



Komisja
Europejska

Opieka nad zwierzętami

dążenie do lepszego podejścia naukowego

DYREKTYWA 2010/63/EU
W SPRAWIE OCHRONY ZWIERZĄT WYKORZYSTYWANYCH
DO CEŁÓW NAUKOWYCH



**GENETYCZNIE ZMIENIONE
ZWIERZĘTA**

Komisja Europejska nie ponosi odpowiedzialności za skutki wynikające z ponownego wykorzystania niniejszej publikacji.
Luksemburg: Urząd Publikacji Unii Europejskiej, 2022



© Unia Europejska, 2022

Komisja Europejska wdrożyła politykę ponownego wykorzystywania swoich dokumentów zgodnie z decyzją Komisji 2011/833/UE z dnia 12 grudnia 2011 r. w sprawie ponownego wykorzystywania dokumentów Komisji (Dz.U. L 330 z 14.12.2011, s. 39).

Z wyjątkiem przypadków, w których stwierdzono inaczej, ponowne wykorzystywanie tego dokumentu jest dozwolone na podstawie licencji Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). Oznacza to, że ponowne wykorzystywanie jest dozwolone pod warunkiem odpowiedniego poinformowania o autorze oraz o wszelkich zmianach wprowadzonych w dokumencie.

W przypadku wykorzystania lub powielania elementów, które nie są własnością Unii Europejskiej, konieczne może być uzyskanie zgody bezpośrednio od właściwych podmiotów prawa autorskiego.

Print ISBN 978-92-76-52207-2
PDF ISBN 978-92-76-52179-2

doi:10.2779/44303
doi:10.2779/787

KH-09-22-172-PL-C
KH-09-22-172-PL-N

**Zasady dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt
zgodnie z dyrektywą 2010/63/UE w sprawie ochrony
zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych**

Właściwe organy krajowe odpowiedzialne za wdrażanie dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych

Dokument roboczy dotyczący genetycznie zmienionych zwierząt mający na celu spełnienie wymogów dyrektywy

- *Zastępujący dokument przyjęty na zasadzie konsensusu z 22–23 marca 2012 r. –*

Bruksela, 25–26 listopada 2021 r.

W 2011 r. Komisja powołała dwie grupy robocze ekspertów w celu 1) opracowania wspólnego formatu sprawozdawczości statystycznej oraz 2) oceny dotkliwości procedur, aby ułatwić wdrożenie dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych.

W wyniku tych prac krajowe punkty kontaktowe państw członkowskich ds. wdrażania dyrektywy 2010/63/UE na posiedzeniu w dniach 22–23 marca 2012 r. zatwierdziły wytyczne dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt, a następnie na posiedzeniu w dniach 11–12 lipca 2012 r. zatwierdzono system oceny dobrostanu genetycznie zmienionych zwierząt (włączony do załącznika). Sprostowanie do załącznika zatwierdzono w dniu 23 stycznia 2013 r.

W związku z szybkim rozwojem technologicznym na przestrzeni ostatniej dekady oraz widocznymi trudnościami w osiągnięciu jednolitego porozumienia co do terminu i zakresu wymaganego pozwolenia oraz sposobu zgłaszania zwierząt wykorzystywanych do tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, Komisja Europejska zorganizowała w Brukseli w dniach 27–28 czerwca 2018 r. posiedzenie dodatkowej grupy roboczej ekspertów ds. tworzenia, hodowli i utrzymywania genetycznie zmienionych zwierząt. Po spotkaniu utworzono szereg podgrup, których zadaniem było opracowanie ram oceny dobrostanu w odniesieniu do najczęściej wykorzystywanych genetycznie zmienionych gatunków, a także określenie elementów informacji, które powinny być przekazywane wraz z genetycznie zmienionymi zwierzętami w przypadku przesyłania ich między ośrodkami lub do miejsc poza UE w celu zapewnienia odpowiednich praktyk hodowli i opieki, które pomogą w optymalnym stosowaniu praktyk ograniczania i udoskonalania.

Zwrócono się do wszystkich państw członkowskich i głównych organizacji zainteresowanych stron o wyznaczenie ekspertów, którzy przedstawią swoje uwagi i wezmą udział w dyskusji. Niniejszy dokument został opracowany na podstawie prac wszystkich wyżej wymienionych grup roboczych ekspertów, dyskusji z państwami członkowskimi oraz wkładu prawnego Komisji. Został zatwierdzony przez właściwe organy krajowe odpowiedzialne za wdrażanie dyrektywy 2010/63/UE na posiedzeniu w dniach 25–26 listopada 2021 r.

Zastrzeżenie prawne:

Poniższe wytyczne mają pomóc państwom członkowskim i innym podmiotom, których dotyczy dyrektywa 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (zmieniona rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1010), w osiągnięciu wspólnego zrozumienia przepisów zawartych w tej dyrektywie i ułatwić jej wdrożenie. Wszystkie uwagi należy rozpatrywać w kontekście tej dyrektywy 2010/63/UE oraz decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE. Treść tego dokumentu nie nakłada dodatkowych obowiązków poza tymi, które zostały określone w dyrektywie.

Jedynie Trybunał Sprawiedliwości Unii Europejskiej jest upoważniony do interpretowania prawa UE w sposób prawnie wiążący.

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE	7
--------------------	---

CZĘŚĆ 1: PROCEDURY ADMINISTRACYJNE DOTYCZĄCE GENETYCZNIE ZMIENIONYCH ZWIERZĄT	9
--	----------

1. INFORMACJE OGÓLNE.....	9
2. RAMY PRAWNE	10
3. DZIAŁANIA OBJĘTE DEFINICJĄ PROCEDURY I WYMAGAJĄCE POZWOLENIA NA PROJEKT	11
4. SCHEMAT DOTYCZĄCY WYMAGAŃ W ODNIESIENIU DO POZWOLENIA NA PROJEKT W ZAKRESIE TWORZENIA I UTRZYMYWANIA ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE LINII ZWIERZĄT	20
5. RODZAJE PROJEKTÓW I PROCESY WYDAWANIA POZWOLEŃ	22
6. KLUCZOWE ELEMENTY WE WNIOSKU PROJEKTOWYM DOTYCZĄCYM OCENY PROJEKTU.....	24
7. ZMIANY W POZWOLENIACH NA PROJEKTY	24

CZĘŚĆ 2: ZASADA 3R W TWORZENIU, HODOWLI I UTRZYMYWANIU GENETYCZNIE ZMIENIONYCH ZWIERZĄT	26
--	-----------

1. DOSTĘPNOŚĆ ISTNIEJĄCYCH ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE LINII ZWIERZĄT	26
2. WYBÓR METOD TWORZENIA NOWYCH ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE LINII ZWIERZĄT	28
3. UDOSKONALENIA W PROCEDURACH OBEJMUJĄCYCH GRYZONIE (MYSZY I SZCZURY).....	29
<i>Superowulacja</i>	29
<i>Wazektomia</i>	29
<i>Transfer zarodków</i>	30
<i>Indukcja i tłumienie aktywności genów</i>	30
4. CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA.....	30
5. OCENA DOBROSTANU.....	33
6. HODOWLA, OPIEKA I UTRZYMANIE ORAZ ZARZĄDZANIE NADWYŻKAMI ZWIERZĄT.....	34
<i>Minimalizowanie nadwyżek</i>	34
<i>Równowaga między udoskonalaniem a ograniczeniem</i>	37
<i>Krioprezewacja</i>	37

CZĘŚĆ 3: SYSTEMY OCENY DOBROSTANU ZWIERZĄT W ODNIESIENIU DO NAJBARDZIEJ ROZPOWSZECHNIONYCH GATUNKÓW ZMIENIONYCH GENETYCZNIE	39
--	-----------

1. WPROWADZENIE	39
2. UWAGI OGÓLNE	39
3. SEKCJA A SZABLONU OCENY DOBROSTANU W ODNIESIENIU DO WSZYSTKICH GATUNKÓW I PUNKTÓW CZASOWYCH.....	43
4. SEKCJA B SZABLONU OCENY DOBROSTANU W ODNIESIENIU DO OKREŚLONYCH GATUNKÓW	45
<i>System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych gryzoni</i>	45
Sekcja B szablonu oceny dobrostanu gryzoni	46

Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu noworodków do czasu odsadzenia od matki.....	48
<i>System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych ryb (ryby kostnoszkieletowe).....</i>	<i>50</i>
Sekcja B szablon oceny dobrostanu ryb.....	52
Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu form larwalnych.....	55
Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu dojrzałych płciowo, dorosłych form ..	55
<i>System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych świń hodowlanych lub świnek miniaturowych.....</i>	<i>56</i>
Sekcja B – Szablon oceny dobrostanu świń hodowlanych lub świnek miniaturowych.	57
Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu noworodków	59
<i>System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych kurcząt.....</i>	<i>60</i>
Sekcja B – Szablon oceny dobrostanu kurcząt.....	61
CZEŚĆ 4: PRZEKAZYWANIE INFORMACJI DOTYCZĄCYCH GENETYCZNIE ZMIENIONYCH ZWIERZĄT	64
1. PODSTAWOWE ZASADY	64
2. SEKCJA C – SZABLON TRANSFERU DOTYCZĄCY WYMAGAŃ ZAKRESIE OPIEKI I HODOWLI GENETYCZNIE ZMIENIONYCH ZWIERZĄT	66
CZEŚĆ 5: SPRAWOZDAWCZOŚĆ ZWIĄZANA Z GENETYCZNIE ZMIENIONYMI ZWIERZĘTAMI	68
1. OGÓLNE RAMY PRAWNE	68
2. SCHEMAT BLOKOWY WYMOGÓW W ZAKRESIE SPRAWOZDAWCZOŚCI STATYSTYCZNEJ I SPRAWOZDAŃ Z WYKONANIA DOTYCZĄCYCH STWORZENIA, UTRZYMANIA I WYKORZYSTYWANIA GENETYCZNIE ZMIENIONYCH ZWIERZĄT	69
3.1. ROCZNA SPRAWOZDAWCZOŚĆ STATYSTYCZNA.....	71
<i>Wymogi prawne dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt i wymogi dotyczące rocznej sprawozdawczości statystycznej.....</i>	<i>71</i>
<i>Zgłaszanie zwierząt wykorzystanych do stworzenia zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt</i>	<i>71</i>
<i>Zgłaszanie zwierząt wykorzystanych do utrzymania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt</i>	<i>72</i>
<i>Zgłaszanie zwierząt, które przekazuje się między procedurami, projektami, ośrodkami lub państwami członkowskimi</i>	<i>72</i>
3.2. SPRAWOZDANIE Z WYKONANIA SPORZĄDZANE CO PIĘĆ LAT	78
<i>Wymogi prawne dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt i sprawozdania z wykonania przedstawiane przez państwa członkowskie.....</i>	<i>78</i>
<i>Zwierzęta hodowane, uśmiercone i niewykorzystywane</i>	<i>78</i>
<i>Pobieranie próbek tkanek</i>	<i>79</i>
DODATKI.....	85
DODATEK I: PRZYKŁADY BAZ DANYCH DOTYCZĄCYCH ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE LINII ZWIERZĄT	85

DODATEK II: WNIOSEK PROJEKTOWY I OCENA TWORZENIA I UTRZYMYWANIA ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE LINII ZWIERZĄT	86
<i>Wprowadzenie</i>	86
<i>Część A: Poglądowe przykłady najważniejszych informacji wymaganych we wniosku projektowym dotyczącym genetycznie zmienionych zwierząt</i>	86
<i>Opis projektu</i>	86
<i>Nietechniczne streszczenie projektu</i>	87
<i>Wykaz elementów, o których mowa w art. 37 ust. 1 lit. c) i załączniku VI</i>	87
<i>Część B: Poglądowy przykład oceny wniosków dotyczących projektów związanych z genetycznie zmienionymi zwierzętami</i>	99
DODATEK III: BIBLIOGRAFIA	112
DODATEK IV: GŁOSARIUSZ TERMINÓW	114

Wprowadzenie

W 2017 r. genetycznie zmienione zwierzęta stanowiły prawie jedną trzecią (2,59 mln) wszystkich zwierząt wykorzystywanych w badaniach naukowych i testach w UE¹. Najczęściej zgłaszanymi gatunkami genetycznie zmienionych zwierząt były myszy i danio pręgowany, choć odnotowano także znaczną liczbę płazów z rodzaju *Xenopus*, królików i szczurów, a także mniejszą liczbę osobników innych gatunków, takich jak świnki morskie, psy, świnie, owce, ptactwo domowe i inne gatunki ryb. 64 % danio pręgowanych oraz 38 % myszy wykorzystywanych w badaniach i testach było genetycznie zmienionych.

