

# ZUCHT GENETISCH VERÄNDERTER TIERE

---

....mit belastetem Phänotyp

# Zucht genetisch veränderter Tiere

- Mit dem Inkrafttreten des neuen Tierschutzgesetzes am 12. Juli 2013 unterliegt die Zucht und Vorhaltung genetisch veränderter Tierlinien der Genehmigungspflicht,
  - wenn die Individuen dieser Linien auf Grund ihrer genetischen Veränderungen unter Umständen Schmerzen, Leiden oder Schäden erfahren können.
- Das gilt ebenso für
  - bereits bestehende belastete Linien
  - neu importierte/zu importierende belastete Linien
- Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) wurde beauftragt, Kriterien für die Anwendung und eine Belastungseinstufung zu erstellen.

# Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Versuchstiere

- Zweck:
  - einheitliche Kriterien definieren
  - Bundesweite Anerkennung der abschließenden Belastungsbeurteilung
- Basis:
  - Workshop des BfR 2013
  - Empfehlung der Expertenarbeitsgruppe der Europäischen Kommission
  - Arbeitskreis der Tierschutzbeauftragten in Oberbayern
- Grundsatz:
  - Nutzung von Tieren, die bereits vorhanden sind – keine gesonderte Zucht

# Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Versuchstiere

- Allgemeines:
  - Beurteilungs-/Beobachtungszeitraum: Geburt bis zu dem Zeitpunkt, an dem durch die genet. Veränderung keine Veränderungen mehr zu erwarten sind/ Ende des geplanten Versuchszeitraums
  - Anzahl zu beurteilender Tiere: pro Linie mind. 14 Individuen beiderlei Geschlechts aus unterschiedlichen Würfen – Ausnahme: geschlechtsspezifischer Phänotyp

# Zentrale Elemente der Belastungsbeurteilung

I

Kriterien	zu beachtende Anzeichen
<b>Allgemeine Erscheinung</b>	Ist das Tier morphologisch „normal“? Liegen Missbildungen oder andere Indikatoren dafür vor, dass der Phänotyp beeinträchtigt ist? Beispielsweise Deformationen des Skelettes oder Hydrozephalus?
<b>Körpergröße, Gestalt und Wachstum</b>	Liegen Abweichungen von der zu erwartenden Körpergröße oder Wachstumsrate vor?
<b>Zustand des Fells</b>	Liegen Piloerektion, Bereiche mit Fellverlust, Verlust der Vibrissen oder Barbering vor? Sind Haut und Fell in einem guten Zustand?
<b>Verhalten, Körperhaltung, Gangart, Aktivität und Interaktionen mit der Umgebung</b>	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.
<b>Klinische Symptome</b>	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.

# Zentrale Elemente der Belastungsbeurteilung

II

<b>Relative Körpergröße</b>	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.
<b>Tierzahlen</b>	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

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

# Beurteilung neugeborener Wurf

Haltungsort <sup>(1)</sup> :		Haltungsform <sup>(2)</sup> :	
Besitzer:		Herkunft <sup>(3)</sup> :	
Linie (internationale Bezeichnung): Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig! _____		Besonderheiten aktuell <sup>(4)</sup> : _____ _____ _____	
Linie (interne Bezeichnung):			
Bezeichnung des/r veränderten Gens/e:		Hintergrund d. Linie:	
Erwartete Eigenschaften: (kurze Beschreibung)			
Muttertier Nr.:	Vatertier Nr.:	Wurf geboren am:	Generation:
Anzahl geboren:	Datum der Beurteilung:	Beurteilende/r:	
<u>Farbe der Neugeborenen</u>	<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> Abweichungen (bitte angeben, z.B. blass)	
<u>Aktivität der Neugeborenen</u>	<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> Abweichungen (bitte angeben, z.B. auffallende Unruhe)	
<u>Größe, Entwicklung d. Neugeborenen</u>	<input type="checkbox"/> homogen	<input type="checkbox"/> inhomogen	Gewicht <input type="checkbox"/> normal <input type="checkbox"/> reduziert <input type="checkbox"/> gesteigert
<u>Milk Spot</u>	<input type="checkbox"/> vorhanden	<input type="checkbox"/> nicht vorhanden	
<u>Pflege durch das Muttertier</u>	<input type="checkbox"/> normal	<input type="checkbox"/> Abweichungen (bitte angeben, z.B. Vernachlässigung, Kannibalismus)	
<u>Sonstige Auffälligkeiten</u>			

