DEUTSCHES ZENTRUM ZUM SCHUTZ VON VERSUCHSTIEREN

Bundesinstitut für Risikobewertung

Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Mäuse und Ratten - Version 2

Empfehlung Nr. 002/2016 des Nationalen Ausschuss (TierSchG) vom 9. September 2016*

Am 27. und 28. Oktober 2014 fand am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) der zweite Workshop zur Thematik der Belastungsbeurteilung genetisch veränderter Mäuse und Ratten statt. Ziel des zweiten Workshops war es, die Kriterien für die Belastungseinstufung genetisch veränderter Mäuse und Ratten des ersten Workshops 2013 zu überarbeiten und zu aktualisieren.

Den Anstoß für die Workshops gibt das neue deutsche Tierschutzgesetz. Mit dem Inkrafttreten des neuen Tierschutzgesetzes am 12. Juli 2013 unterliegt die Zucht genetisch veränderter Tierlinien der Genehmigungspflicht, wenn die Individuen dieser Linien auf Grund ihrer genetischen Veränderungen Schmerzen, Leiden oder Schäden erfahren können. Es ist notwendig, bundesweit einheitliche Kriterien für die Beurteilung der Belastungen zu nutzen, um zu einheitlichen Belastungseinschätzungen zu kommen und beim Transfer von Tieren von einer Einrichtung zu einer anderen auf bereits erhobene Daten zurückgreifen zu können.

Am zweiten Workshop waren Vertreter des BfR, der Deutschen Gesellschaft für Versuchstierkunde, der Ludwig-Maximilians-Universität München, der Technischen Universität München, der Deutschen Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin und der Projektgruppe der Genehmigungsbehörden für Tierversuche beteiligt.

Als Ergebnis des Workshops wurden das Papier zur „Festlegung von Kriterien zur Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Versuchstiere und Ratten“ sowie die dazugehörigen vier Formulare zur Beurteilung genetisch veränderter Mäuse und Ratten überarbeitet.

Die Papiere werden als Version 2 vom 21. Juli 2015 vorgelegt. Die Überarbeitungen sind grau hervorgehoben.

Mit diesen Papieren stehen Hilfsmittel für die bundesweit einheitliche Beurteilung und Dokumentation der Belastung von genetisch veränderten Tieren im Zusammenhang mit der Genehmigungspflicht für die Zucht genetisch veränderter Tiere zur Verfügung.

Es folgen die Dokumente:

Festlegung von Kriterien zur Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Versuchstiere - Allgemeiner Teil

- Formular: Beurteilung neugeborener Wurf
- Formular: Beurteilung Wurf beim Absetzen
- Formular: Beurteilung Einzeltier
- Formular: Abschlussbeurteilung genetisch veränderter Zuchtlinien
- Europäisches Arbeitspapier zu genetisch veränderten Tieren (2013)

*Diese überarbeitete Empfehlung ersetzt die Mitteilung Nr. 029/2014 vom 25. Juli 2014.
http://www.bfr.bund.de/cm/343/beurteilung-der-belastung-genetisch-veraenderter-tiere.pdf

Festlegung von Kriterien zur Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Versuchstiere

Allgemeiner Teil
Version 2 vom 21. Juli 2015

Mit dem Inkrafttreten des neuen Tierschutzgesetzes am 12. Juli 2013 unterliegt die Zucht genetisch veränderter Tierlinien der Genehmigungspflicht, wenn die Individuen dieser Linien auf Grund ihrer genetischen Veränderungen unter Umständen Schmerzen, Leiden oder Schäden erfahren können.[1]

Da insbesondere bereits existierende genetisch veränderte Linien häufig nicht nur an einer sondern gleichzeitig an mehreren Einrichtungen gezüchtet werden, ist es notwendig, einheitliche Kriterien für die Beurteilung der Belastungen zu erstellen, um zum einen zu einheitlichen Belastungseinschätzungen zu kommen und zum anderen beim Transfer von Tieren von einer Einrichtung zu einer anderen auf bereits erhobene Daten zurückgreifen zu können.