W art. 1 w związku z art. 3 i 17 dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, zwanej dalej „dyrektywą”, stworzenie i utrzymanie genetycznie zmienionego zwierzęcia uznaje się za „procedurę” naukową, jeśli urodzenie się lub wylęg mogą spowodować u zwierzęcia ból, cierpienie, dystres lub trwałe uszkodzenie w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym, zgodnie z dobrą praktyką weterynaryjną. W związku z tym, oprócz zwierząt wykorzystywanych bezpośrednio w badaniach i testach, definicją procedury objęte są również zwierzęta potrzebne do tworzenia nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt oraz zwierzęta wykorzystywane do utrzymywania (hodowli) istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt z upośredzającym fenotypem. W 2017 r., oprócz genetycznie zmienionych zwierząt wykorzystywanych w badaniach i testach, liczba stworzonych i utrzymywanych genetycznie zmienionych zwierząt wyniosła prawie 1,3 mln². Ponadto, w wyniku tworzenia genetycznie zmienionych zwierząt i programów hodowlanych mających na celu zapewnienie wystarczającej dostępności wymaganych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, dodatkowe 6,1 miliona zwierząt zgłoszono jako uśmiercone bez ich wykorzystania w procedurze³.

W związku z tym należy zwrócić uwagę na techniki tworzenia i utrzymywania genetycznie zmienionych zwierząt oraz na specyficzne cechy przekazywane w wyniku zmiany genetycznej w celu zapewnienia stosowania zasad 3R przy tworzeniu genetycznie zmienionych zwierząt, w trakcie ich hodowli i wykorzystywania oraz w opiece nad tymi zwierzętami. Ponadto, aby ułatwić jednolite zrozumienie wymogów dyrektywy, uznano za konieczne opracowanie dalszych wytycznych dotyczących odpowiednich procedur administracyjnych i obowiązków sprawozdawczych wynikających z dyrektywy i związanej z nią decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE.

W części 1 niniejszych wytycznych przedstawiono ramy prawne i formalne obowiązki wynikające z dyrektywy oraz podano informacje na temat kluczowych elementów, które należy uwzględnić i szczegółowo omówić na potrzeby wniosku projektowego oraz oceny projektu, aby ułatwić zachowanie zgodności.

¹Komisja Europejska; [Sprawozdanie statystyczne z 2019 r., dokument roboczy służb Komisji, SWD\(2020\) 10 final](#); (2020 r.).

²Komisja Europejska; [Dokument roboczy służb Komisji SWD\(2017\) 353 final/2](#); (2017 r.).

³Komisja Europejska; [Sprawozdanie z wdrożenia dyrektywy 2010/63/UE, dokument roboczy służb Komisji, SWD\(2020\) 15 final](#); (2020 r.).

W części 2 omówiono zastosowanie zasad 3R w ramach działań i procedur związanych z tworzeniem i utrzymaniem zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt i które powinny być dokładnie rozważone przez hodowców, użytkowników, osoby oceniające i kontrolujące projekty, oraz przedstawiono ogólne zasady, których należy przestrzegać.

W częściach 3 i 4 niniejszych wytycznych omówiono system oceny dobrostanu zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt niezbędny do ułatwienia identyfikacji skutków zmiany genetycznej w celu:

- umożliwienia klasyfikacji zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt w zależności od tego, czy uważa się ją za posiadającą upośledzający czy nieupośledzający fenotyp;
- zapewnienia narzędzi do monitorowania zdrowia i dobrostanu genetycznie zmienionych zwierząt;
- zapewnienia odpowiedniej opieki i warunków utrzymania dostosowanych do potrzeb linii;
- zapewnienia koniecznych informacji na temat opieki i dobrostanu genetycznie zmienionych zwierząt, jeżeli zwierzęta mają być przeniesione do innego ośrodka.

Opracowano szereg szablonów dla użytkowników w celu zapewnienia praktycznych i przydatnych wskazówek obejmujących następujące obszary:

- W **sekcji A w szablonie oceny dobrostanu dotyczącego wszystkich gatunków i punktów czasowych** wyszczególniono istotne informacje, takie jak opis i nazwa linii, zmiany genetyczne, szczegóły oceny (data, osoba oceniająca), a także podano ostateczną przysługę klasyfikację dotkliwości przypisaną linii;
- W **sekcji B w szablonie oceny dobrostanu dotyczącego poszczególnych gatunków** wyszczególniono elementy i ustalenia charakterystyczne dla gatunków podlegających ocenie;
- **Sekcja C - szablon transferu dotyczący wymagań w zakresie opieki i hodowli genetycznie zmienionych zwierząt** opiera się na wynikach oceny dobrostanu zwierząt, dostarczając informacji na temat problemów związanych z dobrotanem zwierząt w danej linii, szczególnych potrzeb w zakresie utrzymywania i opieki i/lub sugestii dotyczących strategii doskonalenia.

Wszystkie trzy dokumenty razem zapewnią niezbędne informacje i powinny towarzyszyć genetycznie zmienionym zwierzętom podczas przemieszczania w obrębie i między ośrodkami.

Ponadto w części 5 omówiono prawne obowiązki sprawozdawcze związane z genetycznie zmienionymi zwierzętami podczas tworzenia i utrzymywania linii oraz przedstawiono dalsze wytyczne w celu zapewnienia zgodności z wymaganiami dotyczącymi zarówno rocznej sprawozdawczości statystycznej, jak i pięcioletniej sprawozdawczości dotyczącej wdrażania.

Część 1: Procedury administracyjne dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt

1. Informacje ogólne

Od 2011 r. powołano szereg grup roboczych ekspertów w celu ustalenia sposobu postrzegania genetycznie zmienionych zwierząt w kontekście dyrektywy. Rezultatem prac tych grup roboczych ekspertów było zatwierdzenie dokumentu roboczego dotyczącego genetycznie zmienionych zwierząt⁴ oraz przyjęcie decyzji wykonawczej Komisji 2012/707/UE, w której określono między innymi sposób postępowania z genetycznie zmienionymi zwierzętami w ramach sprawozdawczości statystycznej.

Zgodnie z tekstem dyrektywy przyjęto podejście polegające na oddzieleniu stabilnych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt przejawiających upośledzający fenotyp od linii uznanych za nieposiadające upośledzającego fenotypu. Było to podyktowane głównie zniesieniem konieczności uzyskania specjalnego pozwolenia na projekt i związanego z tym obciążenia administracyjnego w odniesieniu do linii nieprzejawiających upośledzającego fenotypu, w przypadku których nie istnieje prawdopodobieństwo wystąpienia ryzyka bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia, zgodnie z definicją „procedury” zawartą w art. 3 ust. 1. W tym kontekście należy jednak zauważyć, że niezależnie od tego, czy dane działanie wymaga wyraźnego pozwolenia na *projekt*, wszystkie zwierzęta hodowane do celów naukowych są objęte zakresem dyrektywy, a co za tym idzie mogą być hodowane wyłącznie przez upoważnione ośrodki, które spełniają wymagania prawodawstwa.

W praktyce oddzielenie linii przejawiających upośledzający fenotyp od nieprzejawiających upośledzającego fenotypu sprawiło trudności zarówno organom, jak i podmiotom, a także doprowadziło do niespójności praktyk w zakresie uznawania linii za przejawiającą upośledzający fenotyp lub nieprzejawiającą upośledzającego fenotypu, kryteriów stosowanych przy podejmowaniu decyzji oraz późniejszej sprawozdawczości państw członkowskich. Ponadto różnice w podejściu do pozwoleń na projekty dotyczące tworzenia nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt (od pozwoleń na projekty dotyczące jednej linii do projektów obejmujących wiele zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt) uniemożliwiły stworzenie równych warunków działania dla podmiotów, co jest jednym z kluczowych celów dyrektywy. Kwestie te podkreślono zarówno w sprawozdaniu z przeglądu dyrektywy opublikowanym w 2017 r.⁵, jak i w pierwszym sprawozdaniu UE dotyczącym wdrażania dyrektywy, opublikowanym w 2020 r.³. Krajowe punkty kontaktowe państw członkowskich uznały za stosowne wprowadzenie dodatkowych wyjaśnień i wskazówek. Dodatkowe wyjaśnienia i precyzyjne wskazówki zawarto w decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE, zastępującej decyzję 2012/707/UE.

⁴ Właściwe organy krajowe odpowiedzialne za wdrażanie dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych; [Dokument roboczy dotyczący genetycznie zmienionych zwierząt](#); (2013 r.).

⁵ Komisja Europejska; [Sprawozdanie zgodnie z art. 58 dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych](#); (2017 r.).

W pierwszej części wytycznych dotyczących genetycznie zmienionych zwierząt omówione zostaną główne zasady i kluczowe elementy związane z wnioskami dotyczącymi projektów, oceną projektów jak również z pozwoleniami na projekty dotyczące tworzenia i utrzymywania genetycznie zmienionych zwierząt.

2. Ramy prawne

Dyrektywa 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych obejmuje swoim zakresem tworzenie, utrzymywanie i wykorzystywanie genetycznie zmienionych zwierząt w Unii. W decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE zawarto dalsze instrukcje dotyczące praktycznego wdrożenia.

Jak opisano powyżej, dyrektywa obejmuje wszystkie zwierzęta wykorzystywane do celów naukowych, zarówno genetycznie zmienione (z fenotypem upośledzającym lub bez niego), jak i konwencjonalne/dzkie. Hodowcy zwierząt muszą uzyskać pozwolenie i prowadzić działalność zgodnie z dyrektywą. Nadzór sprawują organy, które są zobowiązane do przeprowadzania regularnych inspekcji u hodowców, dostawców i użytkowników zwierząt. Działania objęte definicją „procedury” można podejmować wyłącznie w ramach zatwierdzonego projektu. Pozwolenie na projekt może zostać wydane wyłącznie na podstawie pozytywnej oceny projektu dokonanej przez właściwy organ. Ocena projektu musi zapewniać przestrzeganie zasady 3R oraz przekonać organ, że szkody wyrządzone zwierzętom są uzasadnione oczekiwanymi korzyściami, biorąc pod uwagę względy etyczne.

W celu określenia, jakie działania wchodzą w zakres procedury i w konsekwencji wymagają pozwolenia na projekt, art. 3 ust. 1 dyrektywy obejmuje definicją „procedury” wszelkie czynności mające na celu lub mogące **spowodować urodzenie się lub wylęg zwierzęcia lub stworzenie i utrzymanie zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, które mogą spowodować u zwierzęcia ból, cierpienie, dystres lub trwale uszkodzenie w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym, zgodnie z dobrą praktyką weterynaryjną.**

Jak stwierdzono w decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE, do celów dyrektywy, termin „genetycznie zmienione zwierzęta” obejmuje zwierzęta zmienione genetycznie (transgenicznie, metodą knock-out i za pomocą innych modyfikacji genetycznych) oraz zwierzęta, u których mutacja wystąpiła naturalnie lub została indukowana, zgodnie z definicją zawartą w art. 3 ust. 1.