# Beurteilung Wurf beim Absetzen

Haltungsort <sup>(1)</sup> :		Haltungsform <sup>(2)</sup> :					
Besitzer:		Herkunft <sup>(3)</sup> :					
Linie (internationale Bezeichnung): Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig! _____		Besonderheiten aktuell <sup>(4)</sup> : _____ _____ _____					
Linie (interne Bezeichnung):							
Bezeichnung des/r veränderten Gens/e:		Hintergrund d. Linie:					
Erwartete Eigenschaften: (kurze Beschreibung)							
Muttertier Nr.:		Vatertier Nr.:		Wurf geboren am:		Generation:	
Anzahl geboren:		Anzahl abgesetzt:		Differenz geboren/abgesetzt:			
<u>Tiernummer</u>							
<u>Absetzdatum</u>							
<u>Geschlecht</u>							
<u>Körpergewicht</u>							
<u>Auffälligkeiten</u> <sup>(5)</sup> <small>Bitte Buchstaben (siehe Fußnote) angeben!</small>							
<u>Tiernummer</u>							
<u>Absetzdatum</u>							
<u>Geschlecht</u>							
<u>Körpergewicht</u>							
<u>Auffälligkeiten</u> <sup>(5)</sup> <small>Bitte Buchstaben (siehe Fußnote) angeben!</small>							



# Beurteilung Einzeltier

<b>Linie (interne Bezeichnung):</b>	<b>Linie (internationale Bezeichnung):</b> Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig!	<b>Besitzer:</b>	<b>Halmesform:</b>
<b>Tier-Nr.:</b>	<b>aus Wurf vom:</b>	<b>Generation:</b>	<b>Geschlecht:</b>
			<b>Genotyp:</b>

**Bei Auffälligkeiten entsprechenden Buchstaben eintragen!  
(siehe Code am Fuß der Tabelle)**

**Die Auswahl mehrerer Auffälligkeiten ist möglich!**

Datum								
Unterschrift Beurteilende/r								
	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig
Ernährungszustand <sup>(1)</sup>								
Körperhaltung <sup>(2)</sup>								
Verhalten und Motorik <sup>(3)</sup>								
Fell und Körperöffnung <sup>(4)</sup>								
Reaktion auf Handling <sup>(5)</sup>								
Sonstiges <sup>(6)</sup>								
Gewicht (g)								

Datum								
Unterschrift Beurteilende/r								
	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig
Ernährungszustand <sup>(1)</sup>								
Körperhaltung <sup>(2)</sup>								
Verhalten und Motorik <sup>(3)</sup>								
Fell und Körperöffnung <sup>(4)</sup>								
Reaktion auf Handling <sup>(5)</sup>								
Sonstiges <sup>(6)</sup>								
Gewicht (g)								

<sup>(1)</sup> Ernährungszustand: a = abgemagert b = übergewichtig c = dehydriert	<sup>(4)</sup> Fell: a = gestäubt b = verschmutzt  Körperöffnungen: c = red tears d = Diarrhoe/Ausfluss	<sup>(6)</sup> Sonstiges a = Tumoren b = Entzündungen der Haut c = Verletzungen d = Kannibalismus e = Lautäußerungen f = Rektumprolaps g = anderes (bitte benennen)
<sup>(2)</sup> Körperhaltung: a = gekrümmt b = kauernad	<sup>(3)</sup> Reaktion auf Handling: a = aggressiv b = ängstlich c = teilnahmslos	
<sup>(3)</sup> Verhalten und Motorik: a = Absonderung b = apathisch c = Stereotypien d = Bewegung reduziert e = Lähmungen f = Krämpfe		

