

**Zuständige nationale Behörden zur Umsetzung der Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere
Berichtigung vom 24. Januar 2013
Arbeitspapier zu genetisch veränderten Tieren
Brüssel, 23.-24. Januar 2013**

**Deutsche Übersetzung mit Erläuterungen und Empfehlungen des Workshops „Dokumentation und Veröffentlichung der Belastungseinstufung genetisch veränderter Versuchstiere“
am Bundesinstitut für Risikobewertung
Berlin, 20. - 21. Juni 2013**

Die Europäische Kommission etablierte zwei Experten-Arbeitsgruppen (Expert Working Groups – EWG, EWG zur Entwicklung eines gemeinsamen Formats für die Versuchstiermeldung und EWG für die Bewertung der Schweregrade von Verfahren), um die Umsetzung der Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere zu erleichtern. Alle Mitgliedsstaaten und großen Stakeholder Organisationen wurden aufgefordert, Experten zur Teilnahme an den Arbeitsgruppen zu benennen.

Die EWG für die Versuchstiermeldung kam im Jahr 2011 mehrmals zusammen. Während der Arbeitstreffen wurde klar, dass Unklarheiten darüber bestanden, wie genetisch veränderte Tiere zu berücksichtigen sind. Um einige der Fragestellungen zu klären, konzentrierte sich die EWG zur Beurteilung der Schweregrade bei ihrer ersten Zusammenkunft im Dezember 2011 auf genetisch veränderte Tiere.

In dem vorliegenden Arbeitspapier wird der Konsens auf EU-Ebene beschrieben, der bezüglich des Genehmigungsvorbehalts genetisch veränderter Tiere und deren Meldung erreicht wurde. Das Arbeitspapier ist das Ergebnis der Zusammenarbeit beider EWGs, der Diskussion mit den Mitgliedsstaaten sowie Beiträgen der Kommission zu rechtlichen Fragen. Der Konsens wurde von den nationalen zuständigen Behörden zur Umsetzung der Richtlinie 2010/63/EU bei deren Treffen vom 22. – 23. März 2012 befürwortet, der Anhang zur Einschätzung der Belastung genetisch veränderter Tiere wurde beim Treffen am 11. und 12. Juli 2012 bestätigt. Eine Berichtigung des Anhangs wurde am 24. Januar 2013 befürwortet.

Haftungsausschluss der zuständigen nationalen Behörden:

Der folgende Text stellt eine Hilfe dar, um Mitgliedsstaaten und anderen Parteien, die von der Richtlinie betroffen sind, ein gemeinsames Verständnis über die Anforderungen der Richtlinie zu vermitteln. Alle Aussagen sollten im Kontext der Richtlinie EU2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere gesehen werden.

Nur der Gerichtshof der Europäischen Union ist befugt, EU-Gesetzgebung rechtsverbindlich auszulegen.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat vom 20. bis zum 21. Juni 2013 einen Workshop über die „Dokumentation und Veröffentlichung der Belastungseinstufung für Mauslinien“ abgehalten. Dabei wurde das „Arbeitspapier zu genetisch veränderten Tieren“ ins Deutsche übersetzt und um Erläuterungen und Empfehlungen ergänzt. Diese Ergänzungen des BfR-Workshops wurden in erkennbarer Weise (schattiert) in das Arbeitspapier eingefügt.

Wichtige Artikel der Richtlinie 2010/63/EU

- **Artikel 1(2)** „Das Ausschalten von Schmerzen, Leiden, Ängsten oder dauerhaften Schäden durch die erfolgreiche Anwendung von Betäubungsmitteln, Schmerzmitteln oder anderen Methoden schließt die Verwendung eines Tieres in Verfahren nicht aus dem Geltungsbereich dieser Richtlinie aus.“
- **Artikel 3(1)** „Verfahren meint jede invasive oder nicht invasive Verwendung eines Tieres zu Versuchszwecken oder anderen wissenschaftlichen Zwecken mit bekanntem oder unbekanntem Ausgang, oder zu Ausbildungszwecken, die bei dem Tier Schmerzen, Leiden, Ängste oder dauerhafte Schäden in einem Ausmaß verursachen kann, das dem eines Kanüleneinstichs gemäß guter tierärztlicher Praxis gleichkommt oder darüber hinausgeht.“

