zusammensetzung ausgesetzt worden wären. Drei Substanzen wirken als Antagonisten der  $\alpha$  - Rezeptoren im zentralen Nervensystem, und zwar Tolazolin und Yohimbin sowie Atipamezol, das eine stärkere Selektivität für  $\alpha_2$  - Rezeptoren besitzt. Für die ersten beiden gilt jedoch derzeit, dass in Deutschland keine Tierarzneimittel verfügbar sind, die diese Substanzen als wirksame Bestandteile enthalten. Atipamezol ist als Injektionslösung unter dem Handelsname Antisedan® erhältlich. Eine Zulassung besteht jedoch nur für die Anwendung beim Hund und zur Aufhebung der Wirkung der  $\alpha_2$  - Agonisten Medetomidin- oder Dexmedetomidin-hydrochlorid. Laut Herstellerangabe der Firma Pfizer GmbH ist Atipamezol dabei in der 5fachen Dosis des eingesetzten Medetomidins oder Dexmedetomidins anzuwenden. Bei einem Preis inklusive Mehrwertsteuer von 7,52€ pro ml Antisedan® (Stand: 08/2006) wird der Einsatz dieses



Antagonisten zusammen mit den Kosten für die HM (siehe unten) sicher nicht auf viel Zustimmung stoßen. HORSBERG et al. (1999) prüften die Einsetzbarkeit von Atipamezol zur Aufhebung der Wirkung von Medetomidin auf Regenbogenforellen im Tauchbad. Um den gewünschten Erfolg zu erreichen, mussten sie das Antidot dabei 6fach im Vergleich zum Anästhetikum dosieren und die Tiere zeigten wiederholte Phasen von unkontrollierten Bewegungen unter der Einwirkung von Atipamezol. Das Interesse an der Wirkung der HM hing unter anderem mit deren Einsetzbarkeit bei Lebensmittel liefernden Tieren zusammen. Tolazolin, Yohimbin und Atipamezol sind jedoch in keinem Anhang zur Verordnung 2377/90 (EWG) aufgeführt. Ihr Einsatz bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, ist nicht erlaubt.

### 5.1.3. Narkoseprotokoll

Aus den bereits unter 5.1.2. aufgeführten Gründen erfolgte die Beschreibung der Narkosetiefe im Protokoll nicht nach den „klassischen“ Narkosestadien, sondern wurde nach der eigens erstellten Einteilung (siehe Kapitel 3.2.8.1.1.) in Bezug auf das Verhalten nach Entnahme aus dem Narkosebad beurteilt. Dieses Vorgehen erwies sich im Verlauf der Versuche als sinnvoll, denn nicht immer waren alle Stadien differenzierbar. Es bestanden zudem große Unterschiede im Verlauf der Narkosen mit HM und MS 222, und auch zwischen den Fischarten herrschte Variabilität im Verhalten unter Einwirkung der Narkotika. Zum Beispiel erfolgte die Einleitung mit 70 mg MS 222/1 bei Forellen so schnell, dass kaum eine Chance zur Beobachtung verschiedener Stadien bestand.

Der Begriff „Exzitation“ wurde für ein breites Spektrum von Verhaltensweisen herangezogen. Nicht nur insgesamt selten aufgetretene heftige aversive Reaktionen auf das Narkosebad, wie zum Beispiel der Versuch, durch Springen aus dem Wasser zu entkommen, sondern jede zu beobachtende Abweichung von einem ungestörten ruhigen Schwimmverhalten wurde so bezeichnet. Unter diesen Begriff fiel häufig eine „spuckende“ Maulbewegung der Fische, die ein- oder mehrmals für wenige Sekunden zu sehen war. Aber auch ein schnelles Hin- und Herschwimmen, das, sofern überhaupt gezeigt, meist unmittelbar nach dem Verbringen ins Narkosebecken auftrat, fiel unter diese Kategorie. Dieses ruckartige Schwimmen war jedoch in keinem Fall unkontrolliert, sodass die Beckenwände dabei nie berührt wurden. Für die statistische Auswertung wurden auch Reaktionen als tatsächlich aufgetretene Exzitationen behandelt, die aufgrund ihrer Undeutlichkeit nur mit „+/-“ bezeichnet worden waren. Der Wahrung einer gewissen Übersichtlichkeit der Ergebnisse wegen wurde entschieden, dieses Kriterium nicht weiter aufzuschlüsseln. Anzumerken ist außerdem, dass die heftigeren Schwimmbewegungen in der überwiegenden Zahl der Fälle durch Überreaktionen auf Vibrationen der Wände des Narkosebeckens bedingt waren. Diese Vibrationen wurden durch Klopfen gegen die Beckenwand ausgelöst, um den Status der Narkosetiefe zu überprüfen, konnten also nicht unterlassen werden.

Der Augendrehreflex als sicheres Merkmal zur Erkennung der Anästhesietiefe musste unberücksichtigt bleiben aufgrund der teilweise enormen Schwierigkeit der Beurteilung. Auch die Beurteilung der „Atemfrequenz“ während der 120 Sekunden außerhalb des Wassers war fraglich. Zum einen deshalb, weil dieses Atmen bei manchen Tieren nur aus dem Öffnen und Schließen der Lippen ohne Beteiligung der Kiemendeckel bestand, während bei anderen Individuen die Maulbewegung vom Heben und Senken der Kiemendeckel begleitet war (das zudem aufgrund der Seitenlage auf festem Untergrund nur auf einer Körperhälfte beurteilt werden konnte). Andererseits war in diesen zwei Minuten oft leider kaum Zeit zu einer Beobachtung über mindestens 30 Sekunden, da in dieser Zeit außerdem die Wiegung und Vermessung, sowie Fotoaufnahmen und Filmen der Tiere erfolgten. Da das zur Atmung benötigte Medium Wasser mit Ausnahme der Buntbarsche in diesen 120 Sekunden nicht vorhanden war, erschien es zulässig, diese „Atemfrequenz“ nicht genau erfassen zu können,

denn sie trug in dieser Zeit nicht zur Sauerstoffversorgung über die Kiemen bei. Die Zählung der Atembewegungen erfolgte meist nur über einen Zeitraum von 15 Sekunden und wurde dann mit vier multipliziert, in den übrigen 105 Sekunden wurde lediglich auf Vorhandensein und Regelmäßigkeit geachtet, ohne die Frequenz erfassen zu können. Möglicherweise würde sich die jeweilige Atemfrequenz bei Kontakt mit Wasser nach Erreichen des Narkosestadiums, zum Beispiel im Verlauf einer Rezirkulationsanästhesie, anders darstellen. Dies kann man aus der Beobachtung schließen, dass in fast allen Fällen die eventuell nicht mehr vorhandenen oder sehr unregelmäßigen Kiemendeckelbewegungen unmittelbar beim Einbringen in das Aufwachbecken bei allen Fischarten wieder einsetzten. Die Atemfrequenzen der Fische wurden während der Induktionsphase ein- oder mehrmalig erfasst. Auf eine genauere Betrachtung wurde jedoch aufgrund mangelnder Vergleichsmöglichkeit mit „Ruheatemfrequenzen“ verzichtet. Gesicherte physiologische Daten über Normwerte sind bei Fischen als poikilothermen Tieren kaum aufzustellen, da Werte wie die Atemfrequenz auch von der Temperatur beeinflusst werden und Tiere in unterschiedlichen Alters- und Entwicklungsstufen zum Einsatz kamen. Da außer bei einigen Regenbogenforellen die Feststellung der Atemfrequenzen vor der Narkose im Ruhezustand nicht möglich war, wurden die beobachteten Werte nur ergänzend bei der jeweiligen Fischart erwähnt.

## **5.2. Diskussion der Ergebnisse**

### 5.2.1. Koikarpfen

In den Vorversuchen wurde bei den Koikarpfen als untere wirksame Dosisgrenze 0,6 ml HM/l Wasser ermittelt. Mit dieser Dosis konnte aber bei 10 Fischen eines der erwünschten Ziele, eine Anflutungszeit von unter 10 Minuten, nicht erreicht werden. Auch die OP-Toleranz blieb bei zwei Tieren suboptimal. Deshalb wurde die Dosis weiter erhöht auf 0,8 ml HM/l. Dies führte zu durchschnittlichen Einleitungszeiten von 6,65 Minuten und war somit signifikant kürzer bei einer in etwa gleich gebliebenen Aufwachzeit von 24,5 Minuten. Da diese beiden Dosierungen jedoch bei 60% der Tiere in der Anflutungs- und bei 20% der Tiere in der Aufwachphase leichte Exzitationen hervorriefen, sollte mit 1,0 ml HM/l überprüft werden, ob diese höhere Dosis zu einer kürzeren Einleitung unter weniger Exzitationen führen könnte. Da dies bei einer Anflutungszeit von durchschnittlich 6,32 Minuten von exzitativen Verhaltensäußerungen bei 80% der Tiere begleitet war, brachte eine weitere Erhöhung der Dosis keinen Vorteil, und 0,8 ml HM/l wurde als die für Koikarpfen optimale Dosis bewertet, die die aufgestellten Kriterien erfüllte und bei 100% der Tiere zu einem optimalen Narkosestadium führte.

Da aufgrund genauer Beschreibungen und Fotos die Koikarpfen als Individuen wiedererkannt werden konnten, war es möglich, die Reaktion des Einzeltieres auf HM und MS 222 zu vergleichen. Dazu wurden alle 27 Tiere auch mit 70mg MS 222 /l untersucht.

Warum die Einleitungszeit in den Hauptversuchen mit 27 Koikarpfen durchschnittlich 8,48 Minuten, also fast zwei Minuten länger als in den Vorversuchen, dauerte, ist unklar. Gewicht und Größe der Tiere waren vergleichbar und die Haltungsbedingungen konstant. Möglicherweise trug die Stressbelastung der Tiere zu dieser verzögerten Anflutung bei, denn die Tiere im Hauptversuch hatten ja bereits mehrmals (35mal) den Fang von Artgenossen miterlebt. Bei Säugetieren ist der Einfluss der psychischen Erregung auf die Dauer und Qualität der Anflutung mit  $\alpha_2$  - Agonisten bekannt (WESTERHÜS, 2003). Inwieweit dies auch für Fische zutrifft, wurde in dieser Arbeit nicht durch Überprüfung von Stressparametern im Blut oder Ähnliches untersucht. Als Maßnahme, um die Belastung der verbleibenden