Das vorliegende Papier wurde anlässlich des Workshops **„**Dokumentation und Veröffentlichung der Belastungseinstufung für genetisch veränderte Versuchstiere“ im Juni 2013 am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) erarbeitet und im Oktober 2014 anlässlich eines weiteren Workshops überarbeitet; es beruht sowohl auf den einschlägigen Empfehlungen der Expertenarbeitsgruppe der Europäischen Kommission vom Januar 2013[2] als auch auf Vorschlägen des „Arbeitskreises der Tierschutzbeauftragten in Oberbayern“.
Das Papier besteht aus einem allgemeinen Teil und vier Formularen zur Beurteilung der Belastung genetisch veränderter Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten. Als Anlage ist die deutsche Übersetzung des Arbeitspapiers zu genetisch veränderten Tieren der zuständigen nationalen Behörden zur Umsetzung der Richtlinie 2010/63/EU vom Januar 2013 mit Erläuterungen und Ergänzungen der Workshopteilnehmer beigefügt.

Unabhängig von dem oben genannten Genehmigungsvorbehalt unterliegen gemäß § 11 Tierschutzgesetz (TierSchG) die Zucht und Haltung von Wirbeltieren oder Kopffüßern, die dazu bestimmt sind, in Tierversuchen verwendet zu werden, der Erlaubnispflicht durch die zuständigen Behörden. Die Tierschutzversuchstierverordnung (TierSchVersV) bestimmt im Abschnitt 1 „Halten von Wirbeltieren und Kopffüßern zur Verwendung in Tierversuchen oder zu anderen wissenschaftlichen Zwecken“ detailliert die Anforderungen an die Einrichtungen sowie zur Pflege und Unterbringung der Tiere.

Grundsatz: Um die Belastung einer genetisch veränderten Tierlinie beurteilen zu können, sollen Tiere verwendet werden, die der Nutzer bis zur Durchführung von Eingriffen ohnehin in der Zucht hat. Für den Zweck der Belastungsbeurteilung dürfen prinzipiell Tiere weder zusätzlich gezüchtet noch getötet werden. Das bedeutet, dass für die Beurteilung prinzipiell nur Tiere verwendet werden dürfen, die ohnehin gezüchtet oder getötet werden. Als Kontrolle für gefundene Veränderungen sollen soweit möglich Tiere des dazu gehörigen Hintergrundstammes verwendet werden.
Für die Beurteilung sind Tiere zu verwenden, die den gewünschten Genotyp haben.

[1] Drittes Gesetz zur Änderung des Tierschutzgesetzes vom 4. Juli 2013 (BGBl. I Nr. 36, ausgegeben zu Bonn am 12. Juli 2013, S. 2182)
[2] European Commission, Environment Directorate-General: National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes - Corrigendum of 24 January 2013 - Working document on genetically altered animals, Brussels, 23-24 January 2013. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf

1. Allgemeines Vorgehen

a. Beurteilungs-/Beobachtungszeitraum: von der Geburt bis zum Ausscheiden aus der Zucht bzw. bis zur weiteren experimentellen Verwendung.
Im Falle von Linien, für die es bereits eine Beurteilung für einen definierten Zeitraum gibt, die aber von einem neuen Nutzer über diesen Zeitraum hinaus gehalten werden, ist der neue Nutzer verpflichtet, weitere Beobachtungen zu ergänzen. Das gilt unabhängig davon, ob zuvor eine Belastung festgestellt wurde oder nicht.

b. Anzahl zu beurteilender Tiere: pro Linie mindestens 14 Individuen beiderlei Geschlechts aus unterschiedlichen Würfen (mindestens 7 männliche und 7 weibliche Tiere); es sei denn, ein Phänotyp kann nur in einem Geschlecht auftreten, in diesem Fall werden mindestens 7 Tiere des betreffenden Geschlechts beurteilt.

c. Für bereits existente und ausreichend charakterisierte Linien, die in eine Einrichtung neu eingeführt werden sollen, werden bereits erhobene Daten zur Beurteilung der Linien (z.B. Datenblätter der Züchter) herangezogen.

