

# **Grundlage zur Belastungsbeurteilung genetisch veränderter Nagerlinien in österreichischen Einrichtungen zur Zucht und Haltung von Versuchstieren**

Autor:innen: Daniela D. Pollak, Thomas Kolbe, Sophie Schober, Thomas Rüllicke und Michael Schunn

Das Dokument wurde in der 7. Sitzung der Kommission für Tierversuchsangelegenheiten gem. § 36 TVG 2012 diskutiert und am 18. März 2026 angenommen.

## **A Zielsetzung und Grundlagen**

Ziel dieses Dokumentes ist es, ein standardisiertes und wissenschaftlich fundiertes Instrument, das österreichweit eine einheitliche Beurteilung und Dokumentation der Belastung genetisch veränderter Labornager ermöglicht, bereitzustellen. Die vorgeschlagenen Inhalte orientieren sich an den Vorgaben und Zielsetzungen der Richtlinie 2010/63/EU und deren nationale Implementierung im Rahmen des österreichischen Tierversuchsgesetzes 2012 (TVG 2012). Im Besonderen wurden als Grundlagen der Durchführungsbeschluss (EU) 2020/569 der Europäischen Kommission zur Festlegung eines gemeinsamen Formats für die Meldung für wissenschaftliche Zwecke verwendeter Tiere (1), sowie die Publikation der Europäischen Kommission „Humaner Umgang mit Tieren für eine bessere Wissenschaft – Genetisch veränderte Tiere“ (2) von 2022 berücksichtigt.

Dieses Dokument soll als Hilfestellung für die Beantragung der erforderlichen Projektgenehmigung und als Leitfaden für die Durchführung der obligatorischen Belastungsbeurteilung von neuen genetisch modifizierten Nagerlinien dienen. Gleichzeitig soll durch eine standardisierte Vorgehensweise bei der Belastungsbeurteilung die Durchführbarkeit für die Antragsteller sowie die Nachvollziehbarkeit und Vergleichbarkeit für die zuständigen Behörden erleichtert werden. Informationen darüber hinaus können den genannten Dokumenten der Europäischen Kommission entnommen werden.

## **B Hintergrund: Rechtliche Prinzipien**

„Tierversuch“: **jede Verwendung von Tieren zu Versuchs-, Ausbildungs- oder anderen wissenschaftlichen Zwecken** mit bekanntem oder unbekanntem Ausgang, die

- a) bei den Tieren **Schmerzen, Leiden, Ängste oder dauerhafte Schäden** in einem Ausmaß verursachen kann, das dem eines Kanüleneinstichs gemäß guter tierärztlicher Praxis gleichkommt oder darüber hinausgeht, oder
- b) dazu führen soll oder kann, dass ein Tier in einem Zustand **gemäß a) geboren oder ausgebrütet wird**, oder
- c) dazu führen soll oder kann, dass eine genetisch veränderte Tierlinie in einem Zustand **gemäß a) geschaffen und erhalten wird**,

nicht jedoch das Töten von Tieren allein zum Zwecke der Verwendung ihrer Gewebe oder Organe. (§ 2 Z 1 TVG 2012)

Ziele des TVG 2012 sind u.a. die **Verbesserung der Bedingungen für die Zucht**, Unterbringung, Pflege und Verwendung von Tieren in Tierversuchen sowie die **Ausschaltung oder möglichst weitgehende Reduktion der Belastung** der in Tierversuchen verwendeten Tiere. (§ 1 Abs. 3 Z 2 und 4 TVG 2012)

Ein Tierversuch gilt als beendet, wenn

- 1. **keine weiteren Beobachtungen mehr**
  - a) an den verwendeten Tieren oder
  - b) bei genetisch veränderten, neuen Tierlinien an der Nachkommenschaft anzustellen sind oder
- 2. nicht mehr erwartet wird, dass die in 1. b) genannten Tiere Schmerzen, Leiden oder Ängste empfinden oder dauerhafte Schäden erleiden, die denen eines Kanüleneinstichs gemäß guter tierärztlicher Praxis gleichkommen oder darüber hinausgehen. (§ 11 Abs. 1 Z 1 lit. a und b und Z 2 TVG 2012)