Fische möglichst gering zu halten, wurde bei der Entnahme eines Fisches zur Narkose immer ein anderes Becken (Forellen) bzw. ein anderes Beckenabteil (Koikarpfen und Kaiserbuntbarsche) herangezogen. Insgesamt blieb die Induktionszeit dennoch innerhalb der vorgegebenen 10 Minuten. Mit MS 222 dauerte die Einleitungsphase 8,38 Minuten, also etwa gleichlang wie bei der HM. Die Aufwachzeit nach der HM war mit 20,78 Minuten dennoch 6,13 Minuten länger als nach MS 222, nach dem die Fische innerhalb von circa 14,65 Minuten aufwachten. 66,7% der Tiere erreichten eine ideale OP-Toleranz mit 0,8 ml HM/l. Etwa die Hälfte der Tiere verhielt sich dabei bezüglich der OP-Toleranz bei beiden Narkotika gleich, während die anderen 13 gegensätzlich reagierten. Man kann also grundsätzlich nicht postulieren, dass ein Fisch, der auf MS 222 empfindlich reagiert, diese erhöhte Sensibilität auch bei HM zeigt und umgekehrt. Mit MS 222 ließ sich nur bei 48,15% der Fische eine ideale Narkosetiefe erreichen. Bezüglich der Häufigkeit des Auftretens von Exzitationen in der Einleitungs- und Aufwachphase bestanden zwischen den beiden Pharmaka keine signifikanten Unterschiede. Bei der Prüfung auf Zusammenhänge zwischen Gewicht, Länge, Anflutungs- und Aufwachzeit bei beiden Narkosemitteln ergaben bei der HM keine Ergebnisse, während bei MS 222 eine positive Korrelation von Anflutungs- und Aufwachzeit vorlag. Dies stimmt überein mit der Aussage mehrerer Autoren (McFARLAND und KLONTZ, 1969; BONATH, 1977; SMITH et al., 1999; KÖLLE und HENKE, 2004), die Narkosedauer, also auch die Zeit, bis der Fisch wieder wach wird, sei von der Dauer der Einwirkzeit des Narkosemittels abhängig (siehe dazu auch Kapitel 2.2.7). Auf Narkosen mit MS 222 bei Koikarpfen trifft diese Annahme im Gegensatz zur HM zu, obwohl aufgrund der Lipophilie des Ketamins (EBERT et al., 2002) hier ein solcher Zusammenhang eher zu erwarten gewesen wäre. Möglicherweise verläuft die Verteilung von Pharmaka in die verschiedenen Kompartimente des Körpers bei Fischen unterschiedlich. Der festgestellte Zusammenhang ist aufgrund des niedrigen Korrelationskoeffizienten von 0,116 als nicht sehr stark einzuordnen (der Korrelationskoeffizient „r“ kann Beträge von 0 = kein Zusammenhang bis 1 = vollständiger Zusammenhang annehmen).

Zu bemängeln an der als Standarddosierung geltenden Konzentration von 70 mg MS 222/l ist also hauptsächlich, dass sich nur bei weniger als der Hälfte der Tiere eine ideale OP-Toleranz einstellte, obwohl sie im Narkosebecken die gleichen Symptome wie Fische mit der HM zeigten, nach denen zu urteilen sie eine geeignete Narkosetiefe erlangt haben sollten. Möglicherweise wäre dieser Nachteil des MS 222 mit einer höheren Dosierung auszuschließen. Dabei gibt es jedoch zu bedenken, dass in den 120 Sekunden außerhalb des Wassers 15 der 27 Tiere unabhängig davon, wie gut sie zu handhaben waren, keinerlei Atembewegungen zeigten. Unter der HM - Einwirkung „atmeten“ die Koikarpfen in dieser Phase weiter. Die Aufwachzeit ist zwar unter der HM etwa 6,13 Minuten länger. Dabei kann jedoch eine Differenz von wenigen Minuten eher toleriert werden, als in der Anflutungsphase. Denn im Aufwachbecken ist der Fisch nicht der Belastung einer veränderten chemischen Zusammensetzung seiner aquatischen Umwelt ausgesetzt; die längere Dauer ist hier vielmehr als Belastung des beaufsichtigenden Personals zu betrachten. Hingegen ist der Fisch bei einer längeren Anflutung intensiver dem jeweiligen Pharmakon ausgesetzt und eine Kumulation z.B. im Fettgewebe bei lipophilen Stoffen wird gefördert, wodurch der gesamte Stoffwechsel des Tieres belastet wird (SMIT und HATTINGH, 1978).

Für Koikarpfen bietet die HM in einer Dosierung von 0,8 ml/l also eine echte Alternative zu MS 222 bei einer Dosierung von 70 mg/l.

### 5.2.2. Regenbogenforellen

Bei den Regenbogenforellen lag die Wirksamkeitsgrenze für die HM bei 0,4 ml/l. Mit dieser Dosis dauerte es bei 10 Regenforellen im Schnitt 10,3 Minuten, bis die Tiere keine Reaktionen auf Reize mehr zeigten. Die tatsächlich erreichte OP-Toleranz stellte sich jedoch als unbefriedigend heraus (bei 80% der Tiere zu schwach). Die Aufwachphase dauerte durchschnittlich 21,5 Minuten. In der Einleitungsphase waren 80% der Tiere von Exzitationen betroffen, in der Aufwachphase 60%. Aufgrund der Anflutungszeit über 10 Minuten und der inakzeptablen Narkosetiefe wurde als nächster Schritt die Dosis 0,6 ml HM/l an 10 Forellen untersucht. In den im Mittel 7,9 Minuten Anflutungszeit zeigten 100% der Tiere mehr oder weniger starke Abweichungen von einem ruhigen Schwimmverhalten. Die durchschnittlich erreichte OP-Toleranz war 2,5. Nach etwa 29,15 Minuten wurden 80% der Forellen mit Exzitationen wach. Da bei 50% der Regenbogenforellen die OP-Toleranz wiederum suboptimal war, wurde die Dosis ein weiteres Mal erhöht auf 0,8 ml HM/l. Insgesamt dauerte die Anflutungsphase 6,1 Minuten und war bei 10 von 11 Forellen von teilweise heftigen Exzitationen begleitet. Die Aufwachphase von 36 Minuten Länge war bei 63% der Tiere durch Exzitationen gestört. Aufgrund der Häufigkeit von Exzitationen, der nicht signifikant kürzeren Anflutung, des Todes einer Forelle und der Tatsache, dass die durchschnittlich erreichte OP-Toleranz nur den Wert 2,36 erreichte, wurde die Dosis von 0,8 ml/l sowie eine weitere Erhöhung der Konzentration ausgeschlossen. Die später verstorbene Forelle zeigte nach 9 Minuten im Narkosebad keine Reaktionen auf Reize von außen mehr bei gleichmäßiger und deutlich vorhandener Atmung. Das Tier wehrte sich nicht gegen die Entnahme aus dem Narkosebad, seine OP-Toleranz wurde jedoch als zu schwach beurteilt, da es in den 120 Sekunden außerhalb des Wassers (bei ruhiger Umgebung!) einmal kurz und heftig zappelte. Nach 30 Sekunden im Aufwachbecken traten spuckende Maulbewegungen auf, es setzte jedoch keine Spontanatmung ein. Sobald stimulierende Hilfsmaßnahmen durchgeführt wurden, zeigte das Tier vorübergehend Atembewegungen, diese sistierten aber sofort, wenn der Fisch sich selbst überlassen wurde. Nach 30 Minuten wurden diese Hilfsmaßnahmen erfolglos eingestellt und die Forelle in der Klinik für Fische und Reptilien pathologisch untersucht. Dabei konnten keine Hinweise auf die mögliche Todesursache ermittelt werden. Deshalb kann die HM als Ursache für den Tod nicht ausgeschlossen werden. Da sämtliche Fische vor Versuchsbeginn lediglich klinisch adspektorisch auf einwandfreien Gesundheitszustand überprüft wurden, lässt sich eine möglicherweise unentdeckt gebliebene Vorschädigung dieses Tieres nicht ausschließen.

Da die bestmöglichen Ergebnisse bei den Forellen mit 0,6 ml HM/l zu erreichen waren, wurde diese Dosis bei 26 Tieren mit 70mg MS 222/l verglichen. Die durchschnittliche Anflutungszeit von 8,99 Minuten war etwa 3,01 Minuten länger als mit MS 222 (5,98 Minuten). Noch deutlicher waren die Abweichungen in der Aufwachzeit, die mit der HM circa 22,13 Minuten dauerte und bei MS 222 8,05 Minuten. Es erreichten mit beiden Narkotika etwa 60 % der Fische eine ideale OP-Toleranz. In der Anflutungszeit traten unter beiden Narkosemitteln bei fast allen Tieren Exzitationen auf, die Aufwachphase war mit MS 222 ruhiger.

Im Gegensatz zu den Erfahrungen einiger anderer Autoren (siehe unten) wurden bei den Forellen keine augenfälligen Veränderungen der Körperfarbe bemerkt, obwohl Tiere in benachbarten durchsichtigen Aquarien zum Vergleich dienen konnten.

Möglicherweise lag dies an der Tatsache, dass die Hälterung in durchsichtigen Glasbecken vor hellem Hintergrund erfolgte und auch Narkose- und Aufwachbecken aus Glas vor hellem Hintergrund mit dunklem Boden bestanden. BRETZINGER (2001) konnte ebenfalls subjektiv

keine Farbänderungen bei Regenbogenforellen im Verlauf von Betäubungen mit unterschiedlichen Methoden erkennen. Diese Forellen waren zuvor in hellen HDPE - Behältern untergebracht (HDPE: high density polyethylene = Polyethylen hoher Dichte).

HORSBERG et al. (1999) beobachteten dagegen bei Regenbogenforellen ein starkes Erblassen nach einigen Minuten im Narkosebad mit Medetomidin in verschiedenen Konzentrationen. Diese Farbveränderungen hielten bis zu 4,5 Tage an, aber normalisierten sich innerhalb von 10 Minuten, wenn die Narkose mit Atipamezol antagonisiert wurde. Dies erklärten sie sich durch die sympathische Regulation der Melaninverteilung innerhalb der Melanophoren. Der Neurotransmitter Noradrenalin bindet dabei an einen Adrenoceptor vom  $\alpha_2$  - Typ, der die Aggregation der Melaningranula und damit Aufhellung bewirkt (siehe auch unter 5.2.3.). Angaben zur Farbe der eingesetzten Becken werden nicht gemacht.

Nach Injektion von 30 mg/kg Ketaminhydrochlorid in die dorsale Aorta von Regenbogenforellen und Lachsen stellten GRAHAM und IWAMA (1990) bei letzteren eine generelle Verdunkelung der Haut fest, während die Haut der Forellen hellere Flecken zeigte. Diese Tiere waren zuvor in dunklen Acrylbehältern gehalten worden. Die Autoren weisen darauf hin, dass man bei seltenen und wertvollen Fischen eine mögliche Farbänderung erwarten muss, die aber wahrscheinlich stressbedingt und damit reversibel ist.

Da MS 222 über andere Mechanismen als Ketamin und Xylazin wirkt, aber dennoch bei beiden Narkosemitteln keine Farbveränderungen auftraten, kann bei den Forellen wohl ein direkter Einfluss auf die Hautfarbe ausgeschlossen werden. Eine weitere Begründung, die auch BRETZINGER (2001) vertritt, ist die, dass sich die Forellen ihrer hellen Umgebung angepasst hatten und deshalb keine helleren Flecken mehr zu sehen waren. Außerdem waren die Tiere in den Untersuchungen von HORSBERG et al. (1999) und GRAHAM und IWAMA (1990) möglicherweise größerem Stress ausgesetzt, da ihnen jeweils mehrmals Blut abgenommen wurde, während in der vorliegenden Arbeit invasive Maßnahmen vermieden wurden. Ein weiteres Anzeichen dafür, dass die Tiere relativ wenig gestresst waren, ist die (für alle drei Fischarten gültige) Tatsache, dass die Fische zu jeder Zeit des Versuches Futter aufnahmen, auch am Ende eines Versuchstages. Laut PETERS (1979) ist Stress bei Fischen an Veränderungen normaler Verhaltensweisen, wie Futteraufnahme, Schwarmverhalten oder innerartlicher Aggressivität, zu erkennen.