Ponadto w art. 3 ust. 1 określono minimalny próg bólu, cierpienia, dystresu lub trwałych uszkodzeń, po przekroczeniu którego daną czynność uznaje się za „procedurę” i wymaga ona pozwolenia w ramach projektu (art. 12 ust. 2).

W art. 17 określono, że „procedura” kończy się wówczas, gdy nie będą już wykonywane dalsze obserwacje dotyczące tej procedury lub, **w przypadku nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, gdy nie obserwuje się ani nie przewiduje, że potomstwo będzie odczuwać ból, cierpienie, dystres lub trwale uszkodzenie** w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym.

W decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE opisano ponadto, że nową linię uważa się za „stabilną”, gdy przekazywanie zmiany genetycznej jest stabilne (co najmniej dwa pokolenia)

oraz gdy zakończono ocenę dobrostanu zwierząt. Wymagany jest wkład naukowy dotyczący prawdopodobnych skutków zmian genetycznych oraz czasu, w jakim zmiany te mogą się ujawnić. Informacje/dowody uzyskane podczas oceny dobrostanu zwierząt oraz pozostały wkład naukowy pozwolą określić, czy dana linia zostanie sklasyfikowana jako przejawiająca upośledzający fenotyp/nieprzejawiająca upośledzającego fenotypu, jeśli będzie hodowana i utrzymywana jako stabilna linia. W kontekście utrzymywania stabilnych linii w art. 1 ust. 2 stwierdza się między innymi, że **eliminacja bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia poprzez skuteczne zastosowanie znieczulenia, zniesienia czucia bólu lub innych metod nie wyklucza** wykorzystywania zwierzęcia w procedurach z zakresu stosowania niniejszej dyrektywy. **Hodowla zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, które zachowują ryzyko rozwoju upośledzającego fenotypu** (np. ryzyko infekcji z powodu upośledzonego układu odpornościowego) **niezależnie od zastosowanego udoskonalenia** (stosowanie barier/ warunków zgodnych z zasadami bioasekuracji), **wymaga pozwolenia na projekt** zgodnie z art. 1 ust. 2, ponieważ zastosowanie udoskonalenia **nie eliminuje całkowicie ryzyka**, a jedynie ogranicza je w tym kontekście (pozytywne interwencje wymagane do ograniczenia ryzyka).

Podobnie w przypadku spodziewanych chorób występujących w określonym wieku zwierzęcia można przewidzieć, że działania niepożądane wystąpią w późniejszym okresie życia, w miarę starzenia się zwierząt, np. nadciśnienie. W przypadku okresowego uśmiercania zwierząt w celu zapobieżenia wystąpieniu szkodliwych skutków, nie eliminuje to zagrożenia dla linii, a jedynie dla pojedynczego uśmierconego zwierzęcia. W związku z tym linie te muszą być **klasyfikowane jako przejawiające upośledzający fenotyp**, a ich utrzymywanie wymaga pozwolenia na projekt.

W rzadkich przypadkach badania obejmujące całe życie mogą wykazać brak szkód lub skrócenia długości życia w przypadku zapadalności na te choroby. W takim przypadku linię można ponownie zaklasyfikować jako nieprzejawiającą upośledzającego fenotypu i od tego momentu nie będzie wymagane pozwolenie na projekt.

Wreszcie, należy przypomnieć definicję projektu zawartą w art. 3 ust. 2, zgodnie z którą „projekt” oznacza **program pracy mający określony cel naukowy** i obejmujący jedną procedurę lub większą ich liczbę (przykłady można znaleźć w Załączniku II).

3. Działania objęte definicją procedury i wymagające pozwolenia na projekt

Zgodnie z powyższymi postanowieniami dyrektywy **utworzenie** nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt jest z zasady uznawane za procedurę, ponieważ konsekwencje utworzenia nowej linii nie zawsze można w pełni określić z wyprzedzeniem.

Wyjątkiem jest sytuacja, gdy krzyżuje się/krzyżuje się wstecznie dwie linie o nieupośledzającym fenotypie i gdy można racjonalnie oczekiwać, że nowa linia nie spowoduje powstania upośledzającego fenotypu – wymóg uzyskania pozwolenia na projekt może nie mieć zastosowania. Decyzję tę należy wyraźnie odnotować w ośrodku, w którym

zwierzęta są hodowane. Po uzyskaniu potomstwa należy potwierdzić, że linia nie wykazuje upośledzającego fenotypu, stosując ocenę dobrostanu, jak opisano w sekcji 3. Wszystkie te zwierzęta pozostają pod ochroną i kontrolą ośrodka jako zwierzęta hodowane do celów naukowych.

Utrzymanie stabilnej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt jest uważane za procedurę, gdy linia ta ma upośledzający fenotyp.

Ponadto w trakcie tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt przeprowadza się szereg szczególnych czynności, takich jak superowulacja, wazektomia, transfer zarodków i pobieranie próbek tkanek do celów genotypowania. Większość z tych czynności wchodzi w zakres definicji „procedury” określonej w art. 3 ust. 1 dyrektywy.

W przypadku pobierania próbek tkanek należy stosować najmniej inwazyjną metodę, która umożliwia uzyskanie próbki DNA odpowiedniej pod względem jakości i ilości w celu przeprowadzenia rzetelnej procedury genotypowania. O ile to możliwe, metoda ta powinna jednocześnie zapewniać wysoce wiarygodną identyfikację/znakowanie. Wykorzystanie nadmiaru tkanki z metody identyfikacji / znakowania nie jest uważane za procedurę (art. 1 ust. 5 lit. e)).

Poniższa tabela zawiera przegląd najczęściej spotykanych czynności oraz informacje o tym, kiedy wymagane jest uzyskanie pozwolenia na projekt.

Działanie	Uwagi	Pozwolenie jest wymagane	Pozwolenie nie jest wymagane
Tworzenie nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt	Manipulacje genetyczne dokonywane na gametach lub embrionach	Tworzenie nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt wymaga pozwolenia na projekt.	
	Krzyżowanie istniejących linii	Utworzenie nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt poprzez <i>skrzyżowanie różnych linii w celu stworzenia nowej, zmienionej genetycznie linii, której fenotyp nie może zostać z góry określony jako nieupośledzający</i> wymaga pozwolenia na projekt, jak wskazano w decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE (załącznik III, część B; sekcja B – Kategorie wprowadzanych danych – pkt 8) w odniesieniu do obowiązków w zakresie sprawozdawczości statystycznej dotyczącej wykorzystywania zwierząt.	W przypadku tworzenia nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt poprzez krzyżowanie/krzyżowanie wsteczne dwóch linii o nieupośledzającym fenotypie i <u>gdy można racjonalnie oczekiwać</u> że nowa linia nie spowoduje powstania upośledzającego fenotypu , wymóg uzyskania pozwolenia na projekt może nie mieć zastosowania. W takich przypadkach właściwy organ musi wziąć pod uwagę zasady podejmowania decyzji w ośrodku i upewnić się, że wprowadzono procedury umożliwiające szybkie uzyskanie pozwolenia na projekt, jeśli te przewidywania okażą się błędne.
	Mutageneza	W celu wywołania przypadkowych mutacji w komórkach rozrodczych stosuje się ekspozycję chemiczną lub napromieniowanie, które w wielu przypadkach są szkodliwe dla potomstwa. Ekspozycja rodzica i potomstwa wymaga pozwolenia na projekt.	

	Samorzutne szkodliwe mutacje	Mutacje powstają samorzutnie w każdej hodowli i w niektórych przypadkach prowadzą do pojawienia się upośledzających cech, które są przedmiotem zainteresowania naukowców. Jeśli takie zwierzęta są utrzymywane, hodowane, dostarczane lub wykorzystywane do celów naukowych, wymagane jest uzyskanie pozwolenia na projekt.	<p>Szkodliwe mutacje pojawiające się u pojedynczych zwierząt lub w miotach, które są natychmiast uśmiercane, upośledzająca cecha jest identyfikowana i rodzice nie są wykorzystywani ponownie do rozmnażania.</p> <p>Niektóre linie wsobne „typu dzikiego” wykazują sporadycznie upośledzające cechy, takie jak wodogłowie u myszy B6. Linie te nie są utrzymywane w celu badania wodogłowia. Wszystkie zwierzęta, u których wykryto taką cechę, zostaną natychmiast uśmiercone. Podjęte zostaną starania w celu ograniczenia częstości występowania tej cechy w drodze doboru hodowlanego.</p>
Utrzymanie istniejącej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt	Fenotyp linii	<p>Hodowla istniejącej linii przejawiającej upośledzający fenotyp</p> <p>Linie posiadające ocenę dobrostanu (opisaną w części 3), która wykazała, że w danej linii istnieje ryzyko wystąpienia upośledzającego fenotypu powyżej minimalnego progu bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia w ciągu życia zwierzęcia.</p> <p>Hodowla linii przejawiających upośledzający fenotyp poprzez krzyżowanie het x het lub het x typ dziki w celu ograniczenia/wyeliminowania ryzyka przejawiania upośledzającego fenotypu nadal wymaga pozwolenia.</p>	<p>Hodowla istniejącej linii nieprzejawiającej upośledzającego fenotypu</p> <p>Linie posiadające ocenę dobrostanu (opisaną w części 3), która wykazała, że w okresie życia zwierzęcia prawdopodobnie nie wystąpią żadne szkody przekraczające minimalny próg bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia, np. niektóre linie z białkiem zielonej fluorescencji (GFP).</p> <p>Jeśli u zwierząt ze zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt nieprzejawiającej upośledzającego fenotypu (tj. które nie są hodowane w ramach pozwolenia na projekt) wystąpią szkodliwe skutki, ocenę dobrostanu zwierząt należy zweryfikować i zaktualizować, a linię przeklasyfikować z linii nieprzejawiającej</p>

			upośledzającego fenotypu na linię przejawiającą upośledzający fenotyp. Należy niezwłocznie wystąpić do właściwego organu o pozwolenie na utrzymanie linii i hodowlę kolejnych zwierząt.
Linie o obniżonej odporności	Linie o obniżonej odporności są szczególnie wrażliwe na zakażenie w wyniku modyfikacji genetycznej i w celu ich ochrony muszą być utrzymywane w specjalnych warunkach hodowli, np. w szczególnym biologicznie bezpiecznym środowisku, a także mogą wymagać dodatkowej opieki, przewyższającej opiekę nad zwierzętami konwencjonalnymi w celu zachowania ich zdrowia i dobrostanu. Takie linie są określane jako linie przejawiające upośledzający fenotyp i wymagające pozwolenia na projekt; Decyzja wykonawcza Komisji 2020/569/UE, załącznik III, część B, sekcja A przepisy ogólne, pkt 11. 7.		
Linie, w których upośledzający fenotyp objawia się w określonym wieku	Upośledzające fenotypy obejmują zmodyfikowane genetycznie linie zwierząt w których upośledzający fenotyp objawia się w określonym wieku , w decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE w załączniku III, część B, pkt 11. 7 stwierdzono, że <i>“... Wśród takich zwierząt znajdują się między innymi zwierzęta wymagające... dodatkowej opieki, przewyższającej opiekę nad zwierzętami konwencjonalnymi w celu zachowania ich zdrowia i dobrostanu.”</i>		
Linie utworzone za pomocą	Hodowla skrzyżowanych linii utworzonych za pomocą systemu Cre-lox do przejawienia upośledzającego fenotypu wymaga pozwolenia na projekt.	Hodowla nieskrzyżowanych linii Cre lub Lox nieprzejawiających upośledzającego fenotypu, nie wymaga pozwolenia na projekt.	

