

## **Allgemeine Hinweise zur Belastungsbeurteilung genetisch veränderter Fische (Knochenfische, Teleostei)**

### **Rechtlicher Hintergrund**

Mit der Novellierung des Tierschutzgesetzes (TierSchG; BGBl. I S. 1308 vom 4.7.2013) ist die Zucht von genetisch veränderten Tieren ein genehmigungspflichtiger Tierversuch, wenn zu erwarten ist, dass bei den Nachkommen aufgrund der genetischen Veränderung Schmerzen, Leiden oder Schäden auftreten können (§ 7 Abs. 2 in Verbindung mit § 7a Abs. 5 TierSchG). Gemäß § 14 Nr. 1 der Tierschutz-Versuchstierverordnung (TierSchVersV) sind diese Vorschriften auch auf die Larven von Wirbeltieren anwendbar, sobald diese in der Lage sind, selbständig Nahrung aufzunehmen.

Das hat zur Folge, dass

1. nach Etablierung einer neuen genetisch veränderten Fischlinie beurteilt werden muss, ob bei den Nachkommen dieser Linie Schmerzen, Leiden oder Schäden zu erwarten sind. Um diese Aussage treffen zu können, werden Tiere beurteilt, die in der weiteren Zucht eingesetzt werden (im Folgenden: *Belastungsbeurteilung*);
2. auch bei bereits etablierten Linien eine Belastungsbeurteilung erfolgen muss, sofern nicht wissenschaftlich (z.B. durch Publikationen) belegt werden kann, dass bei den Nachkommen keine Schmerzen, Leiden oder Schäden zu erwarten sind;
3. die Belastungsbeurteilung neuer genetisch veränderter Tierlinien entfallen kann, wenn wissenschaftlich begründet ausgeschlossen wird, dass bei den Nachkommen aufgrund der genetischen Veränderung Schmerzen, Leiden oder Schäden auftreten.

Das europäische Arbeitspapier zu genetisch veränderten Tieren vom Januar 2013 definiert unter dem Punkt „Allgemeiner Hintergrund“ mit Bezug auf Artikel 3 (1) der Richtlinie 2010/63/EU als genetisch veränderte Tiere sowohl gentechnisch veränderte Tiere (transgen, knock-out und andere Formen der gentechnischen Veränderung) als auch natürlich entstandene oder induzierte Mutanten. Diese Definition unterscheidet sich von der Definition gentechnisch veränderter Organismen des Gentechnikgesetzes (GenTG). In § 3 Nr. 3 GenTG ist ein gentechnisch veränderter Organismus als ein Organismus definiert, „dessen genetisches Material in einer Weise verändert worden ist, wie sie unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzen oder natürliche Rekombination nicht vorkommt“. Da das Tierschutzrecht und das Gentechnikrecht verschiedene Schutzzwecke verfolgen, sind die Definitionen zu genetisch veränderten Tieren nicht deckungsgleich. Beide Rechtsbereiche sind strikt voneinander zu trennen. Auf die hier relevanten Fragen der Belastungsbeurteilung sind ausschließlich die Vorschriften des Tierschutzrechts (national und EU) anzuwenden.

Eine genetisch veränderte Fischlinie gilt i.d.R. ab der F2 Generation als etabliert. (Anm.: G0 = aus den injizierten Einzellstadien wachsende meist genetisch mosaikartige transgene Fische bzw. bei chemischen oder Strahlungs-Mutagenesen in der Keimbahn mutagenisierte Tiere; F1 = erste Filialgeneration, in der Einzeltiere stabile genetische Veränderungen als Einzelereignisse in der Keimbahn tragen; F2 = zweite Filialgeneration, in der bei Auskreuzung der F1 Tiere nach

Mendel etwa die Hälfte der Tiere die genetische Veränderung in der Keimbahn trägt). Wird eine genetisch veränderte Linie als belastet eingestuft, so stellt die Zucht dieser Linie einen Tierversuch dar und muss von der zuständigen Behörde genehmigt werden. Gilt eine Linie als nicht belastet, so erfolgt die weitere Zucht und Haltung auf Grundlage der Genehmigung der Versuchstierhaltung gemäß § 11 TierSchG.

Der Begriff „Belastung“ wird im TierSchG nicht verwendet, sondern dient als Oberbegriff für die im Gesetzestext vorkommenden Begriffe „Schmerzen, Leiden oder Schäden“.