## C Definitionen und Grundsätze

**Genetisch veränderte Tiere im Sinne des TVG 2012** umfassen Tiere, bei denen Mutationen durch gentechnische Methoden (genotype driven mutagenesis) oder durch chemische Substanzen (phenotype driven mutagenesis) induziert wurden oder spontan aufgetreten sind.

Jede **neu generierte Linie** (inklusive derer, die aus der Kreuzung bereits vorhandener Linien entstehen) muss im Rahmen einer Projektgenehmigung erfasst sein und einer Belastungsbeurteilung unterzogen werden, sobald diese Linie als etabliert gilt. Eine neue genetisch veränderte Linie gilt als „etabliert“, wenn eine stabile Vererbung der Mutation vorliegt, die dem theoretisch zu erwartenden Mendelschen Muster entspricht. In Abhängigkeit von der eingesetzten Modifikationsmethode ist das in der zweiten oder der dritten Generation der Nachkommen eines Founders zu erwarten (siehe auch Punkt E). Um mögliche Effekte des genetischen Hintergrundes bei der Belastungsbeurteilung auszuschließen, können als Kontrolle Wildtyp-Tiere des korrespondierenden genetischen Hintergrundes, Wildtyp-Wurfgeschwister sowie Daten aus der [Mouse Phenome Database](#) herangezogen werden. Für Inzuchtstämme, die als Standard-Background für genetische Modifikationen genutzt werden, können bereits erhobene Daten als Kontrolle genutzt werden.

Die Etablierung einer neu geschaffenen Linie bedarf außerdem in jeder Generation einer adäquaten Validierung der genetischen Modifikation als Grundlage einer gesicherten Selektion geeigneter Zuchttiere. Bis zum Abschluss der Belastungsbeurteilung sind die Tiere als „**geringgradig belastet**“ einzustufen, vorausgesetzt, es wurde während der Beurteilungsphase keine höhere Belastung festgestellt. Ungeachtet dessen, sind Einzeltiere, die eine höhere als geringgradige Belastung aufweisen, entsprechend der **tatsächlich aufgetretenen Belastung** in der nächsten Jahresstatistik zu berichten.

Ergebnisse abgeschlossener oder laufender Belastungserfassungen werden vom verantwortlichen Züchter für jede neue Linie so aufbereitet und dargestellt, dass sie bei Kontrollen sofort eingesehen bzw. bei Abgabe der Linie weitergegeben werden können.

**Erhaltung einer etablierten Linie:** Die Verwendung von Tieren zur Erhaltung von Kolonien genetisch veränderter, etablierter Linien mit **einem potenziell belasteten Phänotyp** erfordert eine Projektgenehmigung, die auch mehrere Linien umfassen kann. Dies gilt auch **unabhängig von den angewandten Verfeinerungen** (z.B. spezifische Behandlungen,

Haltungsbedingungen, Terminierung vor dem erwarteten Eintritt der Belastung), die das **Risiko der Entwicklung bzw. der Ausprägung eines belasteten Phänotyps** verringern.