	systemu Cre-lox		
	Linie indukowane lub wytłumione	<p>W celu „uaktywnienia” upośledzającego fenotypu podano czynnik indukujący.</p>	<p>Linie, w których genetyczna modyfikacja fenotypu jest aktywna tylko podczas podawania czynnika indukującego (np. tamoksyfenem, tetracykliną itp.): uważa się, że nie mają one upośledzającego fenotypu do czasu indukcji i nie wymagają pozwolenia przed indukcją.</p>
		<p>Linie niewykazujące upośledzającego fenotypu, w których fenotyp uwarunkowany genetycznie zostaje wytłumiony w wyniku leczenia środkami tłumiącymi (takimi jak tetracyklina) ze względu na konieczność podjęcia określonych działań mających na celu utrzymanie linii o nieupośledzającym fenotypie, wymagają pozwolenia na projekt.</p> <p>W decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE w załączniku III część B sekcja A pkt 11. 7 stwierdzono, że „... Wśród takich zwierząt znajdują się między innymi zwierzęta wymagające... dodatkowej opieki, przewyższającej opiekę nad zwierzętami konwencjonalnymi w celu zachowania ich zdrowia i dobrostanu.”</p>	
	Linie z genami reporterowym i		<p>Obecność genów reporterowych w genomie i cząsteczek powstających z tych genów nie powoduje sama w sobie powstania upośledzającego fenotypu. W związku z tym hodowla linii, do których</p>

			wprowadzono tylko geny reporterowe, nie wymaga pozwolenia.
Charakterystyka genetyczna	Inwazyjne pobieranie próbek tkanek	Pobieranie próbek tkanek w drodze przycinania uszu, jeśli nie jest przeprowadzane w celu identyfikacji/znakowania, np. w przypadku stosowania alternatywnych metod identyfikacji, takich jak mikroczipowanie.	Nadmiar tkanki powstałej w wyniku identyfikacji/oznakowania zwierzęcia (np. znakowania uszu ale z wyłączeniem obcinania ogona lub płetw).
		Pobieranie próbek tkanek w drodze obcięcia ogona lub płetw (nie są to metody odpowiednie do identyfikacji/znakowania osobników).	
		Pobieranie próbek tkanek przez przycinanie paliczków/palców, jeśli nie są one wykorzystywane do identyfikacji/znakowania.	Nadmiar tkanki pochodzący z identyfikacji/znakowania w drodze usunięcia jednego paliczka dalszego, w którym to przypadku nadal uważa się to za najbardziej udoskonaloną metodę identyfikacji poszczególnych zwierząt, np. u nowonarodzonych gryzoni.
		Próbka krwi (metoda nie nadaje się do identyfikacji/znakowania osobników).	
			Tkanka uzyskana metodą inwazyjną, ale dopiero po stwierdzeniu zgonu (<i>post mortem</i>).
	Nieinwazyjne pobieranie próbek		Poniżej minimalnego progu bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia (zgodnie z definicją zawartą w art. 3 ust. 1) – metody takie jak wykorzystanie kału, pobieranie próbek sierści.

			Metody obserwacyjne, np. kolor sierści, światło fluorescencyjne UV.
Wazektomia		Procedura chirurgiczna wymagana w przypadku samców, aby umożliwić wykorzystanie ich do wywołania ciąży urojonej. Tylko procedura chirurgiczna wymaga pozwolenia (późniejsze krycie naturalne nie jest procedurą, zob. poniżej).	
Superowulacja		Iniekcja wymagana do celów naukowych przekracza minimalny próg bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia, a zatem jest procedurą.	
Transfer zarodków		Wymaga chirurgicznego wszczepienia lub wprowadzenia rurki przez szyjkę macicy (niechirurgiczny transfer zarodków), co przekracza minimalny próg bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia, a zatem jest procedurą.	
Krycie naturalne		<p>Naturalne krycie, gdy jedno z rodziców ma upośledzający fenotyp.</p> <p>W przypadku gdy krzyżówka spowoduje powstanie upośledzającego fenotypu, np. krzyżówki uzyskanej za pomocą systemu Cre-Lox, wymagane jest pozwolenie na projekt dotyczący narodzin lub wylęgu potomstwa (art. 3 ust. 1).</p>	<p>Krzyżowanie/krzyżowanie wsteczne dwóch linii o nieupośledzającym fenotypie i gdy można racjonalnie oczekiwać, że nowa linia nie spowoduje powstania upośledzającego fenotypu – wymóg uzyskania pozwolenia na projekt nie będzie mieć zastosowania.</p> <p>Wykorzystanie zwierząt poddanych wazektomii do krycia w celu wywołania ciąży urojonej nie jest procedurą.</p>

Rederywacja		W przypadku przeprowadzania wyłącznie w celach naukowych , np. gdy na reakcje immunologiczne może mieć wpływ obecny patogen lub obecne patogeny, ale zdrowie zwierząt nie jest zagrożone.	W przypadku przeprowadzania rederywacji z uwagi na zdrowie lub dobrostan kolonii, tj. gdy konieczne jest usunięcie patogenu, ponieważ w przeciwnym razie zwierzęta będą cierpieć z powodu złego stanu zdrowia, np. w przypadku wirusa zapalenia wątroby myszy (MHV).
Krioprezerwacja		Techniki z wykorzystaniem żywych zwierząt, wymagane do przeprowadzenia kriokonserwacji do celów naukowych, gdy są wykonywane w celu zachowania linii.	W przypadku stosowania ich w celu zachowania linii w drodze wykorzystania zamrożonego nasienia pochodzącego od uśmierconych zwierząt.

Przy rozpatrywaniu poszczególnych procedur ustalenie konieczności uzyskania pozwolenia na projekt jest uzależnione od celu działania, tj. od tego, czy jest ono prowadzone w celach naukowych, czy dla dobra danego zwierzęcia lub jego kolonii. Poniżej przedstawiono dalsze wyjaśnienia na dwóch przykładach:

Rederywacja

Drobnoustroje mogą być patogenne lub komensalne. Wiele rederywacji jest koniecznych w celu usunięcia drobnoustrojów komensalnych, które mogą mieć wpływ na wyniki badań naukowych. Jeśli rederywacja nie ma na celu poprawy dobrostanu zwierzęcia (zwierząt) i jest przeprowadzana w celu stworzenia lub zachowania zwierząt/kolonii o odpowiedniej jakości i konsystencji na potrzeby nauki, wówczas jest ona przeprowadzana w celach naukowych i musi spełniać wymagania dyrektywy, w tym w zakresie pozwolenia na projekt, szkolenia osób zaangażowanych itp. Jeżeli wyznaczony lekarz weterynarii stwierdzi jednak, że rederywacja zwierzęcia lub kolonii w celu wyeliminowania patogenów z kolonii leży w interesie ich dobrostanu, nie będzie ona objęta definicją „procedury” i zgodnie z dyrektywą nie będzie wymagane pozwolenie na projekt. Działania te będą wykonywane zgodnie z odpowiednim prawem weterynaryjnym obowiązującym w danym państwie członkowskim. Proces decyzyjny, liczby itp. należy zgłaszać w weterynaryjnej dokumentacji medycznej (Ramy kształcenia i szkolenia, moduł 24 24.15), a procedury powinny być wykonywane przez lekarzy weterynarii lub przez osoby, którym mogą oni zgodnie z prawem udzielić upoważnienia (jeżeli jest to właściwe lokalnie). Zapewnia to elastyczność, ale decyzja musi być odpowiednio udokumentowana i uzasadniona zgodnie z odpowiednim prawodawstwem.

Krioprezerwacja

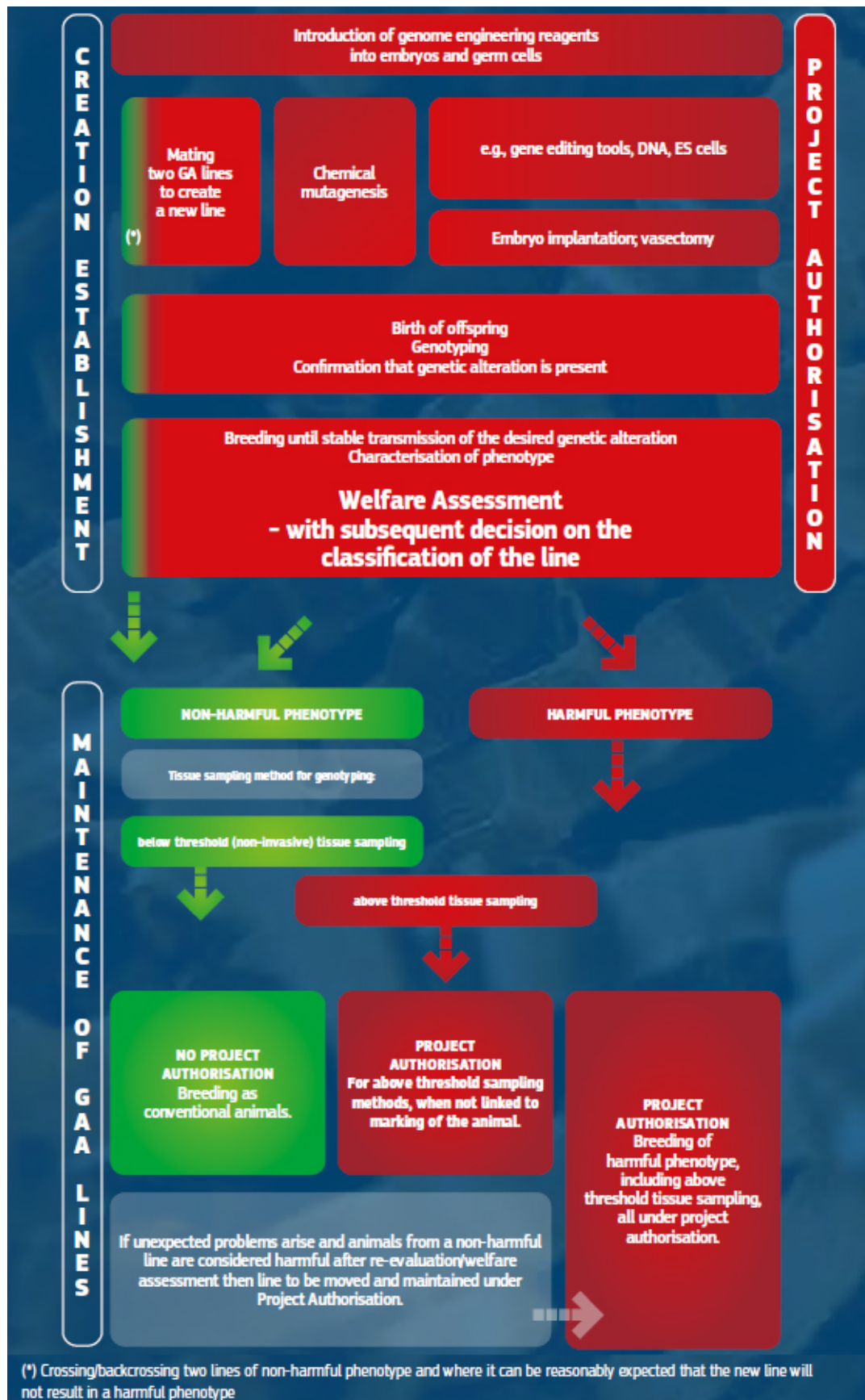
Krioprezerwacja (superowulacja z pobieraniem komórek jajowych/zarodków po ich uśmierceniu lub pobieranie nasienia z zamrożeniem gamet/zarodków, odtworzenie określonej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt) jest przeprowadzana w celu zachowania integralności naukowej i przydatności zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, np. aby zapobiec rearanzacji genomowej, którą stwierdzono w kolonii. Wykorzystanie żywych zwierząt do krioprezerwacji w celach naukowych wymaga pozwolenia na projekt. Jedynie krioprezerwacja z wykorzystaniem zamrożonego nasienia pochodzącego od uśmierconych zwierząt nie mieści się w definicji „procedury”.