Die Begriffe „Schmerzen“, „Leiden“ und „Schäden“ sind in der rechtswissenschaftlichen Literatur wie folgt definiert und in der Rechtsprechung anerkannt:

- Schmerz ist eine unangenehme sensorische und emotionale Empfindung, die mit einer tatsächlichen oder potentiellen Schädigung verknüpft ist oder im Sinne einer solchen Schädigung beschrieben wird. - *International Association for the Study of Pain (IASP), 1994*
- Leiden sind alle vom Begriff des Schmerzes nicht erfassten Beeinträchtigungen, die über ein schlichtes Unbehagen hinausgehen und eine nicht ganz unwesentliche Zeitspanne fortauern. - *Hirt/Maisack/Moritz, Tierschutzgesetz. 2007, Vahlens Kommentare, S. 81*
- Schaden ist ein Zustand des Tieres, der von seinem gewöhnlichen Zustand hin zum Schlechteren abweicht und nicht bald vorübergeht. - *Lorz/Metzger, Tierschutzgesetz. 2008, Verlag C.H. Beck, S. 85*

Die Belastungsbeurteilung genetisch veränderter Fische ist gegenwärtig auf die Feststellung sichtbarer Auffälligkeiten bei den Fischen fokussiert. Sollten neue wissenschaftliche Erkenntnisse zum Schmerzempfinden bei Fischen vorliegen, werden diese bei den zukünftigen Aktualisierungen der Belastungsbeurteilung berücksichtigt.

Für den Zweck der Belastungsbeurteilung sollen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet werden. Die Beurteilung erfolgt ausschließlich adspektorisch. Es sollen keine Eingriffe oder sonstige Manipulationen an den Fischen erfolgen, die Stress induzieren können.

Schmerzen, Leiden oder Schäden werden aufgrund der Art der vorgenommenen genetischen Veränderung bei folgenden Fischlinien nicht angenommen: (1) Marker (Reporter)-Linien in heterozygoter Zuchtform, (2) duale Expressionssysteme sowie (3) induzierbare Systeme, die unter den Bedingungen einer ordnungsgemäßen Fischhaltung mit einer Erlaubnis nach § 11 TierSchG ohne zusätzliche Behandlung nicht zu einer Induktion/Expression des entsprechenden Gens führen.

## Anwendungsbereich der Formulare

Die Formulare dienen zur Belastungsbeurteilung genetisch veränderter echter Knochenfische (Teleostei). Die Fischart der beurteilten Linie muss in den Formularen genauer spezifiziert werden.

Die abschließende Belastungsbeurteilung (*Formular 3*) erfolgt aufgrund der Beurteilung an zwei Beobachtungszeitpunkten:

1. Larvalstadium zum Zeitpunkt der selbständigen Nahrungsaufnahme (*Formular 1*)
2. Adulte geschlechtsreife Tiere (*Formular 2*)

Der Zeitpunkt der selbständigen Nahrungsaufnahme der Larven ist abhängig von der Fischart (i.d.R. bei Zebrafischen 6 Tage nach Befruchtung (TnB) und bei Medaka 12 TnB) und kann je nach Aufzuchtbedingungen stark variieren. Der Zeitpunkt der Geschlechtsreife hängt ebenfalls von der Fischart und den Haltungsbedingungen ab und wird z.B. bei Zebrafischen mit ca. 12-16 Wochen angegeben.

Sollten bei den Tieren zu einem späteren Zeitpunkt Auffälligkeiten beobachtet werden, so sind das Formular 2 und gegebenenfalls die abschließende Belastungsbeurteilung erneut auszufüllen.

Das Auftreten einer Belastung kann von den konkreten Haltungsbedingungen der jeweiligen Einrichtung abhängig sein. Daher sollten die Haltungsbedingungen bei der Beurteilung berücksichtigt werden.

## Hinweise zur Belastungsbeurteilung

- Die Belastungsbeurteilung wird spätestens bei der F3 Generation durchgeführt.
- Die Beurteilung erfolgt durch Beobachtung der Tiere im Behältnis (z.B. Petrischale, Aquarium, Tank).
- Für die Beurteilung der adulten geschlechtsreifen Tiere müssen nicht dieselben Tiere verwendet werden, wie für die Beurteilung des Larvalstadiums, da Larven i.d.R. nicht dauerhaft markiert werden können.
- Die in den zwei Belastungsformularen aufgeführten Auffälligkeiten sollten in einer gut geführten Fischhaltung gemäß § 1 TierSchVersV mit einer Erlaubnis nach § 11 TierSchG bei den Wildtypformen nur gelegentlich (0,1 - 1 %) bis selten (0,01 - 0,1 %) auftreten.
- Die Formulare 1 und 2 verbleiben in der Einrichtung und können auf Verlangen der Behörde eingesehen werden.
- Formular 3 verbleibt ebenfalls in der Einrichtung, wird aber im Falle der Beantragung auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens nach § 8 TierSchG der Behörde vorgelegt.