**Todesdatum und Besonderheiten bei Sektion:**

---



---



---



---

- erste Beurteilung im Alter von 2 Monaten, dann im Abstand von 3 Monaten

# Abschluss- beurteilung

Einrichtung und Adresse _____					
Straße: _____		PLZ: _____	Ort: _____		
Beurteilte Linie (internationale Bezeichnung): <small>Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig!</small>			Beurteilte Linie (interne Bezeichnung)		
Beschreibung der genetischen Veränderung(en) sofern noch nicht in Datenbanken beschrieben ist, was zur Belastungen führt.					
Haltungsform der beurteilten Tiere: _____					
Genorte und Genotyp: _____					
<u>Beurteilte Tiere</u>					
Anzahl: _____		davon weiblich: _____	und männlich: _____		
durchschnittlicher Untersuchungszeitraum (Wochen): _____		±Stabw.: _____			
durchschnittl. Anzahl Untersuchungen /Tier: _____		±Stabw.: _____			
Auffälligkeiten im Hinblick auf:	Aufgetreten:	Bei wie vielen Tieren?	Auffälligkeiten im Hinblick auf:	Aufgetreten:	Bei wie vielen Tieren?
Ernährungszustand	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>		Tumor	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Körperhaltung	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>		Hautveränderungen	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Reaktion auf Handling	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>		Verletzungen	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Fell/Körperöffnungen	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>		Kannibalismus	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Verhalten	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>		Rektumprolaps	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Motorik	ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>		andere:		
<u>Bei weiblichen Tieren:</u>					
Durchschnittliche Anzahl Trächtigkeiten	Durchschnittliche Aufzuchtverluste <small>(Differenz gub. - abgesetzt ÷ Stabw)</small>	Kolonie-Index <small>(mittlere Anzahl an Nachkommen der Weibchen pro Zeiteinheit)</small>			
<b>Abschließende Beurteilung:</b> <i>(wenn notwendig, bitte Beiblatt verwenden)</i>					
Die Belastungen werden als keine <input type="checkbox"/> <u>gering</u> <input type="checkbox"/> <u>mittel</u> <input type="checkbox"/> <u>schwer</u> <input type="checkbox"/> eingestuft.					
Begründung: <i>(nachvollziehbare Beschreibung der Ausprägung der Belastung)</i> _____					
Die beschriebenen Belastungen traten ab einem Alter von _____ Wochen in einer Häufigkeit von _____ % der untersuchten Tiere auf.					
Im Falle einer Belastung wird empfohlen, Nachkommen dieser Linie in einem Alter von _____ Wochen zu töten, insoweit der Versuchszweck nicht dagegen spricht. Im Sinne einer Belastungsreduzierung werden folgende Refinementmaßnahmen empfohlen: _____					
Mitglieder des gegebenenfalls mit beurteilenden Tierschutzausschusses: _____					
Ort: _____ Datum: _____ Kenntnis genommen: _____ <small>(Projektleiter und Tierschutzbeauftragter)</small>					

- nur dieses Dokument wird der Behörde vorgelegt

# Für welche transgenen Tiere?

- alle durch embryonale Manipulationen (Transgenese, homologe Rekombination, Enzym-medierte Mutation, Transduktion, usw.) oder durch Bestrahlung oder die Behandlung mit mutagenen Substanzen neu generierten, genetisch veränderten Linien
- Erzeugung neuer Linien durch Kreuzung von zwei nicht belasteten Linien, wenn eine Belastung der Kreuzungsnachkommen zu erwarten ist.
- Kreuzungsnachkommen von genetisch veränderten Linien, bei denen Belastungen erwartet werden
- alle neu importierten, genetisch veränderten Linien, die noch nicht ausreichend charakterisiert sind
- Spontanmutationen, die - wenn sie auftreten - gezielt weitergezüchtet werden sollen und bei denen Belastungen erwartet werden
- Linien, die aufgrund einer genetischen Veränderung belastende Tumoren entwickeln, unterliegen kategorisch (also auch in Fällen, in denen die Tumoren erst ab einem bestimmten Lebensalter auftreten) der Genehmigungspflicht
-

# Ausnahmen:

- Induzierbare Linien: Phänotyp entwickelt sich erst durch die Gabe von Induktoren (z.B. Tamoxifen, Tetrazyklin etc.) – bis zum Beginn der Induktion genehmigungsfrei
- Reporterstämme (z.B. Luciferase, LacZ) sind per se nicht belastet, die Zucht ist genehmigungsfrei
- Immundefiziente Linien unterliegen bei entsprechender Haltung nicht der Genehmigungspflicht
- Wildtyp-Tiere von üblichen In- oder Auszuchten, bzw. vergleichbare Linien und Stämme sind nicht genehmigungspflichtig
- Linien, bei denen aufgrund der Art der genetischen Veränderung keine Belastung zu erwarten ist (z.B. Cre-Stämme, Flox-Stämme).

# Aufbewahrungsfristen...

- §40 TierVersV: Kopie des Antrags/Anzeige, Genehmigungsbescheid und alle sonstigen Dokumente, die im Zusammenhang mit der Genehmigung oder Anzeige von der Behörde übermittelt wurden mindestens 3 Jahre über das Ende der Geltungsdauer
- Beurteilungsbögen gentechn. Veränderte Versuchstiere verbleiben beim Wissenschaftler – lediglich die Abschlussbeurteilung wird der Behörde vorgelegt

# Was ist zu tun?

- Erstellung von Beurteilungen der bestehenden Linien
- Erstellung von Tierversuchsanträgen für die Zucht belasteter Linien
  - Sammelanträge sind möglich
  - Statistische Planung kann hier entfallen
  - Orientierungsgröße: 200 Mäuse pro Jahr und Linie
  - Tierzahlmeldung dieser Zuchttiere erst ab 2014
- Entscheidung welches Verfahren der Gewebegewinnung zur Genotypisierung angewendet werden soll:
  - Ohrbioptate: Als Kennzeichnungsverfahren keine Anzeigepflicht
  - Schwanzbioptate: **Anzeigepflicht**