4. Schemat dotyczący wymagań w odniesieniu do pozwolenia na projekt w zakresie tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

W schemacie na następnej stronie przedstawiono kluczowe etapy od utworzenia do założenia i utrzymania zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt oraz związane z tym wymagania dotyczące pozwolenia na projekt, czyli obszary zaznaczone na czerwono. Można go pobrać w formie plakatu na stronie

https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_posters_en.htm

Schemat dotyczący wymagań w odniesieniu do pozwolenia na projekt w zakresie tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt



5. Rodzaje projektów i procesy wydawania pozwoleń

Aby osiągnąć cele dyrektywy dotyczące równych warunków działania dla podmiotów w całej Unii, konieczne jest jednolite podejście do wydawania pozwoleń na projekty obejmujące tworzenie i utrzymywanie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt. Pomimo wysiłków mających na celu ułatwienie jednolitego stosowania dyrektywy, z informacji zwrotnych otrzymanych od użytkowników w 2016 r. na potrzeby przeglądu dyrektywy⁵ na podstawie art. 58 wynika, że w procesach wydawania pozwoleń na projekty w odniesieniu do tworzenia i utrzymania genetycznie zmienionych zwierząt występują znaczne różnice, począwszy od wymogu składania oddzielnego wniosku dotyczącego projektu dla każdej nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, a skończywszy na większej elastyczności oferowanej przez wiele typowych projektów, w ramach których można utworzyć i utrzymywać wiele linii na podstawie jednego pozwolenia na projekt – co powoduje różnice w kosztach i opóźnienia w prowadzeniu badań. W odpowiedziach udzielonych w ramach przeglądu wskazano również na trudności w przemieszczaniu genetycznie zmienionych zwierząt między państwami członkowskimi ze względu na różne podejścia do wydawania pozwoleń i różne klasyfikacje linii (linia upośledzająca i linia nieupośledzająca), co może potencjalnie zagrażać dobrostanowi zwierząt.

Od czasu przyjęcia dyrektywy techniki edycji genomu bardzo się rozwinęły. Jedną z najbardziej znaczących zmian, będącą wynikiem wprowadzenia technik CRISPRCas/9, dotyczy dostępności nowych technologii i szybkości procesu tworzenia. Dzięki tej technologii wiele linii można utworzyć w czasie o wiele krótszym niż w przypadku wcześniejszych metod, co pozwala na stopniowe wybieranie linii, które powinny być dalej rozwijane. Ta zmiana, która nastąpiła od czasu przyjęcia dyrektywy, ma jeszcze większy wpływ na powiązane procesy administracyjne w państwach członkowskich/regionach, gdzie projekt jest zatwierdzany na poziomie pojedynczej linii, a nie wielu linii w obrębie danego obszaru chorobowego/badawczego.

W tym kontekście należy przypomnieć, że projekt został zdefiniowany jako „program pracy mający określony cel naukowy”. Dyrektywa wymaga ponadto przeprowadzenia oceny projektu na poziomie szczegółowości odpowiednim dla danego projektu, przy jednoczesnym realistycznym oszacowaniu szkód i oczekiwanych korzyści oraz zapewnieniu zastosowania w projekcie zasady 3R.

W art. 38 wzywa się do niezbędnej elastyczności w odniesieniu do stopnia szczegółowości wymaganego w ocenie projektu, a w art. 40 ust. 4 i w niektórych przypadkach w art. 42 przewidziano możliwość uproszczenia procesów administracyjnych. Tworzenie nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt różni się od utrzymywania stabilnych genetycznie zmienionych zwierząt do celów produkcyjnych. Należy jednak zauważyć, że często projekty obejmują zarówno tworzenie, jak i utrzymywanie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.

We wniosku projektowym należy zatem zawrzeć wystarczająco dużo szczegółów, aby umożliwić przeprowadzenie oceny projektu zgodnie z wymogami dyrektywy, a jednocześnie zminimalizować obciążenie administracyjne zarówno dla podmiotów, jak i organów.

Zmiany w projektach dotyczących tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt omówiono w sekcji 7.

Działania wymagane w ramach pozwolenia na projekt obejmują

- tworzenie nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt (z wyjątkiem sytuacji, gdy tworzy się nową zmodyfikowaną genetycznie linię zwierząt poprzez krzyżowanie/krzyżowanie wsteczne **dwóch linii z fenotypem nieupośledzającym i można w uzasadniony sposób oczekiwać, że nowa linia nie będzie miała upośledzającego fenotypu** – wymóg uzyskania pozwolenia na projekt może nie mieć zastosowania).
- techniki wymagane do stworzenia nowych linii, np. wazektomia, superowulacja;
- utrzymanie stabilnych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt przejawiających upośledzający fenotyp;
- pobieranie próbek tkanek (niezależnie od fenotypu linii, w przypadku stosowania ponadprogowych metod pobierania próbek tkanek do celów genotypowania);

Należy zatem zauważyć, że nawet jeśli utrzymanie linii nieprzejawiającej upośledzającego fenotypu nie wymaga pozwolenia na projekt, to prawdopodobnie ośrodek będzie musiał posiadać pozwolenie na projekt w przypadku takich procedur, jak inwazyjne pobieranie próbek tkanek do celów genotypowania.

Zalecenia

W celu zharmonizowania i uproszczenia praktyk administracyjnych, aby zmniejszyć obciążenie administracyjne zarówno dla środowiska naukowego, jak i organów, oraz aby zapewnić zgodność z zasadą 3R, należy rozważyć

- odejście od projektów obejmujących wyłącznie tworzenie pojedynczych linii na rzecz projektów obejmujących **tworzenie linii dla określonego obszaru chorobowego lub innego ukierunkowanego tematu projektu;**
- połączenie w jednym projekcie wszystkich działań związanych z genetycznie zmienionymi zwierzętami, tj. tworzenia, hodowli, utrzymywania i innych procedur związanych z genetycznie zmienionymi zwierzętami;
- poziom szczegółowości wniosku projektowego:
 - z jednej strony, aby zapewnić odpowiednie uwzględnienie wszystkich elementów niezbędnych do oceny zgodności projektu z zasadą 3R i poprawy dobrostanu zwierząt (w tym wymogi dotyczące opieki i utrzymywania zwierząt);
 - z drugiej strony, aby wymagane informacje były ograniczone do elementów istotnych dla analizy stosunku szkodliwości projektu i korzyści z niego płynących (w tym proponowanego ponownego wykorzystania)
- wykorzystanie wielu typowych projektów, jak przewidziano w art. 40 ust. 4 dyrektywy, np. pozwolenia obejmujące wiele linii wymaganych do zbadania patogenezы choroby neuronu ruchowego, w przypadku gdy fenotypy będą podobne lub mogą być w inny sposób opisane w ramach zintegrowanego programu prac.

6. Kluczowe elementy we wniosku projektowym dotyczącym oceny projektu

Ocena projektu musi zapewniać zgodność z wymogami dyrektywy, w tym uwzględnienie wszystkich wymaganych elementów z załącznika VI do dyrektywy oraz wdrożenie zasady 3R w odniesieniu do tych działań. W części 3 niniejszego dokumentu przedstawiono szereg zaleceń dotyczących sposobów wdrożenia zasady 3R w ramach różnych działań związanych z tworzeniem i utrzymaniem zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.

Należy zadbać o to, aby wniosek projektowy zawierał wystarczający poziom szczegółowości, który pozwoli stwierdzić, czy takie elementy należycie uwzględniono w ocenie.

W dodatku II, część A, podano przykłady rodzajów informacji wymaganych we wniosku projektowym w celu utworzenia i utrzymania genetycznie zmienionych zwierząt, a w dodatku II, część B, przedstawiono zagadnienia i uwagi, które należy uwzględnić w takim wniosku podczas oceny projektu.

7. Zmiany w pozwoleniach na projekty

W art. 44 dyrektywy stwierdza się, że zmiany są wymagane tylko wtedy, gdy zmiany w projekcie mogą mieć negatywny wpływ na dobrostan zwierząt. Takie zmiany w projekcie mogą skutkować zwiększeniem liczby zwierząt, wprowadzeniem nowych gatunków lub zwiększeniem dotkliwości procedur w stosunku do pierwotnie zatwierdzonych.

W kontekście projektów dotyczących tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, tworzenie nowych linii prawdopodobnie spowoduje zwiększenie wymaganej liczby zwierząt, a zakończenie oceny dobrostanu może spowodować zmianę dotkliwości. W przypadku gdy można przewidzieć nowe linie w momencie składania wniosku, można je uwzględnić jako grupę, np. linie oznaczające neurony lub linie wykazujące oznaki dystrofii mięśniowej. Będzie jednak wiele projektów, które będą wymagały zmian w trakcie ich trwania, np. wzrost zapotrzebowania lub zmiany kierunku naukowego/dodatkowe kierunki naukowe.

Kolejnym przykładem może być potrzeba szybkiego rozpatrywania zmian, w przypadku których zidentyfikowano dodatkowe kwestie związane z dobrostanem, wykraczające poza początkowo rozważane. Dwoma przykładami mogą być

1. linie przejawiające upośledzający fenotyp o dotkliwości większej niż oczekiwana (np. w prospektywnej klasyfikacji uznano dotkliwość za łagodną, ale w praktyce okazało się, że zwierzęta doświadczają umiarkowanej dotkliwości), lub
2. nieoczekiwane szkodliwe skutki w linii pierwotnie sklasyfikowanej jako nieprzejawiającej upośledzającego fenotypu, wymagające włączenia tej linii do pozwolenia na projekt.

Struktura i treść wniosków projektowych oraz szczegóły wymagane w procesie wydawania pozwoleń mogą mieć bardzo istotny wpływ na liczbę zmian, które mogą być wymagane w okresie pięciu lat.

Zalecenia

- ☐ Uwzględnienie struktury i kluczowych elementów wniosku w celu zminimalizowania liczby zmian, przy jednoczesnym zapewnieniu wystarczającego poziomu szczegółowości dla przeprowadzenia oceny projektu.
- ☐ Ograniczenie wymogu wprowadzania zmian tylko do tych zmian, które mogą mieć negatywny wpływ na dobrostan zwierząt lub w przypadku konieczności ponownej oceny analizy stosunku szkodliwości projektu i korzyści z niego płynących.

Część 2: Zasada 3R w tworzeniu, hodowli i utrzymywaniu genetycznie zmienionych zwierząt

Zastosowanie zasady 3R w tworzeniu, utrzymaniu i hodowli genetycznie zmienionych zwierząt

Zasadę 3R (zastąpienie, ograniczenie i udoskonalenie) należy stosować na wszystkich etapach, od rozpoczęcia projektu, poprzez tworzenie, hodowlę i dostarczanie genetycznie zmienionych zwierząt.

W niniejszej części 2 wytycznych zwrócono uwagę na obszary, w których zastosowanie zasady 3R wymaga szczególnego rozważenia w tym kontekście.

1. Dostępność istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

Nie należy tworzyć żadnej linii, jeśli jest ona już dostępna lub jeśli dostępna jest alternatywa, która pozwoli uzyskać wyniki naukowe. Istnieje jednak szereg kwestii, które mogą utrudniać dostęp do informacji o istniejących już zmodyfikowanych genetycznie liniach zwierząt i dostęp do takich linii.

Istnieje szereg specjalistycznych baz danych dotyczących istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt. Przykłady takich istniejących baz danych podano w dodatku I. Jak to jednak często bywa, stale tworzone są nowe bazy danych, natomiast starsze są usuwane lub nie są prowadzone. Ponadto nie istnieje żadna skonsolidowana platforma wymiany informacji między różnymi organizacjami lub ośrodkami badań naukowych na temat istniejących linii różnych gatunków i szczepów.

Modele genetycznie zmienionych zwierząt niekoniecznie są udostępniane poszczególnym grupom badawczym w obrębie ośrodków, a tym bardziej nie są udostępniane na zewnątrz, czy to grupom badawczym spoza własnego ośrodka i/lub kraju, czy też w ramach otwartego dostępu.