## Ausfüllhinweise zu Formular 1 – Beurteilung Knochenfische (Teleostei) Larvalstadium zum Zeitpunkt der selbständigen Nahrungsaufnahme

Die Beurteilung der Larven erfolgt adspektorisch, je nach Größe z.B. unter dem Mikroskop, in der Petrischale oder im Aquarium. Zur Belastungsbeurteilung soll eine repräsentative Anzahl an Larven beurteilt werden. Für Zebrafische wird als Richtwert ca. 20 Larven aus mindestens 2 Gelegen empfohlen.

Name der Art	Bitte ankreuzen; „andere“ spezifizieren
Beurteilte Linie - interne Bezeichnung	Bezeichnung unter der die Linie am Standort geführt wird, gegebenenfalls unter Angabe der Stammnummer
Beurteilte Linie - internationale Bezeichnung	Angabe erst nach Publikation der Linie erforderlich. Die Bezeichnung soll unter Angabe des Allels möglichst nach internationalen Standards erfolgen; für Zebrafische z.B. nach der Zebrafish Model Organism Database (ZFIN)
Genetische Zuchtform	Bitte ankreuzen; „andere“ spezifizieren, z.B. dreifach heterozygot
Art der genetischen Veränderung	Kurze Beschreibung der Art der genetischen Veränderung, der angewandten Technik sowie der Zielstruktur; wenn möglich Angabe des genetischen Hintergrunds
Verantwortlicher	Verantwortlich nach § 11-13 TierSchVersV für die Zucht und Haltung oder nach § 8 TierSchG für das Tierversuchsvorhaben im Falle einer Belastung
Haltungsort	Institut und Raumnummer
Besonderheiten der Haltung	Falls von Norm abweichend, z.B. Baumaßnahmen, Baulärm, Aufzuchtform („Expressaufzucht“), Haltungsform, Wassertemperatur, pH
Laichdatum	Da der Zeitpunkt der selbständigen Nahrungsaufnahme je nach Fischart und Aufzuchtbedingungen variieren kann, sind das Laichdatum sowie das Datum der Beurteilung (s.u.) anzugeben
Anzahl der Larven	Repräsentative Zahl (z.B. Zebrafische: mind. 20 aus 2 Gelegen). Schätzwert ausreichend
Auffälligkeiten	Bitte „0“ eintragen, wenn keine Auffälligkeiten beobachtet werden. Bei vorliegenden Auffälligkeiten, Zahl (n) der betroffenen Tiere eintragen und die Auffälligkeiten unter Anmerkungen näher beschreiben. Auffälligkeiten können sich beziehen auf: <i>Morphologie</i> z.B. Größe, Haut/Schuppen, Flossen, Umfangsvermehrungen, Krümmungen, Herzödem, nicht geöffnete Schwimmblase <i>Schwimmhaltung</i> z.B. Lage im Wasser <i>Aktivität</i> z.B. Schwimmen auf dem Grund, an der Oberfläche, Absonderung vom Schwarm <i>Sonstiges</i> Platz für Nennung sonstiger Auffälligkeiten
Beurteilende/r	Person, die die Beurteilung des Geleges durchgeführt hat
Datum der Beurteilung	s. Laichdatum
Zusammenfassung über mögliche Belastung	Bitte entsprechendes Kästchen ankreuzen. Die Einschätzung wird durch eine/n der Beurteilenden oder den/die Verantwortliche/n vorgenommen. Die Begründung kann unter Anmerkungen erläutert werden.

## Ausfüllhinweise zu Formular 2 – Beurteilung Knochenfische (Teleostei) adulte geschlechtsreife Tiere

Die Beurteilung adulter geschlechtsreifer Tiere erfolgt adspektorisch im Aquarium. Eine getrennte Beurteilung nach Geschlecht wird i.d.R. als nicht notwendig erachtet. Sollte es Hinweise auf eine geschlechtsspezifische Ausprägung der beobachteten Auffälligkeiten geben, so ist die Belastungsbeurteilung adulter geschlechtsreifer Fische getrennt nach männlichen und weiblichen Tieren durchzuführen.