**Keine Projektgenehmigung ist erforderlich für:**

1. Die Verwendung von Tieren zur Erhaltung von Kolonien genetisch veränderter, etablierter Linien ohne einen potenziell belasteten Phänotyp.  
Sollten zu einem **späteren Zeitpunkt** tierwohlrelevante Beeinträchtigungen von bereits als „nicht belastet“ eingestufte Linien festgestellt werden, ist zu untersuchen, ob diese auf die genetische Veränderung oder veränderte Umwelteffekte zurückzuführen sind. Sollte sich eine genetisch bedingte Belastung bestätigen, sind die Linien als „belastet“ einzustufen. Die Zucht dieser Linien erfordert somit fortan eine Projektgenehmigung.
2. **Konditionale und induzierbare genetisch veränderte Linien:** Die Zucht von Linien, die einen spezifischen Eingriff zur Induktion der Genexpression erfordern (z. B. durch Verabreichung von Substanzen Tetrazyklin, Tamoxifen o.ä.) oder durch Paarung von Linien mit dem Ziel der gezielten DNA-Rekombination (Cre-loxP, Flp-FRT u.ä.), kann bis zur Induktion der Mutation als nicht belastet angesehen werden. Ausgenommen sind induzierbare Mutationen, die auf eine Unterdrückung der Induktion der Mutation durch eine permanente Behandlung der Tiere beruhen (z.B. im Tet-off-System).
3. **Reporter Linien:** Die Zucht von Linien, die sich auf das Vorhandensein von phänotypisch neutralen Reportergenen bzw. Gene für spezifische Rekombinasen und Transaktivatoren (Cre, Flp, tTA u.ä.) und den sich aus diesen Genen entwickelnden Molekülen beschränken, sind prospektiv als **nicht belastet** anzusehen.
4. **Kreuzungen nicht belasteter Linien:** Für neue Linien, die durch Kreuzung von zwei nicht belasteten Linien erzeugt und die prospektiv als nicht belastet eingestuft werden, ist eine Belastungserfassung nicht unbedingt erforderlich.

## **D Statistische Berichterstattung**

In der jährlichen Tierversuchstatistik sind retrospektiv jene Tiere zu melden die:

- zur Schaffung einer neuen genetisch veränderten Linie gezüchtet wurden und die genetische Veränderung tragen,
- zur Erhaltung einer etablierten, belasteten Linie verwendet wurden und selbst einen belastenden Phänotyp aufweisen,
- in einem Tierversuch gemäß TVG 2012 verwendet wurden.

## E Durchführung der Belastungsbeurteilung

Die Belastungsbeurteilung soll folgende Prinzipien berücksichtigen:

- a) Durchführung zu einem Zeitpunkt, ab dem der Genotyp der neuen Mutante als „stabil“ vererbbar einzustufen ist.

Dafür ist anzunehmen:

- Mittels **CRISPR/Cas**, viraler Vektoren und Transposons erzeugte transgene Linien die **F3-Generation**, vorausgesetzt:
  - der modifizierte Genort wurde analysiert und entspricht dem gewünschten Vorhaben (Ausschluss von nicht vorhersagbaren, unerwünschten Modifikationen am Ziellokus, sog. INDELS und Off-Target Mutation)
  - die Mutation zeigt ein stabiles Mendelsches Vererbungsmuster
  - es liegt nachweislich kein Mosaizismus vor
- Mittels **herkömmlicher additiver Transgenese und Gen-Targeting/Knock-out/-in Verfahren**, begleitet durch eine adäquate genetische Analyse der modifizierten embryonalen Stammzellen bzw. der identifizierten Founder, die F2 Generation.
- **Durch chemische Mutagenese mittels ENU die F3 Generation**. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die optimale Zuchtstrategie bei der phenotype-driven mutagenesis von der bei transgenen Techniken abweicht, um für nicht gekoppelte, rezessive Mutationen schnellstmöglich und mit geringster Tierzahl Homozygotie, als Voraussetzung der phänotypischen Merkmalsausprägung, zu erreichen (3).