Der Vergleich von HM in der Dosierung 0,6 ml/l mit MS 222 bei 70 mg/l zeigt, dass die Eigenschaften von Tricain in ihrer Wirkung bei den Forellen vorteilhafter sind. Die Einleitungsphase ist bei diesem Wirkstoff etwa 3 Minuten, die Aufwachphase sogar 14 Minuten kürzer. Die erreichte OP-Toleranz war vergleichbar, ebenso das Auftreten von Exzitationen in der Einleitungsphase. In der Aufwachphase zeigte sich auch hier MS 222 überlegen. In Anbetracht der Tatsache, dass eine Narkose mit höherer Dosierung der HM letal endete, ist letztere nicht als gleichwertiger Ersatz für MS 222 bei Regenbogenforellen anzusehen.

### 5.2.3. Kaiserbuntbarsche

Wie bei den Koikarpfen wurde auch bei den Kaiserbuntbarschen die Dosis 0,6 ml HM/l als die untere Wirksamkeitsgrenze für diese Fischart ermittelt. In 10 Narkosen wurde eine durchschnittliche Anflutungszeit von 11,85 Minuten erreicht, die die geforderten 10 Minuten überschritt. Die erreichte OP-Toleranz war bei 8 von 10 Tieren zu schwach. Nach 22,3 Minuten waren die Buntbarsche wieder wach. Dabei hatte in der Einleitungs- und Aufwachphase je ein Tier Exzitationen erlebt. Da noch nicht alle vorgegebenen Ziele erreicht waren, wurden weitere 10 Tiere mit 0,8 ml HM/l untersucht. In durchschnittlich 8,2 Minuten wurde eine OP-Toleranz von etwa 3,1 erreicht. Nach 19,8 Minuten wachten sie absolut frei von Exzitationen wieder auf. Da die Kaiserbuntbarsche offenbar relativ unempfindlich

gegenüber der HM reagierten, wurde mit 1,0 ml HM/l überprüft, ob sich Parameter wie OP-Toleranz und Anflutungszeit noch weiter optimieren ließen. Letztere war mit 7,35 Minuten ebenso wie die erreichte Narkosetiefe von 3,6 jedoch gegenüber 0,8 ml/l nicht signifikant überlegen. Die Häufigkeit von Exzitationen (10% in der Einleitung, 30% in der Aufwachphase) und die um 18,1 Minuten längere Aufwachzeit waren eindeutig nachteilig, weshalb die Dosis 0,8 ml HM /l Wasser als ideal für die Betäubung der Kaiserbuntbarsche beurteilt wurde.

In den Hauptversuchen wurde diese Dosierung der HM mit MS 222 in einer Dosis von circa 116 mg/l verglichen (Erklärung siehe oben, Kapitel 5.1.2.). Mit der HM dauerte die Anflutung im Schnitt 6,18 Minuten und somit 11,02 Minuten kürzer als die durchschnittlich 17,2 Minuten lange Einleitung unter MS 222. Die Aufwachzeit lag mit der HM bei 24,2 Minuten (4,4 Minuten mehr als in den Vorversuchen), nach 116mg MS 222/l bei im Mittel 6,75 Minuten ( $s = 10,56$ ). Die Standardabweichung, die sogar größer als der Mittelwert war und die zu 100% unzureichende OP-Toleranz relativieren dieses zunächst besser erscheinende Ergebnis wieder. Mit der HM hingegen erreichten 20 von 28 Tieren (71,4%) ein ideales Narkosestadium. Außerdem erlebten in der Anflutung unter HM ein und unter MS 222 drei Fische Exzitationen. Die Aufwachphase verlief nach der HM bei 100% der Tiere störungsfrei, bei MS 222 traten Erregungszustände bei drei Tieren auf (10,71%).

Bei den Kaiserbuntbarschen wurden für die Narkosen mit der HM mehr Zusammenhänge zwischen den gemessenen Parametern festgestellt als bei den anderen Arten. Anflutungszeit und Aufwachzeit waren positiv korreliert (leichter Zusammenhang, Korrelationskoeffizient „ $r$ “ = 0,408; siehe Kapitel 5.2.1.), negative Korrelation bestand zwischen Gewicht und Anflutungszeit ( $r = -0,386$ ), Gewicht und Aufwachzeit ( $r = -0,438$ ) sowie Länge und Aufwachzeit ( $r = -0,470$ ). Mit der Dauer der Einleitungszeit verlängerte sich auch die Aufwachphase. Dieser Sachverhalt war bei den Kaiserbuntbarschen auch für MS 222 gegeben ( $r = 0,290$ ), ebenso wie bei den Koikarpfen und wurde bereits dort diskutiert (Kapitel 5.2.1.). Je höher das Gewicht der Kaiserbuntbarsche war, desto kürzer dauerten Einleitungs- und Aufwachphase und je größer die Körperlänge war, desto schneller war das Tier wach. Entsprechend beobachtete McFARLAND 1959 bei Anästhesieversuchen mit Fischen der Gattung *Fundulus parvipinnis* (Anästhetikum: Methylparafinol) eine Tendenz bei größeren Fischen, tiefere Anästhesiestadien zu erreichen. Er schloss daraus auf eine zunehmende Empfindlichkeit gegenüber Anästhetika mit steigender Körpergröße. GRAHAM und IWAMA (1990) injizierten adulten Coho - Lachsen (*Oncorhynchus kisutch*) und Regenbogenforellen 30 mg/kg Ketaminhydrochlorid intramuskulär und beurteilten die bei den Lachsen länger andauernde Anästhesie als größenabhängig. BRUECKER und GRAHAM (1993) untersuchten Zitronenbuntbarsche (*Heros / Cichlasoma citrinellum*) nach intravenöser Injektion von 30 mg/kg Ketaminhydrochlorid. An einem einzelnen wesentlich größeren Individuum bemerkten sie eine deutlich protrahierte Narkosedauer sowie Aufwachzeit und fanden damit die Beobachtungen von McFARLAND (1959) bestätigt.

Folgende Übersichtstabelle (Tabelle 51) stellt die Daten von 10 Kaiserbuntbarschen im Vorversuch und den 28 Tieren im Hauptversuch gegenüber, die jeweils mit 0,8 ml/l HM narkotisiert worden waren.

Tabelle 51: Gegenüberstellung Ergebnisse Vor- und Hauptversuche, Kaiserbuntbarsche

Versuchsteil	Gewicht in g		Länge in cm		Einleitungszeit in Min.		Aufwachzeit in Min.	
	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung	Mittelwert	Standardabweichung
Vor	16,4	6,09	10,75	1,23	8,20	1,58	19,8	4,57
Haupt	14,3	4,77	10,33	1,09	6,18	2,23	24,2	14,23

Vergleicht man diese Daten mit den für die 28 Narkosen im Hauptversuch berechneten Korrelationen, so fallen einige Abweichungen auf. Zum Beispiel waren die Tiere in den Vorversuchen im Durchschnitt etwas schwerer und länger, die Anflutungszeit verkürzte sich dadurch jedoch nicht, sondern wurde im Gegenteil länger. Dies führt vor Augen, wie kritisch mit statistischen Berechnungen besonders bei eher kleinem Stichprobenumfang umgegangen werden muss. Im Gegensatz zu den beiden übrigen Fischarten, die in den Vorversuchen mehr Zeit für die Anflutung benötigten, war bei den Kaiserbuntbarschen die Einleitungszeit mit der als optimal beurteilten Dosis der HM in den Hauptversuchen sogar kürzer als in den Vorversuchen. Dieser Sachverhalt widerspricht ebenfalls dem oben aufgeführten negativen Zusammenhang der Anflutungszeit mit dem Gewicht, da die Fische, die im Hauptversuch eingesetzt wurden, im Durchschnitt 2,1g leichter waren als die Tiere in den Vorversuchen. Dies relativiert zwar scheinbar die allgemeingültige Aussagekraft des ermittelten Zusammenhanges. Da diese negative Korrelation allerdings nur innerhalb der Hauptversuche berechnet wurde und die Stichprobenanzahl der Vorversuche wesentlich kleiner war, kann trotzdem von der Validität dieses Ergebnisses ausgegangen werden.

Die Erklärung dieses Sachverhaltes durch eine eventuell stressfreiere Behandlung der Kaiserbuntbarsche ist unwahrscheinlich. Die Kaiserbuntbarsche können nicht weniger gestresst worden sein als beispielsweise die Koikarpfen, die in exakt denselben Becken gehalten worden waren. Im Gegenteil dauerte der Fang der Kaiserbuntbarsche oft länger als bei den beiden anderen Fischarten, da sie mit ihrer dunkelgrauen und blauen Hautfarbe vor dem schwarzen Hintergrund in dem sehr großen Becken extrem schwer auszumachen waren. Dabei könnte man einen höheren Grad von Erschöpfung als Ursache der schnelleren Narkosewirkung vermuten. Da allerdings Fangversuche in einem Becken oder Abteil abgebrochen wurden, wenn sie nach etwa einer Minute erfolglos geblieben waren, wurde niemals ein minutenlang „gehetzter“ Fisch, der dann tatsächlich erschöpft gewesen wäre, narkotisiert. Für die Kaiserbuntbarsche würde somit die Erfahrung bei Säugetieren, dass ein hoher Grad von psychischer Unruhe oder Stress die Anflutung mit  $\alpha_2$ -Agonisten verzögern kann (WESTERHÜS, 2003), nicht zutreffen.

Einflüsse der Tageszeit auf die verschiedenen Narkoseparameter wurden bei den Kaiserbuntbarschen nicht festgestellt.

Aufgrund des Geschlechtsdimorphismus bei diesen Fischen war es möglich, weibliche und männliche Tiere zu unterscheiden. Diese Gelegenheit wurde genutzt, um etwaige Einflüsse des Geschlechts auf das Narkoseverhalten zu untersuchen. Bei den 9 männlichen Tieren waren die Einleitungs- und Aufwachzeiten zwar im Schnitt etwas kürzer als bei den 18 Weibchen, signifikante Unterschiede in den Reaktionen der Geschlechter wurden jedoch weder bei der HM noch bei MS 222 festgestellt. Der Einfluss von Laichzeiten und dem Sexualzyklus auf die Empfindlichkeit gegenüber Narkosen ist bei allen drei Fischarten denkbar, wurde aber nicht überprüft, da der Reproduktionsstatus und das Alter der Tiere unbekannt waren.

Eine auffällige Beobachtung wurde bezüglich des Farbtons der Haut gemacht. Die Fische wurden in schwarz gestrichenen Betonbecken gehalten und ihre Körperfarbe war ebenfalls sehr dunkel. Mit der HM hellte sich die Körperfärbung im Verlauf der Narkose auf, dunkle Streifen und Flecken verloren sich. Dies ging soweit, dass einige weibliche Tiere im Aufwachbecken dann fast weiß oder silbrig wirkten. Bei den MS 222 - Narkosen wurden die Fische augenblicklich mit dem Verbringen in die Narkoselösung sehr hell. Im Gegensatz zu der HM färbten sie sich immer dunkler mit längerem Aufenthalt im Narkosebad. Die zuvor aufgetretenen helleren Stellen zwischen dunkelblauen und schwarzgrauen Streifen und Flecken glichen sich in der Tönung den dunklen Flecken und Streifen an.