Dies schließt alle Eingriffe ein, die dazu führen sollen oder können, dass ein Tier in einem solchen Zustand geboren oder ausgebrütet oder eine genetisch veränderte Tierlinie in einem solchen Zustand geschaffen und erhalten wird, schließt jedoch das Töten von Tieren allein zum Zwecke der Verwendung ihrer Organe oder Gewebe aus.“

- **Artikel 4(3)** „Die Mitgliedstaaten gewährleisten, dass die Zucht, Unterbringung und Pflege sowie die Methoden, die in Verfahren angewandt werden, verbessert werden, damit mögliche Schmerzen, Leiden, Ängste oder dauerhafte Schäden ausgeschaltet oder auf ein Minimum reduziert werden.“
- **Artikel 17(1)** „Ein Verfahren gilt als beendet, wenn keine weiteren Beobachtungen mehr für das Verfahren anzustellen sind oder wenn bei genetisch veränderten, neuen Tierlinien an der Nachkommenschaft keine weiteren Beobachtungen mehr anzustellen sind oder nicht mehr erwartet wird, dass diese Schmerzen, Leiden oder Ängste empfindet oder dauerhafte Schäden erleidet, die denen eines Kanüleneinstichs gleichkommen oder darüber hinausgehen.“

Allgemeiner Hintergrund

Für die Zwecke der Richtlinie 2010/63/EU schließt der Begriff „genetisch veränderte Tiere“ gemäß Artikel 3 (1) sowohl gentechnisch veränderte Tiere (transgen, knock-out und andere Formen der gentechnischen Veränderung) als auch natürlich entstandene oder induzierte Mutanten ein.

Ein Tier mit einem belastenden Phänotyp muss gemäß der Anforderungen der Richtlinie und im Zusammenhang mit genetisch veränderten Tieren als ein Tier verstanden werden, welches als Konsequenz der genetischen Veränderung wahrscheinlich Schmerzen, Leiden oder Schäden erfährt, die einem Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis entsprechen oder darüber hinaus gehen.

Unter den Teilnehmern des BfR-Workshops besteht Konsens darüber, dass die Definition von genetisch veränderten Tieren lediglich auf einzelne Genorte und nicht auf das Gesamtgenom von Tieren abzielt. Folglich stellen Wildtyp-Tiere von üblichen In- oder Auszuchtstämmen oder Wildtyp-Tiere ohne standardisierten genetischen Hintergrund sowie rekombinante Inzuchtstämmen oder vergleichbare Varianten keine genetisch veränderten Tiere dar und unterliegen somit auch nicht dem tierschutzrechtlichen Genehmigungsvorbehalt für Zuchten.

Anforderungen an die Genehmigung von Projekten

Generierung:

Zur Generierung einer neuen genetisch veränderten Linie ist eine tierschutzrechtliche Genehmigung erforderlich bis zu dem Zeitpunkt, an dem die Linie als „etabliert“ gilt.

Unter den Teilnehmern des BfR-Workshops besteht Konsens darüber, dass die Erzeugung genetisch veränderter Tiere durch embryonale Manipulation (Transgenese, homologe Rekombination, Enzym-medierte Mutation, Transduktion, etc.) oder durch Bestrahlung oder die Behandlung mit mutagenen Substanzen genehmigungspflichtig ist. Neue genetisch veränderte Linien können auch durch Kreuzungen (z.B. zur Neukombination genetischer Veränderungen oder Rückkreuzung genetischer Veränderungen auf neue genetische Hintergründe) entstehen. Bei der Erzeugung neuer Linien durch Kreuzung liegt nur dann eine Genehmigungspflicht für die Zucht vor, wenn eine Belastung der Kreuzungsnachkommen zu erwarten ist. Beispielsweise ist die Rückkreuzung von rezessiven Knock-out Allelen auf einen neuen genetischen Hintergrund nicht genehmigungspflichtig, wenn keine homozygoten Genotypen erzeugt werden. Ein weiteres Beispiel stellt die Herstellung von induzierbaren Stammsystemen durch Kreuzung dar, die ebenfalls nicht der Genehmigungspflicht unterliegt, solange keine Induktion erfolgt.