2. Beurteilungskriterien

a) im Allgemeinen
siehe hierzu auch Formulare zur „Beurteilung neugeborener Wurf“, zur „Beurteilung Wurf beim Absetzen“ und zur „Beurteilung Einzeltier“

- erste Beurteilungen erfolgen bei neonatalen Tieren „Beurteilung neugeborener Wurf“ und beim Absetzen („Beurteilung Wurf beim Absetzen“)
- weitere Beurteilungen erfolgen im Alter von zwei Monaten und dann im Abstand von jeweils drei Monaten („Beurteilung Einzeltier“). Treten bei einer der Untersuchungen oder auch zwischen zwei Untersuchungen Auffälligkeiten auf, die auf einen belastenden Phänotyp hinweisen, werden die nachfolgenden Untersuchungsintervalle entsprechend verkürzt.

b) Beurteilung der embryonalen Letalität
siehe hierzu auch das Formular zur „Beurteilung neugeborener Wurf“

- § 14 TierSchVersV bestimmt ausdrücklich, dass die Regelungen zur Genehmigung von Tierversuchsvorhaben auch für Versuchsvorhaben gelten, in denen Föten von Säugetieren ab dem letzten Drittel ihrer normalen Entwicklung vor der Geburt verwendet werden oder verwendet werden sollen.
- Liegt aufgrund einer genetischen Veränderung eine erhöhte embryonale Letalität im letzten Graviditätsdrittel vor, kann das mit Belastungen für die Föten und insbesondere für die Muttertiere verbunden sein. Daher werden bei der Beurteilung des neugeborenen Wurfs auch Hinweise auf embryonale Letalität erfasst.

c) Beurteilung von neu generierten oder importierten Linien (nach Inkrafttreten des neuen TSchG)

- Alle durch embryonale Manipulationen (Transgenese, homologe Rekombination, Enzym-mediierte Mutation, Transduktion, usw.) oder durch Bestrahlung oder die Behandlung mit mutagenen Substanzen neu generierten, genetisch veränderten Linien werden an Hand der unter 2.a. genannten Formulare beurteilt.

- Bei der Erzeugung neuer Linien durch Kreuzung von zwei nicht belasteten Linien muss nur dann eine Beurteilung an Hand der oben genannten Formulare erfolgen, wenn eine Belastung der Kreuzungsnachkommen zu erwarten ist.
- Kreuzungsnachkommen von genetisch veränderten Linien, bei denen Belastungen erwartet werden, werden an Hand der unter 2.a. genannten Formulare beurteilt.
- Alle neu importierten, genetisch veränderten Linien, die noch nicht ausreichend charakterisiert sind, werden an Hand der unter 2.a. genannten Formulare beurteilt.

d) Beurteilung von Linien mit induzierbaren genetischen Veränderungen, „Reportergenen“ oder weiteren genetischen Veränderungen

- Linien, bei denen die genetisch bedingte Veränderung des Phänotyps erst durch die Gabe von Induktoren (z.B. Tamoxifen, Tetrazyklin etc.) ausgelöst wird, gelten bis zu dem Zeitpunkt der Induktion grundsätzlich als nicht belastet und sind genehmigungsfrei.
- Linien, bei denen ein genetisch bedingter Phänotyp durch die Gabe von Substanzen über Futter oder Trinkwasser unterdrückt wird, gelten ebenfalls als unbelastet und damit genehmigungsfrei bis zum Zeitpunkt des Absetzens der Substanzen in einem genehmigten Tierversuch.
- Das Vorhandensein von Reportergenen im Genom und die sich aus diesen Genen entwickelnden Moleküle führen per se nicht zu einem belastenden Phänotypen, so dass die Zucht von Linien, in die lediglich Reportergene eingebracht wurden, genehmigungsfrei ist.
- Immundefiziente Linien müssen unter Bedingungen gehalten werden, die Infektionserkrankungen sicher verhindern. Diese Bedingungen umfassen bauliche (Isolatoren, IVCs, Reinraumschränke, Barrieren), organisatorische (Hygienemonitoring, Desinfektionsprogramme, Möglichkeit zur Rederivierung mittels Embryotransfer, Sanierungspläne) und personelle (Qualifikation des Tierhaltungsmanagements, der Tierpfleger, der Tierexperimente durchführenden Personen) Komponenten. Daher ist die Zucht immundefizienter Linien nicht als Tierversuch anzusehen.[3]
- Wildtyp-Tiere von üblichen In- oder Auszuchtstämmen oder Wildtyp-Tiere ohne standardisierten genetischen Hintergrund sowie rekombinante Inzuchtstämme oder vergleichbare Varianten stellen keine genetisch veränderten Tiere dar. Sie unterliegen nicht der Genehmigungspflicht und müssen nicht an Hand der o.g. Formulare beurteilt werden.
- Linien, bei denen aufgrund der Art der genetischen Veränderung keine Belastung zu erwarten ist (z.B. Cre-Stämme, Flox-Stämme) unterliegen nicht der Genehmigungspflicht und müssen nicht an Hand der o.g. Formulare beurteilt werden.