Name der Art	Bitte ankreuzen; „andere“ spezifizieren
Beurteilte Linie - interne Bezeichnung	Bezeichnung unter der die Linie am Standort geführt wird, gegebenenfalls unter Angabe der Stammnummer
Beurteilte Linie - internationale Bezeichnung	Angabe erst nach Publikation der Linie erforderlich. Die Bezeichnung soll einschließlich unter Angabe des Allel möglichst nach internationalen Standards erfolgen; für Zebrafische z.B. nach der Zebrafish Model Organism Database (ZFIN)
Genetische Zuchtform	Bitte ankreuzen; „andere“ spezifizieren, z.B. dreifach heterozygot
Art der genetischen Veränderung	Kurze Beschreibung der Art der genetischen Veränderung, der angewandten Technik sowie der Zielstruktur; wenn möglich Angabe des genetischen Hintergrunds
Verantwortlicher	Verantwortlich nach § 11-13 TierSchVersV für die Zucht und Haltung oder nach § 8 TierSchG für das Tierversuchsvorhaben im Falle einer Belastung.
Haltungsort	Institut und Raumnummer
Besonderheiten der Haltung	Falls von Norm abweichend, z.B. Baumaßnahmen, Baulärm, Aufzuchtform („Expressaufzucht“) Haltungsform, Wassertemperatur, pH
Anzahl der Tiere	Die Beurteilung sollte an mindestens 7 Tieren erfolgen. Bei geschlechtsspezifischen Auffälligkeiten sollten 7 männliche und 7 weibliche Tiere beurteilt werden.
Alter der Tiere	Angabe in Tagen nach Befruchtung (TnB)
Auffälligkeiten  <i>Körperbau</i> <i>Flossen/Schuppen/Haut/Kiemem</i> <i>Verhalten</i> <i>Sonstiges</i>	Bitte „0“ eintragen, wenn keine Auffälligkeiten beobachtet werden. Bei vorliegenden Auffälligkeiten, Zahl (n) der betroffenen Tiere eintragen und die Auffälligkeiten unter Anmerkungen näher beschreiben, siehe Angaben in der entsprechenden Fußnote. Auffälligkeiten können sich beziehen auf: s. Fußnote 1 s. Fußnote 2 s. Fußnote 3 Platz für Nennung sonstiger Auffälligkeiten, wie z.B. eine erhöhte Mortalitätsrate, Beeinträchtigung der Fertilität
Beurteilende/r	Person, die die Beurteilung der adulten Fische durchführt

### **Ausfüllhinweise zu Formular 3 – ABSCHLUSSBEURTEILUNG Knochenfische (Teleostei)**

Die Angabe der Einrichtung, in der die Tiere für den Zeitraum der Zucht gehalten werden unter Angabe der Institutsadresse. Die Angaben zur genetisch veränderten Linie erfolgen entsprechend den Angaben der Formulare 1 und 2 (**Teil A**).

Die Angaben zur Begründung, warum eine Belastung der Tiere aufgrund der Art ihrer genetischen Veränderung von vornherein ausgeschlossen werden kann (**Teil B**) sind optional. Sie dienen ausschließlich zu Dokumentationszwecken des/der Verantwortlichen und können bei Bedarf der zuständigen Behörde vorgelegt werden.

Die Abschlussbeurteilung genetisch veränderter Knochenfische erfolgt auf Basis der Beobachtungen der Formulare 1 und 2, d.h. der zwei Entwicklungsstadien „Larvalstadium zum Zeitpunkt der selbständigen Nahrungsaufnahme“ und „adulte geschlechtsreife Tiere“ (**Teil C**). Sollten zu einem späteren Zeitpunkt Auffälligkeiten beobachtet werden, die auf die genetische Veränderung zurückgeführt werden könnten, so sind das Formular 2 und die Abschlussbeurteilung erneut auszufüllen.

In **Teil D** muss abschließend beurteilt werden, ob eine Belastung bei der Tierlinie aufgrund der genetischen Veränderung vorliegt oder nicht. Wurden keine Auffälligkeiten festgestellt, kann „keine“ Belastung angekreuzt werden (gegebenenfalls muss begründet werden, warum registrierte Auffälligkeiten als nicht belastend eingestuft werden). Im Falle einer Belastung soll der Schweregrad entsprechend Artikel 15 Absatz 1 der Richtlinie 2010/63/EU (gering, mittel oder schwer) angegeben und nachvollziehbar unter Angabe der markantesten Auffälligkeiten begründet werden. Außerdem können Empfehlungen zu Refinementmaßnahmen zur Belastungsreduzierung ausgesprochen werden.

Die abschließende Beurteilung wird vom/von der Verantwortlichen für die Zucht und Haltung (nach § 11 TierSchG) oder für das Tierversuchsvorhaben (nach § 8 TierSchG) vorgenommen und mit Angabe des Datums unterschrieben. Der/die zuständige Tierschutzbeauftragte bestätigt mit Datum und Unterschrift, dass er/sie die Abschlussbeurteilung zur Kenntnis genommen hat (**Teil E**). In strittigen Fällen kann der zuständige Tierschutzausschuss zu Rate gezogen werden.