- b) Verwendung von Tieren:

- aus mind. 3 Würfen von 2 aufeinander folgenden Generationen.
- mind. 7 weibliche und 7 männliche Tiere (insofern keine geschlechtsspezifischen Differenzen im Phänotyp der Mutanten zu erwarten sind) für jeden zur dauerhaften Erhaltung vorgesehenen Genotyp der Mutation (hemi/heterozygot, homozygot).
- in den **folgenden Lebensabschnitten**:
  - kurz nach der Geburt (Tag 0/ 1)
  - nach dem Absetzen (3-4 Wochen)
  - im adulten Stadium (8-10 Wochen)
  - sowie zu Zeitpunkten, die sich aus einer vorausschauenden Bewertung möglicher genetischer Auswirkungen ergeben (z.B. bei altersabhängigem Krankheitsbeginn).
  - weiterhin alle 3 Monate bis zu dem Zeitpunkt, zu dem die Tiere dieser Linie maximal gehalten/ verwendet werden sollen.

- c) Es sollen möglichst keine Tiere extra für die Belastungsbeurteilung gezüchtet werden, um die Generation überschüssiger Tiere zu vermeiden.

Als Vorschlag für die praktische Durchführung der Belastungsbeurteilung übernehmen wir die Vorgabe (1), die bei Bedarf an die zu erwartenden Phänotypen zu adaptieren ist.

Abschnitt B - Vorlage für eine Beurteilung des Wohlergehens von Nagetieren

**Aussehen / Körperfunktionen / Umgebung / Verhalten / verfahrensspezifische Indikatoren / freie Beobachtungen**

Allgemeine Kategorie	Schwerpunktbereiche für die Beobachtung der Tiere	Spezifische Indikatoren für die Überwachung
Aussehen	Körperzustand	Gewichtsverlust/-zunahme
		fettleibig
		dünn
		Punktwertung für den Körperzustand (Body Condition Score), sofern verfügbar
	Fell- und Hautzustand	Piloerektion
		struppig/ mangelnde Fellpflege
		fettiges Fell
		Haarausfall
		dehydriert – Hautfaltbildung
		Hautläsionen – Schwellungen, Schorfbildung, Ulzeration, Verletzungen/Wunden
	Ausfluss	Verunreinigung durch Kot oder Urin
	Augen	Augen, Nase, Urogenitaltrakt, Porphyrinfarbe bei einigen Arten, z. B. Ratten
		eingesunken oder trüb oder vergrößert
		geschlossen/halb geschlossen/geschwollen
Maul	Augenschäden/-verletzungen (z. B. Hornhaut-Ulkus)	
	Speichelfluss	
	Zahnfehlstellung/übermäßiges Zahnwachstum	
Sonstiges	Schmerzgesicht* – z. B. halb geschlossene Augen und Nasenwölbung bei Mäusen	
	Abdominale Einziehungen	
	geschwollener Körperteil, z. B. aufgeblähter Bauch	
Körperfunktionen	Atmung	Beschleunigte Atmung (Tachypnoe)
		erschwertes Atmen (Hyperpnoe)
		stark erschwerte Atmung (Dyspnoe, Schnappatmung)
		keuchen oder sonstige Atemgeräusche
	Nahrungsaufnahme	erhöht/verringert
	Wasseraufnahme	erhöht/verringert
Körpertemperatur	erhöht/erniedrigt, gemessene Körpertemperatur, sofern verfügbar (Temperaturmessung mit oder ohne Kontakt), Farbe der Extremitäten bei Nagetieren	
	Sinne	Anzeichen für Seh-, Hör- oder Gleichgewichtsstörungen
Umgebung	Umgebung in den Haltungsbereichen einschließlich Einstreu, Nistmaterial, Enrichment Elemente	Vorhandensein und Konsistenz von Kot
		nasse Einstreu, z. B. aufgrund von Polyurie
		Blutspuren
		Nutzt das Tier Ausgestaltungs-elemente, z. B. Nistmaterial, Nagehölzer?
Verhalten	Soziale Interaktion	Abweichung vom normalen Verhalten – ängstliche/aggressive Interaktionen mit anderen