Ein neuer Stamm oder eine neue Linie genetisch veränderter Tiere gilt als „etabliert“, wenn die Übertragung der genetischen Veränderung stabil erfolgt, wovon frühestens in der zweiten Zuchtgeneration ausgegangen werden kann und eine basale Belastungsbeurteilung gemäß der im Anhang aufgeführten Kriterien durchgeführt worden ist.

Unter den Teilnehmer des BfR-Workshops besteht Konsens darüber, dass im Fall von Kreuzungen ein neuer genetisch veränderter Stamm als etabliert gilt, wenn Tiere mit gewünschtem Genotyp auftreten und an diesen eine basale Belastungsbewertung abgeschlossen worden ist.

Erhaltung:

Die Nutzung von Tieren zum Erhalt etablierter Kolonien genetisch veränderter Linien mit einem wahrscheinlich belastenden Phänotyp erfordert eine tierschutzrechtliche Genehmigung. Allerdings sollte dies als Rahmengenutzungen (gemäß Artikel 40 (4) der Richtlinie 2010/63/EU) umgesetzt werden.

Die Nutzung von Tieren zur Erhaltung von etablierten Kolonien genetisch veränderter Linien ohne einen wahrscheinlich belastenden Phänotyp wird nicht als ein Verfahren angesehen und bedarf deshalb keiner tierschutzrechtlichen Genehmigung.

Unter den Teilnehmern des BfR-Workshops besteht Konsens darüber, dass eine Genehmigungspflicht nicht für Stämme besteht, bei denen entweder im Rahmen einer Belastungsbeurteilung keine Belastung gefunden worden ist oder bei denen aufgrund der Art der genetischen Veränderung keine Belastung zu erwarten ist (z.B. Reporterstämme, Cre-Stämme, Flox-Stämme).

Genetisch veränderte Linien, die eine spezifische, gezielte (nicht zufällige) Intervention benötigen, um die Genexpression zu induzieren (z.B. chemische Induktion, Verpaarung von Cre mit entsprechenden Lox Tieren), können bis zur Induktion der Genexpression als nicht belastet angesehen werden. Entsprechend bedarf deren Zucht keiner tierschutzrechtlichen Genehmigung.

Unter den Teilnehmern des BfR-Workshops besteht Konsens darüber, dass die Zucht von Cre- und Lox-Stämmen per se nicht genehmigungspflichtig ist, dass die Kreuzung solcher Stämme zur Erzeugung einer konditionalen Variante aber unter die Genehmigungspflicht fallen kann. Konditionale Stämme, bei denen das übliche Cre-Gen eingesetzt wird, stellen keine induzierbaren Systeme dar. Die Zucht von Cre / Lox Systemen, bei denen die Nachkommen belastet sein können (wie beispielsweise bei konditionalen Knock-out Tieren), unterliegt der tierschutzrechtlichen Genehmigungspflicht. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei der Herstellung konditionaler Systeme unter Verwendung von induzierbaren Cre-Formen wie CreER oder CrePR um induzierbare Systeme, deren Zucht nicht unter die Genehmigungspflicht fällt, solange keine Induktion erfolgt. Weiterhin besteht Konsens darüber, dass auch induzierbare Stämme, bei denen das System durch Gabe des Suppressors Tetracyclin über das Trinkwasser aus- und durch den Entzug des Suppressors eingeschaltet wird (sogenannte Tet-off Systeme), nicht der tierschutzrechtlichen Genehmigungspflicht unterliegen sollen, solange die Tiere den Suppressor zuverlässig erhalten.

Die Zucht von genetisch veränderten Linien, bei denen ein Restrisiko bestehen bleibt, einen belasteten Phänotyp zu entwickeln (z.B. Auftreten einer Krankheit oder von Tumoren mit dem Alter, Risiko einer Infektion infolge eines eingeschränkten Immunsystems), ist im Einklang mit Artikel 1(2) der Richtlinie 2010/63/EU unabhängig vom angewandten Refinement (z.B. Barrierenhaltung, Keulung im frühen Alter) tierschutzrechtlich genehmigungspflichtig, da die Anwendung des Refinements das Risiko nicht sicher eliminiert.