Die Fähigkeit, die Hautfarbe dem Hintergrund anzupassen, ist ein verbreitetes Phänomen bei Fischen. Pigmentzellen, die man in der Haut niederer Vertebraten findet, heißen Melanophoren (IMMERSTRAND et al., 2004). Die Regulation der Melaninverteilung in den

Melanophoren erfolgt durch Nerven des sympathischen Systems. Die zugehörigen Neurotransmitter sind Noradrenalin, das eine Aggregation der Melaningranula und damit Aufhellung bewirkt, und Adenosintriphosphat (ATP). ATP wiederum bewirkt eine Dispersion der Granula. Die Wirkungsdauer des Adenosin ist länger, während Noradrenalin schnell vom Reaktionsort entfernt wird. Der dabei beteiligte Adrenoceptor gehört zum  $\alpha_2$  - Typ (HORSBERG et al., 1999). SMITH et al. beobachteten 1999 nach wöchentlich wiederholten Narkosen mit MS 222 bei Tilapienhybriden, dass diese ab etwa der vierten Woche eine Hyperpigmentation aufwiesen, die mindestens noch zwei Wochen anhielt. Die Autoren vermuteten als Ursache eine Induktion der Melanozyten ausgelöst durch den erhöhten Stress, dem die Tiere durch wöchentliche Blutabnahmen ausgesetzt waren. Diese verzögert einsetzende Änderung der Körperfärbung beruht jedoch wahrscheinlich auf anderen Mechanismen, als die in dieser Arbeit aufgetretenen raschen Farbwechsel. Eine längerfristige Änderung der Hautfarbe wurde bei den drei Fischarten auch nach mehreren Wochen Nachbeobachtungen nicht entdeckt. BONATH (1977) erwähnt, dass die bei einigen Spezies auftretende Farbveränderung zu kräftigeren Farben mit einem minderen Nerven- und Muskeltonus, wie er in der Narkose besteht, assoziiert sei.

Auch Hormone sind an der Änderung der Hautfarbe von Fischen beteiligt. PETERS schrieb 1979: „Als ein direkter Einfluss der Catecholaminausschüttung ist das Blasswerden der Fische anzusehen, da die Melanocyten durch diese Hormone zur Kontraktion gebracht werden“. Diese ältere Vermutung geht konform mit neuesten Ergebnissen von VAN DER SALM et al. (2006). Sie fanden heraus, dass Meerbrassen, *Pagrus pagrus*, die auf weißem Hintergrund gehalten wurden, eine hellere Hautfarbe hatten, die nicht durch einen akuten Stressor beeinflusst wurde, aber 24 Stunden nach dem Einwirken des Stressors weiter abblasste. Das Alpha - Melanophoren - stimulierende Hormon ( $\alpha$ MSH) fördert hingegen die Verdunkelung der Haut. So wurden auch die Plasmawerte des  $\alpha$ MSH durch diesen Stress nicht erhöht, im Gegensatz zu denen von Cortisol, Lactat und Glucose (VAN DER SALM et al., 2006). Bei Tilapien der Gattung *Oreochromis mossambicus* fungiert  $\alpha$ MSH zusätzlich als corticotropes Hormon während der Adaptation an niedrige Wasser - pH-Werte. Auf diese Weise kann auch eine Veränderung des pH-Wertes die Hautpigmentation von Fischen beeinflussen (VAN DER SALM et al., 2005). Die Wirkung von MSH auf die Hautfärbung wird dabei über den Melanocortinrezeptor MC1R vermittelt, der bei Säugetieren die gleiche Funktion erfüllt (METZ et al., 2006).

Ein weiteres Hormon mit Einfluss auf die Hautfärbung ist das Melanin - concentrating Hormon (MCH), das von der Neurohypophyse sezerniert wird (TAKEI und LORETZ, 2006). AMIYA et al. (2005) stellten fest, dass MCH bei Flundern, *Verasper moseri*, sowohl die Hautpigmentation, als auch das Körperwachstum beeinflusst. Die Flundern, die fünf Monate in einem weißen Behälter lebten, waren wesentlich weniger pigmentiert, deutlich schneller gewachsen und enthielten mehr MCH im Hirngewebe als die Fische in einem schwarzen Becken.

Abschließend ist über den Vergleich von 0,8ml HM/l mit 116mg MS 222/l bei den Kaiserbuntbarschen zu sagen, dass das Tricain wahrscheinlich immer noch unterdosiert war. Allerdings kann man bei diesem Anästhetikum nicht auf einheitliche Erfahrungswerte aus der Literatur zurückgreifen, da keine idealen Dosierungsangaben für MS 222 bei Buntbarschen vorliegen. Für diese Fischart kann nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit eine Narkose mit 0,8 ml HM/l als zu empfehlende und sichere Anästhesiemethode gelten.



#### 5.2.4. Vergleich Fischarten

Im Laufe der Vor- und Hauptversuche wurden teilweise die gleichen Dosierungen der HM und von MS 222 bei mehreren oder allen drei Fischarten eingesetzt, was einen Vergleich der Fischarten innerhalb einer Dosis des jeweiligen Narkosemittels nahe legte. Dabei wurden - sofern doppelt vorhanden - die Ergebnisse aus den Vor- und Hauptversuchen zusammengefasst, was die Stichprobenzahl zur Berechnung der Mittelwerte stark erhöhte. Dass die Fische bei unterschiedlichen Temperaturen untersucht wurden, blieb dabei unberücksichtigt, da sich für den Fisch die Umweltbedingungen innerhalb der Art nicht änderten und das Wasser im Narkosebad, abgesehen vom Narkotikum selbst, die gleiche Zusammensetzung und Temperatur wie das gewohnte Milieu aufwies. Allgemein gilt der Einfluss steigender Temperaturen als verkürzend für die Induktionszeit, nach KÖLLE und HENKE (2004) ist dies jedoch nicht für alle Narkotika gleichermaßen gültig.

Bei der Dosis 0,6 ml/l der HM konnten insgesamt Daten von 36 Regenbogenforellen und je 10 Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen verglichen werden. Der einzige signifikante Unterschied trat dabei in der Anflutungszeit auf, die bei den Forellen im Durchschnitt 8,66 Minuten betrug im Vergleich zu den Koikarpfen und Buntbarschen mit 11,27 bzw. 11,85 Minuten. Die Aufwachzeiten lagen bei den drei Arten im Bereich von etwa 22 bis 24 Minuten und auch die meist schwache OP-Toleranz unterschied sich nicht maßgeblich. Die Häufigkeit von Exzitationen variierte zwischen den Fischarten und der Anflutungs- und Aufwachzeit enorm und war deshalb nicht vergleichbar. Da bei allen drei Fischarten mit dieser Dosis keine überwiegend ideale Narkosetoleranz erreichbar war, kann sie nicht als allgemein gültige Dosis für mehrere Fischarten dienen.

Bei 0,8 ml HM/l wurden Narkosen von 37 Koikarpfen, 11 Forellen und 38 Buntbarschen ausgewertet. Die Anflutungszeiten von 7,99 (Koi), 6,14 (Forellen) und 6,71 (Buntbarsche) Minuten unterschieden sich statistisch zwar signifikant, waren aber insgesamt akzeptabel, da sie unter 10 Minuten blieben. Die Aufwachzeiten von Koi und Buntbarschen waren mit durchschnittlich 21,78 bzw. 23,04 Minuten ähnlich, die Forellen brauchten mit 36,1 Minuten dagegen deutlich länger. Da bei ihnen außerdem sowohl die Anflutung als auch die Aufwachphase überwiegend von Exzitationen begleitet war, bei den beiden anderen Arten jedoch sehr ruhig verlief, ist diese Dosis für die Forellen nicht zu empfehlen. Bei Koikarpfen und Kaiserbuntbarsch hat sie jedoch bei einem Narkosemilieu nahe an den jeweiligen Haltungsbedingungen vergleichbar gute Wirksamkeit.

Bei 10 Koikarpfen und 10 Kaiserbuntbarschen kam die Dosis von 1,0 ml HM/l zum Einsatz. Anflutungs-, Aufwachzeit und OP-Toleranz wiesen keine signifikanten Unterschiede auf. Da die Koikarpfen jedoch zu 90% Exzitationen in der Einleitungsphase erlitten, sollte bei dieser Fischart die niedrigere Dosis von 0,8 ml HM/l gewählt werden. Die Kaiserbuntbarsche reagierten weniger empfindlich auf die hohe Dosierung.

Mit 70mg MS 222/l wurden 27 Koikarpfen und 26 Regenbogenforellen narkotisiert. Bei diesen Fischarten unterschieden sich die Mittelwerte der Anflutungs- und Aufwachzeit signifikant. Die Induktion dauerte bei den Forellen etwa 5,98 Minuten, bei den Koi 8,38 Minuten. Wach waren die Forellen nach circa 8,05 Minuten, während die Koi mit 14,65 Minuten fast doppelt so lange brauchten. 16 von 26 Forellen erreichten ein ideales Narkosestadium, bei den Koi nur 13 von 27. Auch auf dieses Narkotikum reagierten die meisten Forellen in der Anflutung mit Exzitationen (23 von 26), bei den Koi war dies bei 14 von 27 Tieren (51,9%) der Fall. In der Aufwachphase zeigten die Forellen jedoch mit nur einem Tier so wenig Exzitationen wie in keiner anderen Untersuchung innerhalb dieser Arbeit, die Koi wachten zu 62,9% (17 von 27 Tieren) ruhig auf. Aufgrund der bei mehr als der Hälfte der Koikarpfen unbefriedigenden OP-Toleranz ist MS 222 in einer Dosis von 70 mg/l nur bei den Forellen gegenüber der HM überlegen.

Trotz der jeweils kürzeren Anflutungszeit gegenüber den anderen beiden Arten wachten die Forellen nach 0,6 und 0,8ml HM/l nicht am schnellsten auf. Bei 0,6 ml/l brauchten sie mit durchschnittlich 24,08 Minuten zwar etwa gleichlang wie die Koi (24,15 Minuten; Buntbarsche 22,3 Minuten), nach 0,8 ml/l war diese Zeit mit 36,1 Minuten mehr als 10 Minuten länger als bei den Koi und Buntbarschen, obwohl diese sich länger im Narkosebad befanden, bis sie die gleiche Narkosetiefe zeigten. Die Forellen metabolisieren Ketamin und Xylazin offenbar anders im Vergleich zu Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen. Da bei den Säugetieren ebenfalls große Unterschiede in der Wirkung von Ketamin und vor allem Xylazin bestehen (EBERT et al., 2002), müssen auch bei Fischen stets unterschiedliche speziesspezifische Reaktionen erwartet werden.

