

# Empfehlung

aus dem Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragte

## zur Nutzung von Ohrstanzen zur Genotypisierung von Labornagern

Stand: 25.02.2014

## Inhaltsverzeichnis

Hintergrund .....	3
Empfehlung.....	3
Literatur.....	5
Autoren .....	5
Impressum .....	5

## Hintergrund

Versuchstierhaltungen mit gentechnisch veränderten Tieren sind darauf angewiesen, dass die Tiere zu ihrer Unterscheidbarkeit markiert und der jeweilige Genotyp des einzelnen Tieres festgestellt und sicher zugeordnet werden kann.

## Empfehlung

Die angewandten Methoden sollten sich im Sinne der Forschung und des Tierschutzes am aktuellen Stand der Wissenschaft orientieren. Neben den wissenschaftlichen Zielen ist diejenige Methode zu wählen, die für das Tier die schonendste darstellt. Die Berliner Tierschutzbeauftragten wirken auf eine Verfeinerung der Methoden für die Markierung und Genotypisierung von Versuchstieren hin. Aktuelle Empfehlungen der entsprechenden FELASA-Arbeitsgruppen ([1,2](#)) sollen bei der Methodenwahl berücksichtigt werden.

Um Probenmaterial in Form von genomischer DNA bei Mäusen und Ratten zu gewinnen, werden in der Regel zwei Verfahren angewendet: das Kürzen der Schwanzspitze um maximal 5 mm oder die Lochung der Ohren. Die Mitglieder des Arbeitskreises der Berliner Tierschutzbeauftragten kennen diese Praxis von wissenschaftlichen Arbeitsgruppen, die sie an ihren Instituten betreuen, und aus selbst durchgeführten Versuchsvorhaben. Darüber hinaus wurden Erfahrungen mit der Gewinnung von Material aus Haarpfropfen, Oralabstrichen und Kotproben gewonnen. Obgleich die zuletzt genannten Methoden für die Tiere sehr schonend sind, haben sie sich in der Praxis als nicht praktikabel erwiesen. So kommt es dabei leicht zu Kreuzkontaminationen und der Genotyp kann aufgrund der geringen DNA-Menge oft nicht oder nicht sicher festgestellt werden. Laut einer Untersuchung von Garzel und Kollegen lassen sich mit diesen Methoden nur zwischen 1 ng und im Falle der Kotproben höchstens knapp 80 ng DNA gewinnen, während aus dem bei Ohrlochungen anfallenden Material deutlich mehr als 1 µg DNA gewonnen werden kann ([3](#)).

In der Regel werden Genotypen mittels spezifischer PCR-Reaktionen mit der aus dem Probenmaterial gewonnenen genomischen DNA bestimmt. 2 ng genomischer DNA sind prinzipiell zur Durchführung einer PCR Reaktion ausreichend. Das heißt also, dass auch wenig Material ausreichend ist, um den Genotypen eines Tieres sicher feststellen zu

können. Wir halten es nur in wenigen Fällen für notwendig, auf die Biopsie der Schwanzspitze zurückzugreifen, in denen Material für andere molekularbiologische Methoden gewonnen werden muss, die größere DNA-Mengen erfordern (z.B. Southern Blot).

Versuchstiere müssen in der Haltung zu Identifizierungszwecken dauerhaft markiert sein. Für gentechnisch veränderte Tiere leitet sich eine eindeutige Identifizierungspflicht aus der Gentechnik-Sicherheitsverordnung her. Alle Tiere müssen dementsprechend leicht und versuchsbezogen zu identifizieren sein (4). Zusätzlich muss der Genotyp mittels PCR für wissenschaftliche Zwecke bestimmt werden.

Um die Belastung der Tiere zu minimieren, sind Verfahren vorzuziehen, die beide Ziele mit einem einzigen Eingriff erreichen. Hierzu bietet sich bei Nagetieren vor allem das kombinierte Lochen und Kerben der Ohren an. Korrekt durchgeführt, lassen sich die Tiere anhand des Musters eindeutig identifizieren. Gleichzeitig kann das ausgestanzte Gewebestück als Quelle für genomische DNA zur Genotypisierung dienen. Dabei müssen die Löcher einen Durchmesser von rund 2 mm haben, um ein Zuwachsen zu verhindern. Weil dazu eine gewisse Mindestgröße der Ohren erforderlich ist, sollten die Tiere mindestens 14 Tage alt sein, um die Methode tierschutzgerecht durchführen zu können. Das Material reicht aus, um genomische DNA für mehrere PCR-Reaktionen zu extrahieren.

Die Markierung der Tiere stellt eine zootechnische Maßnahme dar und ist in der Zucht von ansonsten nicht unterscheidbaren Tieren unerlässlich. Die Richtlinie 2010/63/EU schließt Praktiken, die hauptsächlich zum Zwecke der Identifizierung eines Tieres angewandt werden, aus dem Geltungsbereich der Richtlinie aus (5). Spezielle Vorschriften für die Markierung von Versuchstieren sind in der nationalen Gesetzgebung nicht zu finden.

Aus den genannten Gründen sind wir der Auffassung, dass die Markierung von Nagern mittels Ohrlochung nicht anzeigespflichtig ist. Das gewonnene Gewebe für die Genotypisierung stellt lediglich ein Nebenprodukt des Markierungsprozesses dar.

Der Arbeitskreis der Berliner Tierschutzbeauftragten empfiehlt - im Sinne eines Refinements - das Gewebe der Ohrlochung für die Genotypisierung zu verwenden.

## Literatur

- (1) Dahlborn, K.; Bugnon, P.; Nevalainen, T.; Raspa, M.; Verbost, P.; Spangenberg, E. (2013): Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on animal identification. In: *Laboratory Animals* 47 (1), S. 2-11.
- (2) Bonaparte, O.; Cinelli, P.; Douni, E.; Herault, Y; Maas, A; Pakarinen, P. et al. (2013): FELASA guidelines for the refinement of methods for genotyping genetically-modified rodents: Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group. In: *Laboratory Animals* 47 (3), S. 134-145.
- (3) Garzel LM, Hankenson FC, Combs J, Hankenson KD. Use of quantitative polymerase chain reaction analysis to compare quantity and stability of isolated murine DNA. In: *Lab Animal* 39 (9), S. 283-9.
- (4) Verordnung über die Sicherheitsstufen und Sicherheitsmaßnahmen bei gentechnischen Arbeiten in gentechnischen Anlagen (Gentechnik-Sicherheitsverordnung - GenTSV) Neugefasst durch Bek. v. 14.3.1995 I 297; zuletzt geändert durch Art. 4 V v. 18.12.2008 I 2768, BGBl. I 1995, 319-321
- (5) Richtlinie 2010/63/EU zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (Tierversuchs-Richtlinie), ABl. Nr. L 276 vom 20.10.2010, Artikel 1 Abs. 5e

## Autoren

Dr. Boris Jerchow, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin

Anne Zintzsch, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin

## Impressum

Arbeitskreis Berliner Tierschutzbeauftragte e.V.

c/o: Dr. Boris Jerchow

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin

Robert-Rössle-Straße 10

13125 Berlin-Buch

E-Mail: [info@ak-tierschutzbeauftragte.berlin](mailto:info@ak-tierschutzbeauftragte.berlin)