Die Teilnehmer des BfR-Workshops sind der Meinung, dass die Zucht ausschließlich immundefizienter Stämme keine tierschutzrechtliche Genehmigung erfordert, wenn - im Sinne des Refinements - die Belastung durch eine Haltung, die die Tiere vor pathogenen Keimen schützt, ausgeschlossen werden kann. Sie bewerten eine fehlende Berücksichtigung des Hygieneniveaus bei der tierschutzrechtlichen Bewertung der Zucht von immundefizienten Tieren als tierschutzrechtlich kritisch und sind der Meinung, dass ein adäquates Hygieneniveau sicher in Tierhaltungen gewährleistet werden kann. Sie schlagen deshalb eine Differenzierung des Genehmigungsvorbehalts immundefizienter Stämme in Abhängigkeit vom Hygienestatus der immundefizienten Zuchten vor. Die Teilnehmer des BfR-Workshops unterstützen die Ansicht, dass Stämme, die aufgrund einer genetischen Veränderung belastende Tumoren entwickeln, kategorisch (also auch in Fällen, in denen die Tumoren erst ab einem bestimmten Lebensalter auftreten) der Genehmigungspflicht unterliegen sollen. Solche Tumormodelle sollten durch induzierbare Modelle ersetzt werden.

Nota bene: Falls zu einem späteren Zeitpunkt gesundheitliche Probleme erkannt werden, muss geprüft werden, ob diese Probleme im Zusammenhang mit der genetischen Veränderung stehen. Falls ja, ist diese Linie als „belastender Phänotyp“ zu re-klassifizieren und das Projekt ist genehmigungspflichtig.

Nutzung:

Die Nutzung genetisch veränderter Tiere zur Durchführung von Eingriffen bedarf immer einer tierschutzrechtlichen Projektgenehmigung, unabhängig davon, ob diese Tiere einen belastenden Phänotyp aufweisen oder nicht.

Die Teilnehmer des BfR-Workshops weisen darauf hin, dass in Deutschland gemäß § 8a des Dritten Gesetzes zur Änderung des Tierschutzgesetzes vom 4. Juli 2013 (BGBl. I Nr. 36, 12. Juli 2013, S. 2182) gegebenenfalls auch Anzeigen von Tierversuchen möglich sind.

Meldung genetisch veränderter Tiere
--

- Genetisch veränderte Tiere sind zu melden,
 - a) wenn sie zur Generierung einer neuen Linie genutzt werden,
 - b) wenn sie im Rahmen einer tierschutzrechtlich genehmigten Zucht zur Erhaltung einer etablierten Linie benötigt werden und einen belastenden Phänotyp aufweisen oder
 - c) wenn sie für andere Verfahren genutzt werden (d.h. nicht zur Generierung oder Erhaltung einer Linie)

- Die **Generierung einer neuen genetisch veränderten Linie** bedarf der tierschutzrechtlichen Genehmigung bis zu dem Zeitpunkt, zu dem die Linie als „etabliert“ angesehen werden kann. Bei der Generierung einer neuen Linie sollten alle Tiere, die die genetische Veränderung tragen, gemeldet werden. Zusätzlich sind diejenigen Tiere, die zur Superovulation, Vasektomie oder Embryotransfer genutzt werden, zu melden (diese Tiere können selbst genetisch verändert sein, müssen es jedoch nicht). Nicht genetisch veränderte Tiere (Wildtyp-Nachkommen), die bei der Generierung einer neuen genetisch veränderten Linie entstehen, bedürfen keiner Meldung.

Die Teilnehmer des BfR-Workshops sind der Meinung, dass bei der Herstellung genetisch veränderter Tiere durch Kreuzung nur dann eine Tiermeldung erforderlich ist, wenn die Kreuzung einer tierschutzrechtlichen Genehmigung unterliegt (siehe dazu „Anforderungen an die Genehmigung von Projekten“ – „Generierung“) und es sich um Genotypen handelt, die zu einem belastenden Phänotyp führen können.