Mogą pojawić się problemy związane z poufnością lub własnością intelektualną, które opóźniają, a w niektórych przypadkach uniemożliwiają dostęp do technologii i nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.

Stan zdrowia może nie być odpowiedni. W takim przypadku należy podjąć decyzję, czy lepszym rozwiązaniem jest rederywacja zwierząt o odpowiednim statusie wolnym od patogenów, czy też odtworzenie linii.

Zalecenia:

- ☐ W celu uniknięcia niepotrzebnego powielania przed podjęciem decyzji o stworzeniu nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt należy systematycznie przeszukiwać dostępne bazy danych dotyczące istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt. Powielanie linii powinno mieć miejsce tylko wtedy, gdy istnieje szczególne uzasadnienie naukowe, brak dostępności lub problem z dostępem do istniejącej linii.

- ☐ Należy regularnie sprawdzać status baz danych (czy są stale prowadzone), które są wykorzystywane do wyszukiwania istniejących linii, oraz zapewnić dokładne przeszukiwanie w celu zidentyfikowania nowych baz danych, które mogły powstać w międzyczasie.
- ☐ Wspólna platforma wymiany informacji o istniejących liniach różnych gatunków i szczepów przyniosłaby obopólne korzyści, zmniejszając koszty powielania (czasu i zasobów) i przyczyniając się do ich ograniczenia i udoskonalenia.
- ☐ Grupy badawcze i ciała doradcze ds. dobrostanu zwierząt powinny dokonać przeglądu wewnętrznego wykorzystania genetycznie zmienionych zwierząt, aby upewnić się, że nie dochodzi do powielania w obrębie ośrodka. Jeśli powszechnie stosowane modele są w posiadaniu poszczególnych grup, racjonalizacja do pojedynczej kolonii hodowlanej pozwala na lepsze planowanie w celu bardziej efektywnego wykorzystania zwierząt, zmniejszenia nadwyżek i większej kontroli takich kwestii, jak rearanżacja genomowa.
- ☐ Grupy badawcze powinny rozważyć zewnętrzne dostawy genetycznie zmienionych zwierząt, aby uniknąć powieleń związanych z hodowlą i zarządzaniem koloniami genetycznie zmienionych zwierząt, co jest nieodłącznym elementem wielu rozproszonych kolonii. Konsolidacja linii, takich jak te, które są nosicielami określonych rekombinaz, alleli warunkowych lub genów reporterowych, poprawiłaby wydajność i ograniczyłaby nadwyżki zwierząt w skali krajowej i międzynarodowej.
- ☐ Społeczność użytkowników powinna podjąć działania w celu poprawy otwartej wymiany informacji na temat istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt i ich dostarczania dla wzajemnych korzyści oraz w celu aktualizacji baz danych, do których mają dostęp.
- ☐ Do rejestrowania informacji na temat zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt oraz podczas wyszukiwania istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt należy stosować standardowe deskryptory wykorzystujące uzgodnioną terminologię w zakresie nomenklatury (<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>) i dobrostanu (np. www.mousewelfareterms.org).
- ☐ Repozytoria (bazy danych i urzędnicy do kriokonserwacji) powinny zawierać informacje na temat fenotypu, budowy mutacji, dobrostanu, potrzeb w zakresie trzymania i opieki. Uwzględnienie informacji o tym, czy daną linię sklasyfikowano jako posiadającą upośledzający fenotyp lub nie, pomogłoby w zapewnieniu spójności w całej Europie.
- ☐ Społeczność użytkowników genetycznie zmienionych zwierząt powinna rozważyć opracowanie strategii identyfikacji i rozwiązywania problemów związanych z poufnością lub własnością intelektualną w celu ograniczenia niepotrzebnego powielania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.
- ☐ Należy opracować standardowy zestaw informacji, które towarzyszą zwierzętom podczas przenoszenia ich do nowego ośrodka (zob. część 4 niniejszych wytycznych).

2. Wybór metod tworzenia nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

Obecnie dostępnych jest wiele metod umożliwiających tworzenie nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt. „Tradycyjne” metody manipulacji genami zostały w dużej mierze wyparte przez technologie edycji genomu z wykorzystaniem endonukleaz, wśród których dominują CRISPR (zgrupowane, regularnie rozproszone, krótkie, powtarzające się sekwencje palindromiczne)/Cas. Niewątpliwie wraz z rozwojem technik inżynierii genetycznej będą stosowane nowe, bardziej kontrolowane metody. Potencjalnymi problemami pozostają mozaikowatość, nieprzewidywalne modyfikacje w miejscu docelowym i skutki niedocelowe. W celu przezwyciężenia/zminimalizowania tych problemów konieczne może być zatrudnienie specjalistów. Transgeneza losowa wymaga dobrego uzasadnienia ze względu na nieprzewidywalne wyniki niecelowej integracji z kodującym lub regulacyjnym systemem genomu. Zarodkowe komórki macierzyste odgrywają jednak nadal ważną rolę w tworzeniu nowych modeli, gdy dąży się do złożonych zmian w genomie, w szczególności do rekombinacji homologicznej dłuższych fragmentów genomu.

Technologia CRISPR/Cas9 wspiera i umożliwia tworzenie nowych genetycznie zmienionych zwierząt dzięki czemu wielu naukowców może stworzyć nową linię łatwiej niż przy użyciu istniejących już metodologii.

O tym, która metoda zostanie zastosowana, decydują na ogół potrzeby naukowe. Każda metoda oferuje inne wyzwania i możliwości zarówno pod względem naukowym, jak i w odniesieniu do realizacji zasady 3R, w szczególności w odniesieniu do liczby wymaganych zwierząt. Na liczbę zwierząt ma również wpływ złożoność pożądanego modelu, tzn. ilość potrzebnych jednoczesnych manipulacji genami.

Należy wprowadzić systemy walidacji genów będących przedmiotem zainteresowania oraz regionów insercji/delecji, a pochodzenie hodowli powinno być zawsze identyfikowalne dzięki przejrzystej dokumentacji.

Genotypowanie powinno być specyficzne dla modyfikacji genetycznej szczepu (tj. specyficzne dla alleli), a nie dla powszechnie stosowanych transgenów, takich jak CRe, GFP, neo itp., ponieważ te sekwencje genetyczne są powszechnie spotykane w stadach laboratoryjnych i testy typowe nie pozwolą zidentyfikować, kiedy szczepy je zawierające zostały wymieszane.

Zalecenia:

- ☐ Należy rozważyć, w jaki sposób można zoptymalizować precyzyjne manipulacje przy użyciu wybranej metody generowania nowych linii oraz jak można monitorować i kontrolować niepożądane zdarzenia molekularne. W przypadku braku dostępności na miejscu specjalistycznej wiedzy w zakresie kontroli jakości genetycznej, która zapewniłaby wydajną i efektywną produkcję, należy rozważyć zlecenie tej usługi innym podmiotom.
- ☐ Należy dokładnie sprawdzić, czy dany gen odpowiada potrzebom naukowym.

- ☒ Niezależnie od wybranej metody, należy wprowadzić element zapewnienia jakości, który zagwarantuje, że pożądana struktura mutacji jest zgodna z wymaganiami podczas tworzenia nowych linii oraz że program hodowlany utrzymuje ją zgodnie z oczekiwaniami. Elementy zapewnienia jakości należy traktować jako część utrzymania integralności genetycznej tworzonego modelu.
- ☒ Należy unikać ekspansji w celu dostarczania zwierząt z linii, które nie są stabilne lub dobrze scharakteryzowane.
- ☒ Aby zapewnić dobrą integralność genetyczną, należy stosować sekwencjonowanie, rzetelne protokoły genotypowania, które mogą potwierdzić pochodzenie.

3. Udoskonalenia w procedurach obejmujących gryzonie (myszy i szczury)

Istnieje wiele okazji do zastosowania udoskonalenia podczas typowych procedur wykonywanych w celu utworzenia i utrzymania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt. Ze względu na to, że wpływ tych elementów jest różny (np. zależny od wieku lub linii), należy omówić i rozważyć wybory dotyczące wymienionych poniżej elementów w każdym przypadku z osobna.

Superowulacja

- Szczep podstawowy może mieć wpływ na liczbę uzyskanego potomstwa, a tym samym na liczbę wykorzystywanych zwierząt. Najważniejszym czynnikiem jest jednak wymóg naukowy dotyczący ostatecznego szczepu podstawowego, w którym wymagane są modyfikacje genetyczne, w celu optymalizacji produkcji i uniknięcia krzyżowania wstecznego;
- Na produkcję oocytów i zarodków ma również wpływ wiek i masa ciała samic. W przypadku superowulacji niedojrzała samica daje więcej oocytów i jest preferowana przy wytwarzaniu oocytów do zapłodnienia *in vitro* lub zarodków do krioprezerwacji. Dlatego też zaleca się stosowanie młodych samic, u których nie wystąpiła owulacja. W większości ośrodków nie łączy się młodych (małych) samic z dużymi, potencjalnie nadpobudliwymi samcami;
- W przypadku krioprezerwacji należy rozważyć wykorzystanie nasienia pobranego od uśmierconych samców przed utworzeniem i zamrożeniem zarodków. Jest to metoda bardziej udoskonalona, pozwalająca ograniczyć liczbę zwierząt potrzebnych do przechowywania;
- Należy zapewnić odpowiedni i najbardziej udoskonalony system stymulacji hormonalnej, w tym optymalny czas/odstępny czasowe, wiek i masę ciała samic, uwzględniając zarówno potrzeby naukowe, jak i dobrostan zwierząt.

Wazektomia

- Czynniki przemawiające za wykorzystaniem sterylnych samców:
 - ogólna efektywność rozplodowa zwierząt genetycznie sterylnych (potencjalnie zredukowana) w porównaniu ze zwierzętami poddanymi wazektomii oraz
 - wpływ na liczebność zwierząt w przypadku konieczności utrzymywania kolonii rozrodczej w celu dostarczenia genetycznie sterylnych samców (potencjalnie

skutkuje większą nadwyżką zwierząt, chyba że są one wykorzystywane do innych celów);

- W przypadku konieczności przygotowania samców poddanych wazektomii należy zapoznać się z najnowszymi dowodami naukowymi, aby rozważyć, czy nie należałoby wybrać nacięcia moszny zamiast podejścia brzuszego;
- W celu zapewnienia skutecznego krycia i wywołania u samic ciąży urojonej należy monitorować wydajność samców i w razie potrzeby wymieniać je w celu zapewnienia wigoru i skuteczności.

Transfer zarodków

- Wybór szczepu podstawowego ma wpływ na instynkt macierzyński/zdolności odchowawcze;
- Wiek i wagę samców wykorzystywanych do wywoływania ciąży urojonej należy dobrać tak, aby uniknąć negatywnego wpływu na dobrostan samic;
- Wykorzystanie chirurgicznego i niechirurgicznego transferu zarodków: chociaż może się wydawać, że niechirurgiczny transfer zarodków jest metodą najbardziej udoskonaloną, obecnie nie jest ona odpowiednia dla zarodków w bardzo wczesnym stadium rozwoju (0,5 dnia po zapłodnieniu), w którym to przypadku wskaźniki powodzenia są niskie. Należy ją jednak rozważyć w przypadku późniejszych przedimplantacyjnych stadiów embrionalnych;
- Metoda chirurgiczna: istnieje możliwość implantacji zarodków przez pojedyncze lub obustronne nacięcie. Możliwości należy rozważyć w porozumieniu z wyznaczonym lekarzem weterynarii, biorąc pod uwagę oczekiwane sukcesy każdej z metod oraz zróżnicowany wpływ na dobrostan zwierząt.