[3] Diese Einschätzung wird aktuell (Stand Juli 2015) trotz übereinstimmender Meinung der Workshopteilnehmer kontrovers diskutiert und bedarf einer weiteren Klärung.

- 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.
- Spontanmutationen, die – wenn sie auftreten – gezielt weitergezüchtet werden sollen und bei denen Belastungen erwartet werden, unterliegen der Genehmigungspflicht.

e) Beurteilung von Linien, die bereits vor dem Inkrafttreten des neuen TSchG zum Bestand gehören

- Da die bereits vorhandenen Tierlinien teilweise schon seit Jahren in den verschiedenen Einrichtungen gezüchtet und verwendet werden, liegt in der Regel ausreichend Erfahrung über das Verhalten, die Entwicklung und mögliche Belastungen für diese Linien vor. Aus diesem Grund müssen nur die vorhandenen Linien an Hand der o.g. Formulare beurteilt werden, von denen keine ausreichenden Informationen zur Belastung vorgelegt werden können.
  Ungeachtet dessen, sollte zukünftig eine geeignete Dokumentation für nicht belastete Linien in der jeweiligen Einrichtung vorhanden sein, damit die Einstufung „keine Belastung“ überprüfbar ist.

3. Abschließende Beurteilung

Eine abschließende Beurteilung der Belastung einer genetisch veränderten Tierlinie erfolgt nach dem Vorliegen aller erfassten Daten durch den/die Projektleiter/-in in Absprache mit dem/der zuständigen Tierschutzbeauftragten der betreffenden Einrichtung. Werden zur Beurteilung der Belastung einer genetisch veränderten Linie neben den aufgeführten allgemeinen Beurteilungskriterien weitere Untersuchungen durchgeführt und spezielle Befunde erhoben, fließen diese in die Abschlussbeurteilung ein.

Die abschließende Beurteilung wird im Formular „Abschließende Beurteilung“ zusammengefasst und dient der Vorlage bei den Behörden.

4. Bezeichnung der beantragten genetisch veränderten Tierlinien

Zur Vermeidung von Verletzungen des Patent- oder Urheberrechtes muss bei der Beantragung der Generierung einer neuen, genetisch veränderten Tierlinie lediglich eine einrichtungsinterne Bezeichnung für die beantragte Linie angegeben werden. Der Antragsteller ist verpflichtet, die genaue Bezeichnung der neuen Linie gemäß internationaler Nomenklatur unmittelbar nach der wissenschaftlichen Veröffentlichung der Linie bei der Behörde anzugeben.

Formular
Version 2 vom 21. Juli 2015

„Beurteilung neugeborener Wurf“*

*spätestens beim ersten Umsetzen

Haltungsort (Angabe Institut und Raum): _____
_____
_____

Haltungsform (z. B. IVC, „offener“ Käfig, Filtertop, Isolator etc.; gegebenenfalls Hygienestatus angeben):_____
_____

Besitzer: _____
_____

Herkunft (Name Züchter, externes Labor etc.):
_____

Linie (internationale Bezeichnung):
Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig!
_____
_____

Besonderheiten aktuell (z. B. Lärm wegen Baustelle, Bestandssanierung, Umzug von Räumen etc.):
_____
_____

Linie (interne Bezeichnung): _____

Bezeichnung des/r veränderten Gens/e: _____
_____

Hintergrund der Linie: _____
_____

Erwartete Eigenschaften (kurze Beschreibung): _____
_____

Muttertier Nr.: _____ Vatertier Nr.: _____ Wurf geboren am: _____ Generation: _____