### 5.3. Schlussbetrachtungen

In Kapitel 2.2.8 sind die von verschiedenen Autoren geforderten Eigenschaften zusammengefasst, die ein fiktives ideales Anästhetikum für Fische vereinen sollte. Anhand dieser Liste soll nun abschließend die Eignung der Hellabrunner Mischung zur Anwendung als Tauchbadnarkose bei Koikarpfen, Regenbogenforellen und Kaiserbuntbarschen beurteilt werden:

- schnelle Analgesie

Die Schmerzausschaltung wurde in dieser Arbeit nicht überprüft, aber für Ketamin und Xylazin ist die analgetische Wirkung beim Säugetier erwiesen (LÖSCHER et al., 2006).

- gute Immobilisation und Muskelrelaxation

Diese beiden Kriterien sind bei der HM von der gewählten Dosis abhängig und bei allen drei untersuchten Fischarten erreicht worden. Eine Ausnahme stellten die Forellen dar, bei denen die Ergebnisse mit der HM bezüglich der erreichbaren Immobilisation nicht voll zufriedenstellend waren.

- Bewusstlosigkeit und Sedation steuerbar in Relation zur Dosis

Soweit die Bewusstseinslage von Fischen beurteilt werden kann, erfüllte die HM die Anforderungen. Denn mit steigender Dosis ließ sich bei allen Fischarten eine stärker werdende Beruhigung auslösen. Für den Begriff der Sedation trifft dies auch auf die Forellen zu, eine höhere OP-Toleranz bei der Mehrzahl der Fische ohne gehäuftes Auftreten von Exzitationen war allerdings bei dieser Fischart nicht zu erreichen.

- keine depressive Wirkung auf das respiratorische und kardiovaskuläre System

Solange die Tiere im Narkosebad in Kontakt mit der HM waren, wurden keine depressiven Wirkungen auf die Atmung beobachtet. Alle Fische atmeten auch im Aufwachbecken sofort regelmäßig weiter, Hilfsmaßnahmen wurden nie benötigt, mit Ausnahme einer Forelle bei der Dosis 0,8 ml/l. Mit einem einzigen Zwischenfall bei insgesamt 182 Narkosen macht dies einen Prozentsatz von 0,55 aus. Wirkungen auf das kardiovaskuläre System wurden nicht untersucht, OSWALD (1977) erfasste jedoch EKGs bei Regenbogenforellen nach getrennter Xylazin- und Ketamininjektion. Das Xylazin bewirkte dabei eine Veränderung der Dauer von P-, QRS- und T-Intervall, der Rhythmus blieb insgesamt jedoch gleichmäßig. Ketamin zeigte keinerlei Auswirkungen auf das Elektrokardiogramm.

- einfach anzuwenden

Herstellung und Dosierung der HM sind besonders einfach, da es sich um eine Flüssigkeit handelt. Jede beliebige Menge kann mit herkömmlichen Einwegspritzen abgemessen werden, ein besonderer apparativer Aufwand ist nicht nötig.

- kurze Einleitungsphase

Bei allen drei Fischarten ließ sich mit der HM mindestens eine tiefe Sedation in weniger als 10 Minuten induzieren. Bei den Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen war in dieser Zeit sogar eine OP-Toleranz zu erzielen.

- schnelle, vorhersagbare und unkomplizierte Aufwachphase

Die Dauer der Aufwachphase war bei der HM speziesabhängig. Dennoch waren Koikarpfen, Regenbogenforellen und Kaiserbuntbarsche nach 20 bis 24 Minuten wieder wach. Bei den als optimal für die jeweilige Spezies bezeichneten Dosierungen kam es dabei zu keinerlei Zwischenfällen. Die Tiere wachten alle selbständig und unkompliziert auf, obwohl sie in der Aufwachphase durch Überprüfung der Reaktionen auf äußere Reize nicht völlig ungestört waren. Die HM erwies sich als sehr sicheres Fischanästhetikum.

- große therapeutische Breite

Um die therapeutische Breite der HM bei Fischen korrekt zu überprüfen, müsste die Letaldosis untersucht werden, was keinesfalls im Sinne dieser Arbeit ist. Da sich aber 181 Fische aus drei Arten in verschiedenen Entwicklungsstufen, die mit insgesamt 8 verschiedenen Dosierungen der HM behandelt wurden, auch Monate nach den Narkosen bester Gesundheit erfreuen, ist die gute Verträglichkeit der HM belegt.

- Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs bei Transporten und dabei Stressminderung

Es wurden keine Versuche zu länger andauernden Anästhesien mit der HM unternommen und auch keine Stressparameter untersucht. BRUECKER und GRAHAM (1993) stellten nach Injektionsanästhesien mit Ketaminhydrochlorid bei Zitronenbuntbarschen (*Heros / Cichlasoma citrinellum*) fest, dass danach der Sauerstoffverbrauch gegenüber den Kontrollen nur um 5% erhöht war, im Gegensatz zur Gruppe im Blindversuch, die einen um 75% erhöhten Sauerstoffverbrauch gegenüber den unbehandelten Kontrollen zeigte. Ketamin allein vermochte hier also den durch die Handhabung der Tiere ausgelösten erhöhten Sauerstoffverbrauch zu reduzieren. Durch die im Gegensatz zu MS 222 länger andauernde Wirkung, die sich in einer vergleichsweise protrahierten Aufwachphase äußerte, ist die HM möglicherweise zum Einsatz bei Transporten geeignet. Weiterführende Untersuchungen zu Langzeitnarkosen könnten hier Aufschluss geben.

- günstig in der Anschaffung

Ein Nachteil der HM sind die verhältnismäßig hohen Kosten von 6,23€ pro ml. Bei einer Dosis von 0,6 ml/l fallen 3,74€ pro Liter Narkoselösung an, bei 0,8 ml/l sogar 4,98€. Dafür ist die Anschaffung einfach, beide Komponenten sind in Deutschland im Handel verfügbar und gängige Tierarzneimittel. (Kosten MS 222 für 70mg/l: 0,15€/l; bei 116 mg/l: 0,24 € /l; alle Preise Stand August 2006 inklusive Mehrwertsteuer).

- wenig / keine Geweberückstände und damit Wartezeiten

Über Geweberückstände von Ketamin und Xylazin bei Fischen fehlen entsprechende Untersuchungen. Da beide Stoffe in der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs im Anhang II, Verzeichnis der Stoffe, für die keine Höchstmengen für Rückstände gelten, aufgelistet sind, müssen nach europäischem Recht keine Wartezeiten eingehalten werden. Bei Xylazinhydrochlorid gilt dies allerdings nur für Rinder und Equiden. Da in Deutschland aber keine Fertigarzneimittel mit diesen Wirkstoffen eine Zulassung für Fische besitzen, müssen diese nach dem deutschen AMG umgewidmet und deshalb Wartezeiten von 500 Tagesgraden veranschlagt werden.

- stabil und lagerfähig

Die angesetzte Lösung der HM zeichnet sich durch besondere Thermostabilität aus. Nach Aufbewahrung über 2 Jahre bei - 40° und + 40°C blieb die Mischung wirksam und wurde auch unter Einfluss von Luftsauerstoff nicht toxisch (GÖLTENBOTH, 1995; WIESNER, 2004).

- umweltfreundlich zu entsorgen

Für die Entsorgung der HM gelten die allgemein für Arzneimittel üblichen Vorschriften.

- sicher und ungefährlich in der Handhabung (nicht entzündlich / explosiv)

Von einer Lösung aus Ketaminhydrochlorid und Xylazinhydrochlorid gehen keine chemischen und physikalischen Gefahren aus.

- nicht toxisch

In therapeutischen Dosierungen wirken Ketamin und Xylazin nicht toxisch. Nebenwirkungen der beiden Substanzen werden bei der kombinierten Anwendung beim Säugetier neutralisiert (EBERT et al., 2002).

- gut wasserlöslich bei der Anwendung als Narkosebad

Sowohl Ketaminhydrochlorid als auch Xylazinhydrochlorid besitzen gute Wasserlöslichkeit. Da zur Herstellung der HM das Xylazin als Trockensubstanz mit dem bereits als wässrige Lösung vorliegenden Ketamin aufgelöst wird, ist die fertige Mischung ebenfalls problemlos wasserlöslich.

- nicht - schäumend, da dies die Kontrolle der zu betäubenden Fische erschwert und den Gashaushalt des Wassers beeinflusst

Schaumentwicklung wurde bei der Anwendung der HM im Narkosebad nicht beobachtet.

Es erfüllt bisher jedoch kein einziges bekanntes Fischanästhetikum all diese oben genannten Kriterien (STOSKOPF, 1993b). Bei der Hellabrunner Mischung kann noch nicht jeder der Punkte für Fische abschließend beantwortet werden, und die derzeit hohen Kosten sind zu berücksichtigen. Auch war bei den Forellen die Wirkung des Tricain der HM bezüglich der Anflutungs- und Aufwachzeiten überlegen. Dennoch erfüllt die HM viele der wichtigsten an ein zuverlässiges und sicheres Fischanästhetikum zu stellenden Ansprüche, besonders für Koikarpfen und Kaiserbuntbarsche, vor allem da bei letzteren die Wirkung des Tricain nur unzulänglich war.

## 6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde eine Kombination aus Ketamin- und Xylazinhydrochlorid („Hellabrunner Mischung“ - HM; 1ml enthält etwa 100mg Ketamin und 125mg Xylazin) auf ihre Eignung zur Anwendung als Tauchbadnarkose bei Fischen untersucht. Beide Grundsubstanzen sind in Deutschland zur Anwendung bei Lebensmittel liefernden Tieren zugelassen. Die Wirksamkeit der HM wurde bei Koikarpfen (*Cyprinus carpio*), Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) und Kaiserbuntbarschen (*Aulonocara stuartgrantii*) überprüft und anschließend mit dem bei Fischen üblicherweise verwendeten Narkosemittel MS 222 (Tricain) verglichen.

Zur Ermittlung einer geeigneten Dosierung der HM wurden in Vorversuchen bei allen drei Fischarten die Parameter Anflutungszeit, Aufwachzeit, erreichte Narkosetiefe und die Häufigkeit von Exzitationen in der Anflutungs- und Aufwachphase bei verschiedenen Konzentrationen der HM im Narkosebad herangezogen. Die so für die Fischarten getrennt als optimal erkannte Dosis wurde in den Hauptversuchen bei 26 - 28 Tieren pro Fischart im Vergleich mit einer Standarddosis von MS 222 eingesetzt. Dabei wurde die eine Hälfte der Fische zunächst mit HM betäubt, die andere mit MS 222. Nach einer zweiwöchigen Ruhepause wurden die Untergruppen mit dem jeweils anderen Narkosemittel behandelt, sodass alle Fische je einmal mit der HM und einmal mit MS 222 untersucht werden konnten. Die Temperatur des Narkosebads war dabei den jeweiligen Haltungsansprüchen der Fischarten angepasst und daher unterschiedlich für Koikarpfen (20°C), Regenbogenforellen (10°C) und Kaiserbuntbarsche (25°C). Als ideale Dosis der HM für Forellen wurden 0,6 ml/l Wasser beurteilt, bei den Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen jeweils 0,8 ml/l.