Indukcja i tłumienie aktywności genów

- Fakt, że fenotyp u mutantów indukowalnych może być aktywowany tuż przed zamierzonym zastosowaniem i nie występuje przez całe życie zwierzęcia, może przyczynić się do udoskonalenia poprzez skrócenie okresu, w którym zwierzęta doświadczają bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia. Należy jednak wziąć pod uwagę, że substancje podawane w celu tłumienia i indukcji ekspresji genów (np. tamoksyfen) mogą same powodować niepożądane skutki uboczne, takie jak utrata masy ciała;
- W przypadku, gdy zwierzę wykazuje upośledzający fenotyp, pojawienie się jakiegokolwiek szkodliwej cechy należy kontrolować za pomocą ściśle określonego pakietu opieki lub ściśle stosowanych humanitarnych punktów końcowych.

4. Charakterystyka genetyczna

Do potwierdzenia pożądanego genotypu zwierzęcia niezbędna jest charakterystyka genetyczna. Charakterystykę należy opracować nie tylko przy tworzeniu zwierząt, ale również w celu zachowania wymaganego genotypu w hodowli i utrzymaniu. Należy zachować ostrożność, aby zapobiec przypadkowemu krzyżowaniu, zwłaszcza w systemach klatek otwartych. Istnieje możliwość przypadkowego kojarzenia. Odpowiednie przeszkolenie osób prowadzących badania, w tym stosowanie dobrych praktyk w zakresie obsługi i użytkowania zabezpieczonych klatek, dokładna selekcja i rejestracja zwierząt oraz wdrożenie sprawnego

systemu informacji o zarządzaniu hodowlą powinny ograniczyć do minimum „przypadkową” hodowlę i podkreślić znaczenie jakości genetycznej/rearanżacji genomowej.

Rearanżacja genomowa będzie następować z czasem. Najlepszą praktyką w zarządzaniu wszystkimi zmodyfikowanymi genetycznie liniami zwierząt jest regularne odnawianie do genetycznie kontrolowanego tła lub z zapasów krioprezerwacyjnych. W przypadku tworzenia linii we własnym zakresie lub u dostawcy należy zadbać o to, aby pracować na określonym tle. W przypadku przyjmowania zwierząt lub pracy z liniami dziedziczenia należy je dokładnie przeanalizować przed wykorzystaniem ich do generowania danych naukowych.

Wykorzystanie paneli integralności genetycznej do oceny integralności szczepu podstawowego jest niezbędne z punktu widzenia danych naukowych, aby uniknąć wszelkich czynników zakłócających. Tego rodzaju dbałość o jakość genetyczną należy w stosownych przypadkach zgłaszać i publikować, a także uwzględniać w dokumentacji dotyczącej przeniesienia, aby zapewnić instytucje lub organizacje przyjmujące o kontroli jakości zastosowanej do danego modelu genetycznie zmienionych zwierząt.

Charakterystykę genetyczną można przeprowadzać na wiele różnych sposobów, od metod nieinwazyjnych (np. obserwacja) do wysoce inwazyjnych, polegających na pobieraniu próbek tkanek (np. przycinanie ogona lub paliczków (palców)). Należy stosować najbardziej udoskonaloną metodologię, która pozwoli na uzyskanie dokładnych wyników naukowych.

Próbki do weryfikacji genotypu mogą być pobierane od zwierząt, które padły lub zostały uśmiercone w kolonii, na przykład z nadwyżki zwierząt.

W niektórych przypadkach, nawet jeśli jest to metoda inwazyjna, tkankę można pozyskać jako produkt uboczny znakowania zwierzęcia, np. obcinania uszu. Zgodnie z dyrektywą znakowanie zwierzęcia w celu identyfikacji nie wchodzi w zakres definicji procedury i dlatego nie wymaga uzyskania pozwolenia na projekt.

W sprawozdaniu UE na temat wdrażania dyrektywy po raz pierwszy podano pewne informacje na temat metod stosowanych podczas charakterystyki genetycznej genetycznie zmienionych zwierząt. Ze względu jednak na brak wystarczająco dokładnych danych dotyczących innych gatunków, analizie można było poddać jedynie informacje dotyczące myszy. Z uzyskanych informacji wynika, że w 2017 r. ponad połowę próbek tkanek pozyskano jako nadwyżkę materiału z identyfikacji/znakowania zwierzęcia (89 % z przycinania uszu i 11 % z obcinania paliczków). Znaczną część zwierząt poddano inwazyjnemu pobieraniu próbek w ramach pozwolenia na projekt, które nie stanowiły nadwyżki tkanki ze znakowania, i wydaje się, że biopsja ogona jest w tej grupie metodą powszechnie stosowaną. Prawdopodobnie znaczną część z nich można by natychmiast zastąpić bardziej udoskonaloną metodą.

Wykorzystanie nieinwazyjnych metod pobierania próbek (poniżej progu minimalnego bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia wymagającego pozwolenia na projekt) stanowiło mniej niż 2 % wszystkich pobranych próbek, przy czym większość w tej kategorii stanowiło wykorzystanie materiału pośmiertnego, a w nielicznych przypadkach stosowano obserwację, ekspozycję na określone warunki świetlne lub pobieranie próbek sierści.

Jeśli chodzi o inwazyjne metody pobierania próbek tkanek na podstawie pozwolenia na projekt, najczęściej stosowano biopsję ogona, a następnie biopsję ucha (odpowiednio 65 % i 20 %). Biopsja paliczka dalszego stanowiła jednak wciąż 13 % metod inwazyjnych. Należy zauważyć, że niektóre państwa członkowskie nie zezwalają już na stosowanie biopsji paliczka dalszego do pobierania próbek tkanek lub zdecydowanie odradzają jej stosowanie. W przypadku konieczności przeprowadzenia genotypowania w pierwszym tygodniu życia, jedyną możliwą metodą u myszy może być amputacja paliczka dalszego i końcówki ogona. U niedojrzałych myszy ścieżki przewodzenia bólu nie są w pełni rozwinięte. Należy szczegółowo uzasadnić, dlaczego wybrane metody są najbardziej udoskonalone.

Jak każda technologia, im bardziej jest ona rozwinięta i powszechna, tym skuteczniej można ją stosować. Szybki obieg wyników jest niezbędny do lepszego zarządzania kolonią i planowania badań, a także do zapewnienia efektywnego wykorzystania zwierząt w optymalnym wieku.

Inne kwestie, które należy rozważyć w celu ograniczenia i udoskonalenia oddziaływania na zwierzę, obejmują:

- stosowanie (nieinwazyjnych) markerów fluorescencyjnych w celu wskazania obecności genu;
- wykorzystanie tkanek pochodzących od zwierząt uśmierconych w procesie kwarantanny lub rederywacji;
- pobieranie próbek od zwierząt nadmiarowych w hodowli;
- pobieranie jak najmniejszej ilości tkanek;
- wybór metody analitycznej:
 - o większa dokładność pozwala na znaczne zmniejszenie wielkości próby;
 - o niezawodność metody eliminuje potrzebę powtórnego badania/pobierania próbek;
- zachowanie części tkanki na wypadek konieczności ponownego pobrania próbki/analizy;
- technikę biopsji ogona, jeśli jest wymagana, wykonuje się przed zaawansowanym wykształceniem kości i nerwów (młode zwierzęta);
- w razie potrzeby należy zastosować znieczulenie miejscowe lub ogólne lub zniesienie czucia bólu, aby umożliwić zastosowanie najbardziej udoskonalonej metodologii dla każdej metody pobierania próbek tkanek;
- w przypadku danio pręgowanego genotypowanie larw umożliwia usunięcie nieodpowiedniej nadwyżki zwierząt zanim staną się zdolne do samodzielnego pobierania pokarmu;
- udoskonaleniem są szybkie analizy, które skracają czas, w którym ryby muszą być utrzymywane w odosobnieniu, do jednego lub dwóch dni.

Zalecenia:

- ☐ Tam, gdzie to możliwe, należy stosować nieinwazyjne metody pobierania próbek tkanek do genotypowania.

- ☐ Jeśli wymagane są metody inwazyjne, należy stosować najbardziej udoskonalone (najmniej dotkliwe). Pobieranie próbek z ogona można prawie zawsze zastąpić bardziej udoskonaloną metodą, a jej dopuszczenie wymaga bardzo dobrego uzasadnienia.
- ☐ Osoby odpowiedzialne za kolonie, ośrodki (np. ciała doradcze ds. dobrostanu zwierząt) oraz organy odpowiedzialne za ocenę projektów powinny systematycznie udoskonalać metody pobierania próbek tkanek.
- ☐ W przypadku stosowania metod inwazyjnych do identyfikacji/znakowania zwierząt (np. nacięcie/przebicie ucha), powinny one dostarczać nadwyżki tkanki do genotypowania.
- ☐ Osoby oceniające projekty powinny zadbać o odpowiednie uzasadnienie stosowania metod inwazyjnych, które nie są wykorzystywane do znakowania.
- ☐ Ciała doradcze ds. dobrostanu zwierząt mają do odegrania ważną rolę w pozyskiwaniu i udostępnianiu informacji na temat nowych nieinwazyjnych metod pobierania próbek tkanek (np. nieinwazyjne pobieranie próbek z oka (łez)) oraz technik udoskonalania inwazyjnych metod pobierania próbek tkanek.
- ☐ W przypadku inwazyjnego pobierania próbek tkanek należy rozważyć zastosowanie zniesienia czucia bólu / znieczulenia (biorąc pod uwagę potencjalne dodatkowe szkody wynikające z zastosowania środka znieczulającego / leku przeciwbólowego).
- ☐ Należy zaprzestać stosowania biopsji paliczka dalszego wyłącznie w celu pobrania próbki tkanki.
- ☐ Ze względu na to, że biopsja ogona, biopsja ucha i usunięcie części lub całego palca pozostają najczęściej stosowanymi metodami w UE, podczas inspekcji należy systematycznie sprawdzać, czy stosowane są najbardziej udoskonalone metody identyfikacji/znakowania i pobierania próbek tkanek.
- ☐ Ośrodki powinny opracować systemy zapewniające szybki zwrot wyników genotypowania.
- ☐ Ośrodki powinny rozważyć, czy większą skuteczność i wydajność zapewni im świadczenie usług genotypowania w ramach własnej organizacji, czy też korzystanie z usług zewnętrznych, profesjonalnych podmiotów zajmujących się genotypowaniem.

5. Ocena dobrostanu

Kompleksowa ocena dobrostanu pozwoli zidentyfikować problemy związane z dobrostanem, które można rozwiązać poprzez zastosowanie strategii udoskonalania (lub ograniczania), w tym ustanowienie humanitarnych punktów końcowych.

Ocena dobrostanu zawiera informacje na temat konieczności wprowadzenia dodatkowych wymogów w zakresie hodowli lub opieki. Ocena pozwala także na rozróżnienie między liniami upośledzającymi a nieupośledzającymi oraz na klasyfikację dotkliwości dla linii upośledzających w pozwoleniu na projekt.

Nieoczekiwane upośledzające fenotypy mogą wynikać z zastosowanych u zwierzęcia modyfikacji genetycznych. Należy rozważyć, czy jednorazowy efekt/problem zdrowotny jest związany z efektem genetycznym będącym konsekwencją inżynierii genetycznej, czy też nie. Uzasadniona może być dalsza diagnostyka, a w dyskusjach na ten temat powinien uczestniczyć

wyznaczony lekarz weterynarii. Powtarzające się, stałe objawy rozwijające się w danej linii sugerują jednak w wielu przypadkach pochodzenie genetyczne. Ponadto zmiany w środowisku mogą również wpływać na charakter i wystąpienie objawów klinicznych oraz zastosowanie humanitarnych punktów końcowych.