Anzahl geboren: _____ Datum der Beurteilung: _____

Hinweise auf embryonale Letalität: _____
_____

Farbe der Neugeborenen	□ normal	□ Abweichungen (bitte angeben, z. B. blass)	
Aktivität der Neugeborenen	□ normal	□ Abweichungen (bitte angeben, z. B. auffallende Unruhe)	
Größe, Entwicklung d. Neugeborenen	□ homogen	□ inhomogen	Gewicht □ normal □ reduziert □ gesteigert
Milk Spot	□ vorhanden	□ nicht vorhanden	
Pflege durch das Muttertier	□ normal	□ Abweichungen (bitte angeben, z. B. Vernachlässigung, Kannibalismus)	
Sonstige Auffälligkeiten			

Name der/des Beurteilenden: _____

Formular

Version 2 vom 21. Juli 2015

„Beurteilung Wurf beim Absetzen“

Haltungsort (Angabe Institut und Raum): _____
_____
_____

Haltungsform (z. B. IVC, „offener“ Käfig, Filtertop, Isolator etc.; gegebenenfalls Hygienestatus angeben):_____
_____

Besitzer: _____
_____

Herkunft (Name Züchter, externes Labor etc.):
_____

Linie (internationale Bezeichnung):
Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig!
_____
_____

Besonderheiten aktuell (z. B. Lärm wegen Baustelle, Bestandssanierung, Umzug von Räumen etc.):
_____
_____

Linie (interne Bezeichnung): _____

Bezeichnung des/r veränderten Gens/e: _____
_____

Hintergrund der Linie: _____
_____

Erwartete Eigenschaften (kurze Beschreibung): _____
_____

Muttertier Nr.: _____ Vatertier Nr.: _____ Wurf geboren am: _____ Generation: _____

Anzahl geboren: _____ Anzahl abgesetzt: _____ Differenz geboren/abgesetzt: _____

Identifikationsnummer								
Absetzdatum								
Geschlecht								
Körpergewicht								
Auffälligkeiten[(1)] Bitte Buchstaben siehe Fußnote angeben!								
Identifikationsnummer								
Absetzdatum								
Geschlecht								
Körpergewicht								
Auffälligkeiten [(1)] Bitte Buchstaben siehe Fußnote angeben!								

Auffälligkeiten vor dem Absetzen	Datum:			
	Auffälligkeiten[(1)]: Bitte Buchstaben siehe Fußnote angeben!			

[(1)] Auffälligkeiten:
a = keine Auffälligkeiten
b = haarlose Stellen
c = Kümmerer
d = Bisswunden
e = Mikrophthalmie
f = Elefantenzähne
g = Hydrozephalus
h = andere (bitte benennen)

Datum:_____ Name der/des Beurteilenden:_____

Formular
Version 2 vom 21. Juli 2015

„Beurteilung Einzeltier“
erste Beurteilung im Alter von 2 Monaten, dann im Abstand von 3 Monaten*

*bei Auffälligkeiten, auch zwischen den einzelnen Untersuchungen, werden die Untersuchungsintervalle verkürzt

Linie (interne Bezeichnung): _____ Linie (internationale Bezeichnung): Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig! _____

Besitzer: _____ Haltungsform: _____

Tier-Nr.: _____ aus Wurf vom: _____ Geschlecht: _____ Generation: _____ Genotyp: _____

Bei Auffälligkeiten entsprechenden Buchstaben eintragen! (siehe Code am Fuß der Tabelle)
Die Auswahl mehrerer Auffälligkeiten ist möglich!

Datum								
Name des/der Beurteilenden								
	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig
Ernährungszustand[1]								
Körperhaltung[2]								
Verhalten und Motorik[3]								
Fell und Körperöffnungen[4]								
Reaktion auf Handling [5]								
Sonstiges[6]								
Gewicht (g)								
Datum								
Name des/der Beurteilenden								
	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig	normal	auffällig
Ernährungszustand[1]								
Körperhaltung[2]								
Verhalten und Motorik[3]								
Fell und Körperöffnungen[4]								
Reaktion auf Handling [5]								
Sonstiges[6]								
Gewicht (g)								

[1] Ernährungszustand:
a = abgemagert
b = übergewichtig
c = dehydriert

[2] Körperhaltung:
a = gekrümmt
b = kauernd

[3] Verhalten und Motorik:
a = Absonderung
b = apathisch
c = Stereotypien
d = Bewegung reduziert
e = Lähmungen
f = Krämpfe