In den Hauptversuchen ließ sich mit diesen Konzentrationen bei allen drei Fischarten eine Induktion in weniger als 10 Minuten erreichen (6-9 Minuten), die Aufwachzeit dauerte einheitlich etwa 20 bis 24 Minuten. Außer bei den Forellen konnten auch tiefe Narkosestadien provoziert werden. Während der Anflutungsphase traten bei Kaiserbuntbarschen und Koikarpfen selten Erregungszustände, meist nur in Form von spuckenden Maulbewegungen, auf. Bei diesen beiden Fischarten verlief die Aufwachphase überwiegend ruhig. Die Forellen waren in der Einleitungsphase zu 92,3% verhaltensauffällig und in der Aufwachphase zu 57,7%.

Die Narkosen mit MS 222 verliefen bei den Fischarten verschieden. Mit der als mittlere Standard geltenden Dosis von 70 mg/l Wasser war bei den Kaiserbuntbarschen keine eindeutige Wirkung zu erreichen. Bei ihnen wurde deshalb die Dosis auf 116mg MS 222 /l erhöht. Die Induktion verlief mit 70mg MS 222 /l bei den Koikarpfen etwa gleichlang, bei den Forellen signifikant kürzer und bei den Buntbarschen mit 116mg MS 222 /l wesentlich länger als mit der HM. Alle drei Fischarten waren nach MS 222 schneller wach als nach der HM, die Buntbarsche hatten jedoch zuvor trotz der erhöhten Dosis in keinem Fall eine OP-Toleranz erreicht. Die Häufigkeit von Exzitationen war unter MS 222 insgesamt deutlich höher mit Ausnahme der Aufwachphase der Forellen.

Bei den Forellen war der Einsatz der HM zwar möglich, mit MS 222 in der Dosis 70 mg/l ließ sich eine Narkose bei dieser Fischart allerdings besser einschätzen und verlief wesentlich schneller. Bei den Koikarpfen und Kaiserbuntbarschen hingegen erwies sich die HM als sicher anzuwendendes Anästhetikum. Bei diesen beiden Spezies fiel die Beurteilung des erreichten Narkosestadiums mit der HM sogar leichter als unter MS 222. Bei den Kaiserbuntbarschen war die Wirkung des MS 222 völlig unzulänglich. Mit der HM dagegen konnten tiefe Narkosen, aus denen alle Tiere komplikationslos erwachten, erzielt werden.

Speziesabhängig stellt die „Hellabrunner Mischung“ eine effektive und sichere Alternative zu herkömmlichen Tauchbadanästhetika dar.

## 7. Summary

### **Hellabrunn mixture in comparison with MS 222 as immersion bath anaesthesia in different fish**

In this study a combination of ketamine- and xylazinehydrochloride (Hellabrunn mixture - HM; 1ml contains approximately 100mg ketamine and 125mg xylazine) was examined to find out if it is suitable to be applied in immersion bath anaesthesia. Both substances are registered for use in food animals in Europe. The effectiveness of this combination was tested on koicarp (*Cyprinus carpio*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and flavescent peacock (*Aulonocara stuartgrantii*) and afterwards compared with the commonly applied anaesthetic MS 222 (active substance: tricaine methane sulphonate).

To establish a suitable dose of HM the parameters induction time, recovery time, the achieved stage of anaesthesia, and the frequency of exzitative behaviour were measured during previous trials. The dose that was found to be working best in a fish species was then used with 26 to 28 animals in the main trials and afterwards compared with a standard dose of MS 222. This was done by first anesthetizing half of the group of each species with HM and the other half with MS 222. After a recovery period of 14 days both parts of the group were vice versa treated with the corresponding anaesthetic agent. This meant that each fish of all the three species was finally treated with both anaesthetics, HM and MS 222 and that there was a total number of anaesthetic protocols of 26 to 28 for each anaesthetic agent. The temperature of the immersion bath was always adapted to the physiological habitat of the fish, so that the temperature was different with koicarp (20°C), rainbow trout (10°C) and flavescent peacock (25°C). For rainbow trout a dose of 0.6 ml HM per litre proved to be ideally suited for this species as well as a dose of 0.8 ml HM/l for both koicarp and flavescent peacock.

With these doses it was possible during the main trials to induce anaesthesia in less than 10 minutes (6-9 minutes) while recovery took 20 to 24 minutes. Excluding rainbow trout even deeper stages of anaesthesia could be provoked. During the induction period exzitative behaviour was almost never seen in koicarp and flavescent peacock unless some subtle changes of respiratory movements and ventilation rate. In both species recovery took place uneventfully. 92,3% of the rainbow trout showed abnormal behaviour during induction and so did 57,7% of them during recovery.

Anaesthesia with MS 222 was different in the course with the three species. Flavescent peacock did not show any response to the standard dose of 70mg MS 222/l. For this reason the dose was increased with this species to 116mg MS 222/l. With 70mg MS 222/l in koicarp induction time was the same as with HM. It was significantly shorter in rainbow trout and with 116 mg/l much longer in flavescent peacock in comparison to HM. All the three species did awake more rapidly after anaesthesia with MS 222 than with HM with the flavescent peacock never having reached any anaesthetic stage. Exzitative behaviour was observed more frequently under MS 222 excluding the induction period of rainbow trout.

Application of HM in rainbow trout is possible, but with 70mg MS 222/l anaesthesia in this species is easier to control and more rapidly in its course.

In koicarp and flavescent peacock HM proved to be an anaesthetic easy to apply and safe. In both species the monitoring of the achieved anaesthetic stages was even easier with HM than with MS 222. In the flavescent peacock MS 222 was completely ineffective. In contrast using HM it was possible to induce even deeper stages of anaesthesia from which they recovered without any complications.

Depending on the species HM is an effective and safe alternative to conventional immersion bath anaesthetics.

Christina Geiger, Munich 2007

## 8. Literaturverzeichnis

1. ADAMS HA, WERNER C (1997):  
Vom Razemat zum Eutomer: (S)- Ketamin, Renaissance einer Substanz?, *Anaesthesist* **46**,1026-1042
2. AHNE W (1986):  
Grundriß der Zoologie für Tiermediziner, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
3. ALLEN JL, HUNN JB (1986):  
Fate and distribution studies of some drugs used in aquaculture. *Vet Hum Toxicol.*; **28**, 21-24
4. ALPHARMA ANIMAL HEALTH Ltd (2001).:  
Technical Bulletin 5/2001 revised 9/01. MS222 (tricaine methane sulphonate)
5. AMIYA N, AMANO M, TAKAHASHI A, YAMAMONE T, KAWAUCHI H, YAMAMORI K (2005):  
Effects of tank color on melanin-concentrating hormone levels in brain, pituitary gland, and plasma of the barfin flounder as revealed by a newly developed time-resolved fluorimmunoassay. *Gen Comp Endocrinol.*, **143**, 251-256
6. ANDERSON WG, MCKINLEY RS, COLAVECCHIA M (1997):  
The Use of Clove Oil as an Anesthetic for Rainbow Trout and Its Effects on Swimming Performance, *North Am J of Fisheries Management*, **17**, 301-307
7. ANDREWS JC, JONES RT (1990):  
A method for the transport of sharks for captivity. *J.Aquaricult.Aquat.Sci.*, **5**, 70-72
8. AQUI-S NEW ZEALAND LTD (undatiert):  
Aqui-S Product Information, <http://www.aqui-s.com>
9. AUPERIN B, GOARDON L, QUEMENEUR A, THOMAS JL, AUBIN J, VALOTAIRE C, ROUGER Y, MASSE G (1998):  
Preliminary study on the use of Aqui-S as anesthetic for handling and sampling of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*). *Bull.Fr.Peche Piscic.***71**, 291-301
10. BAUR WH, RAPP J (2003):  
Gesunde Fische, Parey Buchverlag, Berlin, 2.Aufl.
11. BELL GR (1987):  
An Outline of Anesthetics and Anesthesia for Salmonids, a Guide for Fish Culturists in British Columbia, *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, **1534**, 16
12. BERNOTH EM (1990):  
Zulassung von Fischarzneimitteln- Status Praesens und Ausblick in die Zukunft. *Bundesgesundheitsblatt* **1/90**; 10-11
13. BERNSTEIN PS, DIGRE KB, CREEL DJ (1997):  
Retinal toxicity associated with occupational exposure to the fish anesthetic MS-222, *Am J Ophthalmol.*; **124**, 843-844
14. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV).  
Grundsätze einer neuen Fischereipolitik des BMELV, Stand: Oktober 2003, [www.bml.de](http://www.bml.de), 2005
15. BONATH K (1977):  
Narkose der Reptilien, Amphibien und Fische. Schriftenreihe Versuchstierkunde 4., Verlag P. Parey, Berlin und Hamburg
16. BONATH K (1982):  
Tauchbadnarkose bei Fischen. Verhandlungsber. Erkrankungen d. Zootiere, *Veszprem*, **24**, 157-171, Akad. Verl., Berlin

17. BOWSER PR (2001):  
Anesthetic options for fish, In: Gleed RD, Ludders JW. Recent advances in veterinary anesthesia and analgesia: Companion animals, available on-line at: [www.ivis.org](http://www.ivis.org). Document No. A1412.0701
18. BRETZINGER C (2001):  
Einfluss unterschiedlicher Betäubungsmethoden auf Stressbelastung und Produktqualität bei der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Vet.Med.Diss., München
19. BROWN L (1987):  
Recirculation anaesthesia for laboratory fish. Lab.anim.; **21**, 210-215
20. BROWN L (1988):  
Anesthesia in fish. Tropical fish medicine. Vet.Clin.North Am.Small Anim. Practice **18**, 317-330, WB Saunders, Philadelphia
21. BROWN L (1993a):  
Aquaculture for Veterinarians. Pergamon Press, Oxford, New York, Seoul, Tokyo
22. BROWN L (1993b):  
Anesthesia and Restraint, In: Stoskopf MK. Fish Medicine, WB Saunders, Philadelphia
23. BRUECKER P, GRAHAM M (1993):  
The effects of the anesthetic Ketamine hydrochloride on oxygen consumption rates and behaviour in the fish Heros (*Cichlasoma citrinellum*) (Günther, 1864), Comp. Biochem. Physiol.C, **104**, 57-59
24. CULLEN KD, MARTIN RJ (1982):  
Dissimilar influences of some injectable anaesthetics on the responses of reticulo-spinal neurones to inhibitory transmitters in the lamprey. Br J Pharmacology, **77**, 493-504
25. DAVIDSON GW, DAVIE PS, YOUNG G, FOWLER RT (2000):  
Physiological responses of Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* to Crowding and Anesthesia with AQUI-S, Journal of the World Aquaculture Society, **31**, 105-114
26. DÖCKE F (2000):  
Stress, In: Wiesner E, Ribbeck R. Lexikon der Veterinärmedizin, Enke Verlag Stuttgart
27. DUNN RF (1990):  
Anesthetics in elasmobranchs. A review with emphasis on halothane – oxygen - nitrous oxide. J.Aquaricult.Aquat. Sci.; **5**, 44-52
28. EBERT U, FREY HH, SCHULZ R (2002):  
Pharmakologie des zentralen Nervensystems, In: Frey HH, Löscher W. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, Enke Verlag, Stuttgart
29. ERDMANN C (1999):  
Schmerzempfinden und Leidensfähigkeit bei Fischen, Vet.Med.Diss., Hannover
30. ERHARDT W, HENKE J, HABERSTROH J (2004):  
Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen. Schattauer, Stuttgart, New York
31. FLEMING GJ, HEARD DJ, FRANCIS FLOYD R, RIGGS A (2003):  
Evaluation of propofol and medetomidine - ketamine for short term immobilization of Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotii*). J Zoo Wildl Med., **34**, 153-158
32. FOWLER ME (1993):  
Zoo- and Wild Animal Medicine, Current Therapy 3, Chapter 7, 29, WB Saunders Company, Philadelphia