- In der Kategorie „Verwendungszweck“ sollten die Tiere, die zur Generierung einer neuen genetisch veränderten Linie genutzt worden sind, unter „Grundlagenforschung“ oder unter „translationale und angewandte Forschung“ (unter Benennung desjenigen Zwecks, zu dem die betreffende Linie generiert worden ist) gemeldet werden.

- **Ein neuer Stamm oder eine neue Linie genetisch veränderter Tiere gilt als „etabliert“**, wenn die Übertragung der genetischen Veränderung stabil ist, was ein Minimum von zwei Generationen in Anspruch nimmt, und wenn eine basale Beurteilung der möglichen Belastung gemäß der im Anhang spezifizierten Kriterien vorgenommen worden ist.

- Im Rahmen der Belastungsbeurteilung wird ermittelt, ob die neu geschaffene Linie einen wahrscheinlich belastenden Phänotyp aufweist. Ist dies der Fall, sind die Tiere von diesem Zeitpunkt an entweder unter der Kategorie „Erhaltung von Kolonien etablierter genetisch veränderter Tiere, die nicht in anderen Verfahren verwendet werden“ oder bei der Durchführung von Verfahren unter dem jeweiligen Zweck der Verfahren zu melden. Falls die Beurteilung ergibt, dass wahrscheinlich kein belastender Phänotyp vorliegt, stellt die Zucht der Linie kein Verfahren im Sinne der Richtlinie 2010/63/EU dar und es müssen keine Tiere gemeldet werden.

- Unter die Rubrik **„Erhaltung von Kolonien etablierter genetisch veränderter Tiere, die nicht in anderen Verfahren verwendet werden“** fallen diejenigen Tiere, die zur Erhaltung von Kolonien genetisch veränderter Linien mit einem wahrscheinlich belastenden Phänotyp notwendig sind und die tatsächlich Schmerzen, Leiden oder Schäden aufgrund des Phänotyps entwickeln. Der wissenschaftliche Zweck zu dem die Linie erhalten wird, wird bei der Meldung nicht berücksichtigt.

- **Alle genetisch veränderten Tiere, die in Verfahren verwendet werden** (nicht zur Generierung oder Erhaltung einer genetisch veränderten Linie) sollten unter dem entsprechenden Versuchszweck, zu dem die Eingriffe durchgeführt werden, gemeldet werden (auf dieselbe Weise wie die nicht genetisch veränderten Tiere). Diese Tiere können einen belastenden Phänotyp aufweisen, müssen es jedoch nicht.
- Genetisch veränderte Tiere, die einen belastenden Phänotyp aufweisen, und zum Zwecke der Organ- oder Gewebeentnahme getötet werden, sollten unter dem entsprechenden primären Zweck für die Organ- oder Gewebeentnahme gemeldet werden.

Anhang

Zentrale Elemente einer Belastungsbeurteilung von genetisch veränderten Nagern

Berücksichtigung von Tieren repräsentativer Altersgruppen

- kurz nach der Geburt, kurz nach dem Absetzen und erneut nach Eintritt der Geschlechtsreife*
- Berücksichtigung von mindestens 7 männlichen und 7 weiblichen Tieren von mehr als einem Wurf
- Datenmaterial von mindestens zwei Zuchtzyklen (ab F2)
- falls möglich, Vergleich zu ähnlichen, nicht genetisch veränderten Tieren

*sowie zu weiteren Zeitpunkten, die sich aus einer prospektiven Bewertung der potentiellen Auswirkung der genetischen Veränderung ergeben, wie beispielsweise bei dem altersabhängigen Beginn einer Erkrankung.

Unter den Teilnehmern des BfR-Workshops besteht Konsens darüber, dass für die Belastungsbeurteilung Tiere zu verwenden sind, die den gewünschten Genotyp haben.