		Tieren, ängstliches Verhalten (z. B. ausgeprägte Fluchtreaktionen, Verstecken)
		Isoliert oder zurückgezogen von anderen Tieren der sozialen Gruppe.
	<b>Unerwünschtes Verhalten</b>	repetitive/stereotype Verhaltensmuster
		Barbering (Nagetiere), Trichotillomanie
		Automutilation
		Verstärkte Aggression gegenüber Menschen oder anderen Tieren.
	<b>Körperhaltung und Mobilität</b>	abnormale Haltung
		abnormaler Gang; Lahmheit; Bewegungslosigkeit/Lethargie; Bewegungsunlust bei Stimulation
		unkoordinierte Bewegungen
		gekrümmter Bauch; Kopfschiefhaltung
	<b>Sonstiges</b>	zittern
		Anfälle/Konvulsionen/Krämpfe/Zuckungen
		Lautäußerungen, spontan oder auf Reize. (Hinweis: Bei Nagetieren erfolgen die Lautäußerungen normalerweise im Ultraschallbereich, daher erfordern für den Menschen höhere Lautäußerungen besondere Aufmerksamkeit.)
		Mortalität (oder vorzeitige Tötung aufgrund belastender Symptome) vor Erreichen des erwarteten Lebensalters oder der längsten bisherigen Lebensdauer.
<b>Verfahrensspezifische Indikatoren</b>	Diese Indikatoren werden auf Basis einzelner Projekte, ihrer potenziellen nachteiligen Auswirkungen und der erwarteten Indikatoren dieser Auswirkungen festgelegt.	In einem Multiple-Sklerose-Modell gehören zu diesen Indikatoren beispielsweise: Verringerter Schwanztonus, Hinterlaufschwäche, Vorderlaufschwäche, Paralyse, Verlust der Blasenfunktion.
<b>Freie Beobachtungen</b>	Jedes System für die Beurteilung des Wohlbefindens sollte eine Möglichkeit zur Erfassung der Beobachtungen unerwarteter negativer Auswirkungen auf das Wohlergehen der Tiere umfassen.	

### Zusätzliche Gesichtspunkte bei der Beurteilung des Wohlergehens neugeborener Tiere vor dem Absetzen

Kriterien	Zu beachtende Anzeichen
<b>Klinische Symptome</b>	z. B. Deformationen, Größe, Hautfarbe, Ödeme  Wachstum und abnorme/verzögerte Entwicklung (z. B. Zeitpunkt des Öffnens der Augen; Wachstum des Fells)
<b>Verhaltensauffälligkeiten</b>	z. B. erhöhte Aktivität, Aggressivität, übermäßige Lautäußerungen, lethargisch/apathisch
<b>Milchfleck (nur bei Neugeborenen)</b>	Gibt es Jungtiere, die keinen Milchfleck aufweisen?
<b>Mütterliches Verhalten</b>	Gibt es Anzeichen für mangelhafte Pflege durch das Muttertier (z. B. Kannibalismus, im Käfig verstreute und nicht ins Nest zurückgeholte Jungtiere, hohe Verluste vor dem Absetzen)?
<b>Wurf</b>	Wurfgröße, Homogenität des Wurfs

## Literatur

1. DURCHFÜHRUNGSBESCHLUSS 2020/569 DER KOMMISSION vom 16. April 2020. Sect. L 129/16 (2020).
2. Rahmenregelung für genetisch veränderte Tiere gemäß der Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. (2022).
3. European Commission: Directorate-General for Environment, Framework for the genetically altered animals under Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes, Publications Office of the European Union, 2022, <https://data.europa.eu/doi/10.2779/499108>
4. Barbaric I, Dear TN. Optimizing screening and mating strategies for phenotype-driven recessive N-ethyl-N-nitrosourea screens in mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2007;46(6):44-9.
5. RICHTLINIE 2010/63/EU DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere
6. Tierversuchsgesetz 2012 (TVG 2012), BGBl. I Nr. 114/2012 idgF