33. FREY HH, LÖSCHER W (2002):  
Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 2.Aufl., Enke Verlag Stuttgart
34. GALL GAE, CRANDELL PA (1992):  
Rainbow trout, In: <http://www.fishbase.org>
35. GERSTMEIER R, ROMIG T (1998):  
Die Süßwasserfische Europas, Kosmos, Stuttgart
36. GILBERT PW, WOOD FG (1957):  
Method of Anesthetizing Large Sharks and Rays Safely and Rapidly. *Science*, **126**, 212
37. GILDERHUS PA, MARKING LL (1987):  
Comparative Efficacy of 16 Anesthetic Chemicals on Rainbow Trout, *North American Journal of Fisheries Management* **7**, 288-292
38. GINGERICH WH, DROTTAR KR (1989):  
Plasma Catecholamine Concentrations in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) at Rest and after Anesthesia and Surgery. *Gen Comp Endocrinol.*, **73**, 390-397
39. GÖLTENBOTH R (1995):  
Fische, In: Göldenboth R, Klös, HG. *Krankheiten der Zoo- und Wildtiere*, Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin
40. GRAHAM MS, IWAMA GK (1990):  
The physiologic effects of the anesthetic ketamine hydrochloride on two salmonid species. *Aquacult.*; **90**, 323-331
41. GREEN CJ, 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
42. GROS G (2000):  
Atmung bei Fischen, In: von Engelhardt W, Breves G. *Physiologie der Haustiere*, Enke Verlag, Stuttgart, 249-253
43. HARMS CA (1999):  
Anesthesia in Fish. In: Fowler ME, Miller RE. *Zoo and Wild Animal Medicine, Current Therapy 4*, WB Saunders, Philadelphia, 158-163
44. HARMS CA, BAKAL RS (1994):  
Techniques in fish anesthesia. *Proc. Am Assoc. Zoo Vet.*, Pittsburgh, **27**, 202-209
45. HARMS CA (2003):  
Fish. In: Fowler ME, Miller RE. *Zoo and Wild Animal Medicine*, 5<sup>th</sup> edition, Saunders, St.Louis
46. HARVEY B, DENNY C, KAISER S, YOUNG J (1988):  
Remote intramuscular injection of immobilising drugs into fish using a laser-aimed underwater dart gun. *Vet. Rec.* **122**, 174-177
47. HERKNER H (2001):  
Zierfische. In: Gabrisch K, Zwart P. *Krankheiten der Heimtiere*, Schlütersche, Hannover
48. HIKASA Y, TAKASE K, OGASAWARA T, OGASAWARA S (1986):  
Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in carp, *Cyprinus carpio*, *Jap.J.Vet.Sci.*, **48**, 341-351
49. HILL WG, MATHAI JC, GENSURE RH, ZEIDEL JD, APODACA G, SAENZ JP, KINNE-SAFFRAN E, KINNE R, ZEIDEL ML (2004):  
Permeabilities of teleost and elasmobranch gill apical membranes: evidence that lipid bilayers alone do not account for barrier function. *Am J Physiol Cell Physiol. C*, **287**, 235-242

50. HOEDT W (2004):  
Sonographie beim Koikarpfen (*Cyprinus carpio*), Vet Med Diss München
51. HOFFMANN RW (2005):  
Fischkrankheiten. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart
52. HOLLAND AJ (1973):  
Laboratory animal anaesthesia, Can Anaesth Soc J., **20**, 693-705
53. HORSBERG TE, BURKA JF, TASKER RAR (1999):  
Actions and pharmacokinetic properties of the alpha-2-adrenergic agent, medetomidine and atipamezole, in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J.Vet.Anesth., **26**, 18-22
54. HUNN JB, ALLEN JL (1974):  
Movement of drugs across the gills of fishes. Ann.Rev.Pharmac; **14**, 47-55
55. IMMERSTRAND C, NILSSON HM, LINDROTH M, SUNDQVIST T, MAGNUSSON KE, PETERSON KH(2004):  
Height changes associated with pigment aggregation in *Xenopus laevis melanophores*, Biosci Rep., **24**, 203-214
56. IWAMA GK, BOUTILIER RG, HEMING TA, RANDALL DJ, MAZEAUD M (1987):  
The effects of altering gill water flow on gas transfer in rainbow trout. Can J Zool, **65**, 2466-2470
57. IWAMA GK, McGEER JC, PAWLUK MP (1989):  
The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. Can J Zool, **67**, 2065-2073
58. JALANKA HH (1991):  
Medetomidine, Medetomidine-Ketamine combinations and Atipamezole in nondomestic mammals, Vet Med Diss Helsinki, Finland
59. JOLLY DW, MAWDESLEY-THOMAS LE, BUCKE D (1972):  
Anaesthesia of Fish, Vet.Rec., **91**, 424-426
60. JONES RT, ANDREWS JC (1990):  
Hematologic and serum chemical effects of simulated transport on sandbar sharks, *Carcharhinus plumbeus* (Nardo). J.Aquaricult.Aquat.Sci., **5**, 95-100
61. KIDD RB, BANKS GD (1990):  
Anesthetizing lake trout with tricaine (MS-222) administered from a spray bottle. Progr.Fish Cultur., **52**, 272-273
62. KÖLLE P, HENKE J (2004):  
Fische, In: Erhardt W, Henke J, Haberstroh J. Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier, sowie bei Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen, Schattauer, Stuttgart
63. KOTTELAT M (1997):  
Common carp, In: <http://www.fishbase.org>
64. KREIBERG H (2000):  
Stress and Anesthesia. In: Ostrander GK. The Laboratory Fish, Academic Press, London, San Diego
65. LA TOUCHE YD, KIMELDORF DJ (1978):  
An effect of tricaine methanesulfonate on the electroretinogram of *Taricha granulosa*. Life Sci., **22**, 597-602
66. LECHLEITER S. Das schonende Töten von Fischen, Datz, 2006(6), **59**. Jahrgang, 12
67. LfL – Fischerei (Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft - Institut für Fischerei). Informationsblatt, 2004

68. LÖSCHER W (2006):  
Pharmaka mit Wirkung auf das Zentralnervensystem. In: Löscher W, Ungemach FR, Kroker R. Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, Parey Verlag Berlin
69. MACHIN KL (2001):  
Fish, amphibian, and reptile analgesia. Vet.Clin.North Am.Exot.Anim.Pract.; **4**, 19-33
70. MALINOVSKY JM, SERVIN F, COZIAN A, LEPAGE J-Y, PINAUD M (1996):  
Ketamine and norketamine plasma concentrations after i.v., nasal and rectal administration in children, Br J Anaesth **77**, 203-207
71. MARKING LL, MEYER FP (1985):  
Are Better Anesthetics Needed in Fisheries?, Fisheries, **10**, 2-5
72. 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
73. McDONALD MD, WOOD CM (2004):  
Evidence for facilitated diffusion of urea across the gill basolateral membrane of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Biochem Biophys Acta., **1663**, 89-96
74. McFARLAND WN (1959):  
A Study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes, Publ. Inst. Mar. Sci (Univ.Texas), **6**, 23-55
75. McFARLAND WN, KLONTZ GW (1969):  
Anesthesia in fishes, Fed.of Am.Societies for Experimental Biology, Fed.Proc.**28**, 1535-1540
76. METZ JR, PETERS JJ, FLIK G (2006):  
Molecular biology and physiology of the melanocortin system in fish: a review, Gen Comp Endocrinol; Epub ahead of print
77. MUIR WM (1993):  
Einführung in die Anästhesie, In: MuirWW, Hubbell JAE, Skarda RT. Veterinäranaesthetie, Schattauer, Stuttgart, New York, 210-213
78. NELSON JS (1984):  
Fishes of the World, John Wiley & Sons, New York, 2<sup>nd</sup> edition
79. NIEMINEN M, LAITINEN M, PASANEN P (1982):  
Effects of anaesthesia with Tricaine (MS 222) on the blood composition of the splake (*Salvelinus fontinalis* X *Salvelinus namaycush*). Comp.Biochem.Physiol.C ; **73**, 271-276
80. OETINGER FC (2003):  
Betäubung von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) mit Nelkenöl und BHA-Streßbelastung und Produktqualität, Vet.Med.Diss, München
81. OHR EA (1976):  
Tricaine methanesulfonate -I. pH and its effects on anaesthetic potency. Comp.Biochem.Physiol.**54C**, 13-17
82. OIDTMANN B, HOFFMANN R (2001):  
Schmerzen und Leiden bei Fischen, BMTW, **114**, 277-282
83. OLLENSCHLÄGER B, REICHENBACH-KLINKE HH (1979):  
"Schmerz" bei Süßwasserfischen, Fisch und Umwelt 7, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 33-38
84. OSTRANDER GK (2000):  
The Laboratory Fish. Academic Press, London, San Diego
85. OSWALD RL (1978):  
Injection Anaesthesia for experimental studies in fish, Comp.Biochem.Physiol.C, **60**,19-26

86. PAUL R (2001):  
Physiologie der Tiere: Systeme und Stoffwechsel, Thieme Verlag, Stuttgart
87. PÉNZES B (1980):  
Betäubung der Fische mit Sandoz MS-222 in der Praxis des Aquariums im Zoologischen Garten ( unter besonderer Hinsicht auf die Vorbeugung traumatischer Verletzungen). Zool. Garten; **50**, 33-39
88. PETERS G (1979):  
Zur Interpretation des Begriffs „Stress“ beim Fisch, Fisch und Umwelt 7, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 25-32
89. PETERS G (1988):  
Schmerz und Streß bei Fischen, Dtsch.tierärztl.Wschr.; **95**, 60-63
90. PICKERING AD, POTTINGER TG, CHRISTIE P (1982):  
Recovery of brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time-course study. J.Fish Biol., **20**, 229-244
91. REICHENBACH-KLINKE HH (1979):  
Die wesentlichen Parameter für das Erkennen einer Beeinträchtigung des Wohlbefindens des Fisches. Fisch und Umwelt 7, Gustav Fischer Verlag Stuttgart, 39-46
92. REICHENBACH-KLINKE HH (1980):  
Krankheiten und Schädigungen der Fische, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
93. RIEHL Dr.R, BAENSCH HA (1985):  
Aquarien Atlas, Mergus Verlag, Melle, 5.Aufl.
94. ROSS LG (2001):  
Restraint, anaesthesia and euthanasia. In: Wildgoose WH. BSAVA Manual of Ornamental Fish, 2<sup>nd</sup> ed., 75-83
95. RYAN S (1992):  
The dynamics of MS-222 anaesthesia in a marine teleost (*Pagrus auratus*: Sparidae). Comp.Biochem.Physiol.C, **101**, 593-600
96. SASAKI T, ANDOH T, WATANABE I, KAMIYA Y, ITOH H, HIGASHI T, MATSUURA T (2000):  
Nonstereoselective inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by ketamine isomers. Anesth.Analg.; **91**, 741-748
97. SCHAEFFER DO (1997):  
Anesthesia and Analgesia in Nontraditional Laboratory Animal Species, VI. Fish. In: Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ. Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals, Academic Press, San Diego
98. SCHÄPERCLAUS W (1990):  
Narkotika und Sedativa, In: Fischkrankheiten Teil1, Akademie-Verlag Berlin,
99. SEDGWICK CJ (1986):  
Anesthesia for Fish. Vet. Clin. North Am., Food Animal Practice, **2**, 737-740
100. SENG MÜLLER-SIEBER T (1995):  
Vergleichende Untersuchungen zur Stressbelastung und Produktqualität von Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Wels (*Silurus glanis*) und Flunder (*Platichthys flesus*) bei unterschiedlichen Betäubungsverfahren, Vet.Med.Diss., München
101. SKADHAUGE E (2000):  
Osmoregulation bei Fischen, In: von Engelhardt W, Breves G. Physiologie der Haustiere, Enke Verlag, Stuttgart, 287-288