[4] Fell:
a = gesträubt
b = verschmutzt

Körperöffnungen:
c = red tears
d = Diarrhoe/Ausfluss

[5] Reaktion auf Handling:
a = aggressiv
b = ängstlich
c = teilnahmslos

[6] Sonstiges:
a = Tumoren
b = Entzündungen der Haut
c = Verletzungen
d = Kannibalismus
e = Lautäußerungen
f = Rektumprolaps
g = anderes (bitte benennen)

Todesdatum und Besonderheiten bei Sektion:

_____

_____

_____

_____

Formular
Version 2 vom 21. Juli 2015

Abschlussbeurteilung genetisch veränderter Zuchtlinien

Einrichtung und Adresse_____
Straße: _____ PLZ:_____Ort:_____

Beurteilte Linie (internationale Bezeichnung):
Angabe erst nach Publikation der Linie notwendig!
_____

Beurteilte Linie (interne Bezeichnung):
_____

Beschreibung der genetischen Veränderung(en), sofern noch nicht in Datenbanken beschrieben ist, was zur Belastung führt:
_____
_____

Haltungsform der beurteilten Tiere: _____
_____

Genorte und die berücksichtigten Genotypen: _____
_____

Beurteilte Tiere

Anzahl: _____ davon weiblich: _____ und männlich: _____
durchschnittliches Alter der Tiere bei Abschluss der Beurteilung: _____ ± Stabw.: _____
durchschnittliche Anzahl der Beurteilungen pro Tier: _____ ± Stabw.: _____

Auffälligkeiten im Hinblick auf:	Aufgetreten:	Bei wie vielen Tieren?	Auffälligkeiten im Hinblick auf:	Aufgetreten	Bei wie vielen Tieren?
Ernährungs-zustand	ja ☐ nein ☐		Tumor	ja ☐ nein ☐	
Körperhaltung	ja ☐ nein ☐		Haut-veränderungen	ja ☐ nein ☐	
Reaktion auf Handling	ja ☐ nein ☐		Verletzungen	ja ☐ nein ☐	
Fell/Körper-öffnungen	ja ☐ nein ☐		Kannibalismus	ja ☐ nein ☐	
Verhalten	ja ☐ nein ☐		Rektumprolaps	ja ☐ nein ☐	
Motorik	ja ☐ nein ☐				
andere Auffälligkeiten: _____					
Traten bei einzelnen Tieren mehrere Auffälligkeiten auf: (Erläuterung dazu bei der abschließenden Beurteilung)		ja ☐ nein ☐			

Bei weiblichen Tieren

Mittlere Wurfgröße pro weiblichem Tier: _____ ± Stabw.

Durchschnittliche Aufzuchtverluste: _____
(Differenz geb. – abgesetzt ± Stabw.)

Belastungshinweise aus weiteren Untersuchungen

_____
_____

Abschließende Beurteilung

(wenn notwendig, bitte Beiblatt verwenden) – evtl. streichen, wenn im Dokument Zeilen hinzugenommen werden können

Die Belastungen werden als keine ☐ gering ☐ mittel ☐ schwer ☐ eingestuft.

Begründung: *(nachvollziehbare Beschreibung der Ausprägung der Belastung, gefundene Auffälligkeiten müssen beschrieben und bewertet werden)* _____
_____

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: _____
_____

Namen des Projektleiters und des Tierschutzbeauftragten: _____
_____

Ort: _____ Datum: _____

Kenntnis genommen: _____
(Projektleiter und Tierschutzbeauftragter)

DEUTSCHES ZENTRUM ZUM SCHUTZ VON VERSUCHSTIEREN

Bundesinstitut für Risikobewertung

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 Direktive 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 Direktive 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 Direktive betroffen sind, ein gemeinsames Verständnis über die Anforderungen der Direktive zu vermitteln. Alle Aussagen sollten im Kontext der Direktive 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 Direktive 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 Direktive 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 Inzuchtstämme 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-mediierte 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 Rahmengenehmigungen (gemäß Artikel 40 (4) der Direktive 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 Direktive 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. [4]
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.

[4] Diese Einschätzung wird aktuell (Stand Juli 2015) trotz übereinstimmender Meinung der Workshopteilnehmer kontrovers diskutiert und bedarf einer weiteren Klärung.

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.