Kriterien	zu beachtende Anzeichen
Allgemeine Erscheinung	Ist das Tier morphologisch „normal“? Liegen Missbildungen oder andere Indikatoren dafür vor, dass der Phänotyp beeinträchtigt ist? Beispielsweise Deformationen des Skelettes oder Hydrozephalus?
Körpergröße, Gestalt und Wachstum	Liegen Abweichungen von der zu erwartenden Körpergröße oder Wachstumsrate vor?
Zustand des Fells	Liegen Piloerektion, Bereiche mit Fellverlust, Verlust der Vibrissen oder Barbering vor? Sind Haut und Fell in einem guten Zustand?
Verhalten, Körperhaltung, Gangart, Aktivität und Interaktionen mit der Umgebung	Wird das komplette Verhaltensrepertoire, das für den jeweiligen Stamm / Spezies angemessen ist, ausgeübt – inklusive sozialer Interaktionen, Grooming, Gehen, Laufen, Graben und Klettern? Sind diese Verhaltensweisen normal? Hält sich das Tier gekrümmt oder vermeidet es, sich zu bewegen? Ist die Bewegungsfähigkeit eingeschränkt oder gibt es Orientierungsschwierigkeiten? Gibt es Anzeichen für Steifheit oder Zittern? Gibt es abnorme Aktivitätslevel? Anhaltende Inaktivität kann ein Indikator für chronischen Stress oder Depression (Anhedonie) und/oder Krankheit oder Schmerz sein, insbesondere im Zusammenhang mit gekrümmter Haltung und/oder rauem oder zerzaustem Fellkleid. Unübliche Aktivität, wie beispielsweise Hyperaktivität, kann ein Hinweis auf Stereotypien oder andere Verhaltensanomalien sein.
Klinische Symptome	Beispielsweise Nasen- oder Augenausfluss, geschwollene oder geschlossene Augen; erhöhte Atemfrequenz; Dyspnoe; Krampfanfälle/ Zuckungen/ Tremor; vermehrte Vokalisation beim Handling; überstehende Zähne; Vorhandensein von Tumoren, neurologische oder muskuloskelettale Anomalien. Ist der Metabolismus beeinträchtigt, beispielsweise erhöhte oder verminderte Futter- oder Wasseraufnahme, exzessiver Harnabsatz? Beschaffenheit der Fäzes.
Relative Körpergröße	Alle unüblichen Veränderungen der Körpergröße sollten erkannt und in Relation zum restlichen Wurf gesetzt werden. Die Anfertigung einer Wachstumskurve für die Linie kann hilfreich sein.

Tierzahlen	Beim Auftreten von Todesfällen ist eine akkurate Dokumentation von zentraler Bedeutung, so dass Verlusten vor und nach dem Absetzen nachgegangen werden kann. Sofern angebracht (beispielsweise bei einer unerwartet hohen Mortalität) sollten post mortem Untersuchungen durchgeführt werden, um die Todesursache zu klären. Zur Abschätzung, ob eine genetische Veränderung einen Einfluss hat, kann die Beurteilung der Fertilität hilfreich sein (beispielsweise Konzeptionsraten, Aborte und Totgeburten).
-------------------	---

Zusätzliche Kriterien zur Beurteilung neugeborener Tiere

Kriterien	zu beachtende Anzeichen
Farbe der Nachkommen (nur bei Neonaten)	Weisen die Nachkommen eine abnorme Hautfarbe auf (beispielsweise Anämie, schlechte Zirkulation)
Aktivität der Nachkommen (nur bei Neonaten)	Vorhandensein abnormer Aktivität, wie beispielsweise vermindertes „Zappeln“? Ist der Aufstell-Reflex vorhanden?
Milchflecken (nur bei Neonaten)	Ist der Milchfleck bei allen Jungtieren vorhanden? Gibt es Anzeichen mangelhafter mütterlicher Betreuung?
Würfe	Wurfgrößen, Homogenität der Würfe, Entwicklung und Wachstum der Nachkommen

Die Teilnehmer des BfR-Workshops sind der Meinung, dass die im Anhang der Arbeitsunterlage zur Belastungsbeurteilung aufgeführten Kriterien geeignet sind und umgesetzt werden sollen. Es wurden Vorschläge für geeignete Formblätter zur Erfassung der linienspezifischen Belastungen erstellt.