102. SKARDA RT (1993):  
Anästhesietechniken bei Vögeln, Fischen, Reptilien, Amphibien, Nagern und exotischen Katzen, In: Muir WW, Hubbell JAE, Skarda RT. Veterinäranaesthesie, Schattauer, Stuttgart, New York, 210-213
103. SLADKY KK, SWANSON MK, STOSKOPF MR, LOOMIS MR, LEWBART GA (2001):  
Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). AM.J.Vet.Res. **62**, 337-342
104. SMIT GL, HATTINGH J (1979):  
Anaesthetic potency of MS 222 as studied in three freshwater fish species. Comp. Biochem. Physiol. C, **62**, 237-241
105. SMIT GL, HATTINGH J, BURGER AP (1979):  
Haematological assessment of the effects of the anaesthetic MS-222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: interspecies differences. J.Fish Biol.; **15**, 633-643
106. SMITH DA, SMITH SA, HOLLADAY SD (1999):  
Effect of previous exposure to tricaine methanesulfonate on time to anesthesia in hybrid tilapia. Journal of Aquatic Animal Health.; **11**, 183-186
107. SNEDDON LU (2003):  
The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. Applied Animal Behaviour Science **83**, 153-162
108. SNEDDON LU (2004):  
Evolution of nociception in vertebrates: comparative analysis of lower vertebrates. Brain Research Reviews **46**, 123-130
109. SNEDDON LU (2006):  
Ethics and welfare: pain perception in fish. Bull.Eur.Ass.Fish Pathol., **26**, 6-10
110. SNEDDON LU, BRAITHWAITE VA, GENTLE MJ (2003a):  
Do fishes have nociceptors? Evidence for the evolution of a vertebrate sensory system, Proc.R.Soc.Lond. B, **270**, 1115-1121
111. SNEDDON LU, BRAITHWAITE VA, GENTLE MJ (2003b):  
Novel object test: Examining nociception and fear in the rainbow trout, Journal of Pain, **4**, 431-440
112. SNYDER SB, RICHARD MJ, BERZINS IK, STAMPER MA (1998):  
Immobilization of sandtiger sharks (*Odontaspis taurus*) using medetomidine / ketamine. Proc.Int.Assoc.Aquatic Anim.Med., **29**, 120-121
113. SOIVIO A, NYHOLM K, HUHTI M (1977):  
Effects of anaesthesia with MS 222, neutralized MS 222 and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J.Fish Biol., **10**, 91-101
114. SOTO CG, BURHANUDDIN (1995):  
Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*), Aquaculture **136**, 149-152
115. STEHLY GR, GINGERICH WH (1999):  
Evaluation of Aquic-S (efficacy and minimum toxic concentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States, Aquaculture Research, **30**, 365-372
116. STETTER MD (2001):  
Fish and amphibian anaesthesia. Vet. Clin. North Am., Exotic Anim. Pract., **1**, 69-82
117. STORCH V, WELSCH U (2003):  
Kurzes Lehrbuch der Zoologie, Spektrum akademischer Verlag Heidelberg / Berlin, 7.Auflage

118. STOSKOPF MD (1990):  
Shark diagnostics and therapeutics: a short review. *J Aquaricult Aquat Sci*, **5**, 33-43
119. STOSKOPF MK (1993a):  
Fish medicine. WB Saunders, Philadelphia
120. STOSKOPF MK (1993b):  
Anaesthesia, In: Brown L. *Aquaculture for veterinarians*, Pergamon Press, Oxford
121. STOSKOPF MK (1994):  
Pain and analgesia in birds, reptiles, fish and amphibians. *Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.*; **35**, 775-780
122. STOSKOPF MK (1995):  
Anesthesia of pet fishes. In: Bonagura JD (Ed), *Kirk's Current Veterinary Therapy XII, Small Animal Practice*, WB Saunders, Philadelphia, 1365-1369
123. STUART NC (1981):  
Anaesthetics in fishes. *J Small Anim Pract*, **22**, 377-383
124. STUNKARD JA, MILLER JC (1974):  
An outline guide to general anesthesia in exotic species. *Veterinary medicine, small animal clinician: VM, SAC.*; **69**, 1181-1186
125. SYLVESTER JR (1975):  
Factors influencing the efficacy of MS-222 (an anaesthetic used topically to immobilize fish and other cold-blooded animals) to striped mullet (*Mugil cephalus*); *Aquaculture*; **6**, 163-169
126. TAKEI Y, LORETZ CA (2006):  
Chapter 8: Endocrinology, In: Evans DH, Claiborne JB. *The physiology of fishes*, 3<sup>rd</sup> ed., CRC Press, Boca Raton/ Florida, 85-118
127. TAYLOR PW, ROBERTS SD (1999):  
Clove Oil: An Alternative Anaesthetic for Aquaculture. *N. AM.J. Aquacult*, **61**, 150-155
128. UNGEMACH FR, KLUGE K (2006):  
Therapielücken und Therapienotstand bei der arzneilichen Versorgung von Tieren und Sonderregelungen für Pferde; In: Löscher W, Ungemach FR, Kroker R. *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*, Parey Verlag Berlin
129. VAN DER SALM AL, SPANINGS FA, GRESNIGT R, BONGA SE, FLIK G (2005):  
Background adaptation and water acidification affect pigmentation and stress physiology of tilapia, *Oreochromis mossambicus*, *Gen Comp Endocrinol*, **144**, 51-59
130. VAN DER SALM AL, PAVLIDIS M, FLIK G, WENDELAAR BONGA SE (2006):  
The acute stress response of red porgy, *Pagrus pagrus*, kept on a red or white background. *Gen Comp Endocrinol*; **145**, 247-253
131. WAGNER GN, SINGER TD, MCKINLEY RS (2003):  
The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture research*, **34**, 1139-1146, el.Medium
132. WESTERHÜS LU (2003):  
Untersuchungen zur Distanzimmobilisation von Wildequiden mit Romifidin und Tiletamin / Zolazepam unter Zoobedingungen, *Vet.Med.Diss.*, München
133. WIESNER H, VON HEGEL G (1985):  
Praktische Hinweise zur Immobilisation von Wild- und Zootieren, *Tierärztl. Praxis* **13**, 113-127
134. WIESNER H (1988):  
Anästhesie von Zoo- und Wildtieren, *Tierärztl.Umschau* **43**, 36-42

135. WIESNER H (1998):  
Tierschutzrelevante Neuentwicklungen zur Optimierung der Distanzimmobilisation,  
Tierärztl. Prax.; **26**(G), 225-233
136. 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, Schongau, 12.03.2004
137. WILLIAMS TD, CHRISTIANSEN J, NYGREN S (1993):  
A comparison of intramuscular anesthetics in teleosts and elasmobranchs.  
Proc.Int.Ass.Aquat. Anim.Med., **24**, 6
138. WILLIAMS TD, ROLLINS M, BLOCK BA (2004):  
Intramuscular anesthesia of bonito and Pacific mackerel with ketamine and  
medetomidine and reversal of anesthesia with atipamezol. Journal of the American  
Veterinary Association.; **225**, 417-421
139. YAMAMURA T, HARADA K, OKAMURA A, KEMMOTSU O (1990):  
Is the site of action of ketamine anesthesia the N-methyl-D-aspartate receptor?  
Anesthesiology, **72**, 704-710

### 9. Danksagung

Hiermit möchte ich allen herzlich danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die Übernahme der Arbeit an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität in München und die Möglichkeit, einen Teil der Versuche in der Klinik für Fische und Reptilien der LMU durchführen zu können, möchte ich Herrn Prof. Dr. R. Hoffmann herzlich danken. Sein stets freundlicher fachlicher Rat war eine große Hilfe, die mir oft auch spontan zuteil wurde.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. H. Wiesner, der immer Zeit und ein offenes Ohr für meine Anliegen fand, für die Idee und die Überlassung dieses interessanten Themas, für die Ermöglichung der Durchführung sowie für die immer geduldige und kritische Unterstützung auch in schwierigen Phasen und die großzügige Bereitstellung von Mitteln.

Mit ihrer unermüdlichen Hilfe, ihrer Geduld und ihrer Fähigkeit zu motivieren und zu organisieren hat Frau Dr. C. Gohl wesentlich zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen, wofür ich ihr ganz herzlich danken möchte.

Bei Frau Dr. J. von Maltzan möchte ich mich für die vielen wertvollen methodischen und praktischen Ratschläge und ihre große Hilfsbereitschaft bei der Korrektur der Arbeit besonders bedanken.

Dem Personal des Aquariums und vielen Mitarbeitern des Tierparks Hellabrunn gebührt mein besonderer Dank, allen voran Herrn F. Müller. Geduldig nahmen sie die zusätzliche Belastung auf sich und ihre jahrelange Erfahrung sowie die tatkräftige praktische Unterstützung machten die erfolgreiche Durchführung der Versuche erst möglich.

Ebenso danke ich den Mitarbeitern der Klinik für Fische und Reptilien der LMU für die Betreuung der Tiere und die stets pünktliche und zuverlässige Bereitstellung von Labormaterialien und die freundliche Unterstützung im Umgang mit diesen. Ich danke auch meinen ehemaligen Kommilitonen und Freunden an diesem Institut, die mich fachlich und vor allem seelisch immer unterstützt haben.

Herrn Prof. Dr. H. Küchenhoff aus dem Statistischen Institut der LMU sowie besonders Frau N. Fenske vom Statistischen Beratungslabor der LMU möchte ich für die geduldige Unterstützung bei der zeitaufwendigen Erstellung der Statistiken danken.

Meinen Eltern, die immer für mich da waren, gilt unendlicher Dank für ihre stete Hilfsbereitschaft und Aufmunterung auch in Krisenzeiten und nicht zuletzt für ihre großzügige finanzielle Unterstützung, die mir die Anfertigung dieser Arbeit erst erlaubte.

Auch meiner Schwester Julia möchte ich danken für den Austausch in Computerfragen und vor allem für die wochenlange Überlassung ihrer Wohnung.