Zalecenia:

- ☐ Charakter i czas przeprowadzenia oceny powinny być uzależnione od oczekiwanego charakteru i czasu wystąpienia skutków klinicznych modyfikacji genetycznej.
- ☐ Należy zadbać o monitorowanie wszystkich aspektów składających się na dobrostan zwierząt, a jeśli mają one wpływ na ten dobrostan, należy je rejestrować i odpowiednio nimi zarządzać.
- ☐ Ocena powinna umożliwiać oddzielenie skutków modyfikacji genetycznej od normalnego tła lub od efektów związanych z hodowlą, w tym wydajności reprodukcyjnej, np. w oparciu o wskaźniki strat przedodsadzeniowych.
- ☐ Odpowiedni szczepek podstawowy lub linia powinny być stosowane jako porównawczy poziom bazowy, aby zapewnić, że fenotypy nie są zakłócane przez cechy tła.
- ☐ Ocenę dobrostanu należy powtórzyć w przypadku zmiany środowiska (w tym zmiany ośrodka).
- ☐ Ocenę dobrostanu należy powtórzyć w przypadku zaobserwowania w linii nowych, utrzymujących się objawów (w tym różnego wieku zwierząt).

W części poświęconej systemom oceny dobrostanu (zob. część 3 niniejszych wytycznych) znajdują się bardziej szczegółowe informacje na temat liczby zwierząt i parametrów klinicznych, które należy uwzględnić w ocenie dobrostanu, jak również propozycje standaryzowanych formularzy w celu zwiększenia spójności.

6. Hodowla, opieka i utrzymanie oraz zarządzanie nadwyżkami zwierząt

Minimalizowanie nadwyżek

W 2017 r. w UE uśmiercono 12,6 mln zwierząt hodowanych do celów naukowych, które nie zostały wykorzystane. Prawie 49 % tych zwierząt pochodziło albo z utworzenia nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt albo z utrzymania istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.

Niektóre zwierzęta są hodowane specjalnie dla ich narządów i tkanek. Jednak z informacji udostępnianych obecnie przez niektóre państwa członkowskie wynika, że zwierzęta takie stanowią około 10 % wszystkich zwierząt hodowanych uśmierconych bez wcześniejszego wykorzystania w procedurach. Obecnie nie wiadomo, jaka część zwierząt hodowanych dla ich narządów lub tkanek została zmieniona genetycznie.

Wytyczne dotyczące optymalnego zarządzania kolonią (np. optymalna liczba par lub trójek hodowlanych dla utrzymania zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, w tym programy hodowlane, liczba miotów itp.) wspierają minimalizację liczby zwierząt. Szereg organizacji

i państw członkowskich opublikowało przydatne wytyczne, jak zminimalizować nadwyżki i poprawić efektywność hodowli genetycznie zmienionych zwierząt.

Narzędzia do samooceny zostały opracowane w celu oceny efektywności niektórych aspektów hodowli genetycznie zmienionych zwierząt. Opublikowane wytyczne mają na celu poprawę efektywności produkcji i zminimalizowanie nadwyżek.

Efektywne zarządzanie koloniami obejmuje szereg czynników, które powinny być wykorzystywane jako wskaźniki odniesienia dla dobrych praktyk. Należą do nich:

- wyznaczenie osoby fizycznej jako głównego zarządzającego kolonią dla każdej kolonii;
- regularne przeglądy wyników kolonii i zarządzania nimi na poziomie poszczególnych kolonii i całego ośrodka;
- szkolenia i wsparcie dla zarządzających koloniami, aby wyposażyć ich w potrzebne umiejętności i dostosowywać je do bieżących wymagań oraz udzielanie pomocy zarządzającym w trudnych sytuacjach;
- określenie dla każdej kolonii odpowiednich dla danego szczepu wskaźników efektywności hodowli oraz ich regularne i stałe monitorowanie;
- metodyka oceny tendencji, preferencji i fenotypów charakterystycznych dla danego szczepu w celu zaplanowania i zapewnienia optymalnych warunków dla tych szczepów;
- uwzględnienie wymogów środowiskowych dla każdego szczepu i w razie potrzeby szczegółowe dostosowanie dla danego szczepu;
- uwzględnienie optymalnej strategii utrzymania kolonii, która równoważy potrzeby genetyczne z praktycznymi ograniczeniami;
- uwzględnienie optymalnych organizmów kontrolnych w odniesieniu do krzyżówek doświadczalnych;
- unikanie powielania kolonii poprzez udostępnianie ich dla wszystkich grup badawczych;
- obliczanie wielkości kolonii, która powinna być oparta na liczebności wymaganej do zaspokojenia potrzeb naukowych i wydajności reprodukcyjnej linii. Zapotrzebowanie naukowe obejmuje wiek, wagę, płć i liczbę zwierząt potrzebnych w określonym czasie. Wydajność reprodukcyjna będzie uwzględniać udane krycie, wielkość miotu, liczbę upadków, genotyp, żywotność hodowli i strategię hodowców w zakresie zastępowania.
- Ocena w celu ustalenia, czy nadwyżka zwierząt hodowanych może być wykorzystana w innych badaniach albo jako źródło narządów lub tkanek, w szczególności w odniesieniu do potomstwa typu dzikiego, np. potomstwo typu dzikiego o odpowiednim pochodzeniu może być wykorzystane do stworzenia linii komórkowych lub do badań pilotażowych w innym projekcie. Konieczne może być uzyskanie odpowiednich pozwoleń.
- Aby poprawić trafność, należy wykorzystać obie płcie, jeśli dla wyniku doświadczenia nie jest wymagana jedna płć. Pozwoli to w konsekwencji ograniczyć straty genetycznie zmienionych zwierząt.

Wykorzystanie mutacji warunkowych (np. systemie Cre x lox) oraz wykorzystanie mutacji indukowalnych (np. za pomocą tamoksyfenu) może przyczynić się do ich udoskonalenia. Fakt, że fenotyp w mutacjach indukowalnych może być aktywowany tuż przed zamierzonym zastosowaniem i nie występuje przez całe życie zwierzęcia, może przyczynić się do udoskonalenia poprzez skrócenie okresu, w którym zwierzęta doświadczają bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia.

Im bardziej złożone stają się linie (np. z podwójnymi lub potrójnymi mutacjami), tym mniejsza jest prawdopodobna częstotliwość występowania pożądanej kombinacji genetycznej. Powoduje to w konsekwencji wzrost liczby zwierząt o nieodpowiednim genotypie, co zwiększa nadwyżkę zwierząt. Chociaż niektóre z tych innych genotypów będą często wykorzystywane jako kontrolne w odniesieniu do głównego genotypu wielokrotnego, nawet przy optymalnej hodowli można się spodziewać w tych przypadkach pewnej nadwyżki zwierząt. W programie hodowli zwierząt przeznaczonych do badań powinno być w miarę możliwości uwzględnione unikanie niskich proporcji Mendla. Należy rozważyć naprawę alleli, np. uczynienie jednego allelu homozygotycznym, podczas gdy drugi pozostaje heterozygotyczny, aby przywrócić proporcję Mendla z 1 na 16 do 1 na 4 badane zwierzęta.

Ponadto, przechowywanie zamrożonych gamet lub zarodków pomaga ograniczyć liczbę zwierząt hodowanych w celu utrzymania linii, które nie są obecnie wykorzystywane w procedurach. Ułatwia to także dzielenie się zmodyfikowanymi genetycznie liniami zwierząt między badaczami, zapewniając dalsze możliwości ograniczenia.

Zalecenia:

- ☐ W każdym ośrodku należy wyznaczyć osobę, która zapewni skuteczne stosowanie zasady 3R w kontekście tworzenia i hodowli genetycznie zmienionych zwierząt.
- ☐ Należy wyznaczyć koordynatora ds. genetycznie zmienionych zwierząt, zwłaszcza w większych ośrodkach z szeregiem niezależnych programów naukowych lub obiektów przeznaczonych dla zwierząt, w celu prowadzenia w ośrodku przeglądu popytu na zmodyfikowane genetycznie linie zwierząt i przeglądu ich dostępności.
- ☐ Systemy zarządzania koloniami powinny umożliwiać lepsze dopasowanie podaży do popytu i być wykorzystywane do ułatwiania go.
- ☐ Monitorowanie i poprawa wydajności hodowli i tworzenia zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt lub szczepów poprzez opracowanie wewnętrznych wskaźników odniesienia i stosowanie regularnych, okresowych samoocen w obrębie ośrodków i między nimi, np. przez organy ds. dobrostanu zwierząt.
- ☐ Należy ustanowić regularny monitoring jakości genetycznej w celu wczesnego wykrywania np. rearanżacji genomowej lub przypadkowego zanieczyszczenia oraz opracować strategie ich rozwiązywania.
- ☐ Przy tworzeniu nowych linii należy stosować odpowiednie szczepy podstawowe, aby w miarę możliwości uniknąć konieczności krzyżowania wstecznego.
- ☐ Potomstwo genetycznie zmienionych rodziców, które jest genotypowane jako typu dzikiego, należy rozważyć do wykorzystania lub ponownego wykorzystania do innych

celów, np. do zaopatrzenia w krew lub tkanki lub do celów edukacyjnych czy szkoleniowych, aby zmniejszyć nadwyżkę zwierząt.

- ☐ Gdy wymagane są złożone modele z wieloma modyfikacjami genetycznymi, należy poświęcić wiele uwagi i zaplanować strategię hodowli, uwzględniając mieszanie różnych typów tła genetycznego, zwierząt kontrolnych i liczebności hodowli.
- ☐ Zmodyfikowane genetycznie linie zwierząt powinny być przechowywane w postaci zamrożonych gamet lub zarodków, jeśli nie są potrzebne do bieżących doświadczeń jako rutynowa część procesów zakładania ośrodków lub programów naukowych, w wyniku których powstają genetycznie zmienione zwierzęta.
- ☐ Zmodyfikowane genetycznie linie zwierząt powinny być przenoszone między ośrodkami z wykorzystaniem gamet lub zarodków, a nie żywych zwierząt.
- ☐ Należy rozważyć wykorzystanie hodowców komercyjnych, ponieważ dzięki ekonomii skali kolonii możliwe jest ogólne ograniczenie.

Równowaga między udoskonalaniem a ograniczeniem

Utrzymanie upośledzających linii homozygotycznych ograniczy liczbę zwierząt potrzebnych do zaspokojenia popytu. Jednak linie upośledzające utrzymywane w koloniach heterozygotycznych (het) ograniczą liczbę zwierząt doświadczających szkód, ale do utrzymania kolonii potrzebna będzie większa liczba zwierząt. Hodowla linii poprzez krzyżowanie het x het lub het x typ dziki ograniczy ryzyko przejawiania upośledzającego fenotypu, ale zwiększy liczbę zwierząt. Takie krzyżowania nadal wymagają pozwolenia. Powszechnie uważa się, że wykorzystanie większej liczby zwierząt przy mniejszych szkodach jest bardziej etyczne.

Zalecenia:

- ☐ W przypadku, gdy problemy z dobrostanem zwierząt występują wyłącznie u zwierząt homozygotycznych, należy rozważyć wykorzystanie do celów hodowli zwierząt heterozygotycznych. Strategia ta może spowodować zwiększenie nadwyżki zwierząt, ale ogólnie ograniczy ich cierpienie.
- ☐ W przypadku hodowli złożonych kojarzeń genetycznie zmienionych zwierząt należy starannie zaplanować metodę hodowli, aby zminimalizować nadwyżkę zwierząt.
- ☐ W celu poprawy trafności i ograniczenia strat należy wykorzystać obie płcie, jeżeli do uzyskania wyników doświadczenia nie jest wymagana jedna płć.

Krioprezerwacja

Krioprezerwacja ma szereg zalet pod względem postępowania ze zmodyfikowaną genetycznie linią zwierząt, jej ochrony i udostępniania.

Należy to rozważyć w każdym okresie, w którym zwierzęta nie są potrzebne.

Krioprezerwacja ułatwia i promuje również wymianę linii w sposób przyjazny dla dobrostanu zwierząt poprzez transport gamet lub zarodków, a nie żywych zwierząt. Można ją również stosować w celu poprawy stanu zdrowotnego kolonii oraz, podczas aktywnego użytkowania

linii, w celu poprawy integralności genetycznej. Krioprezerwacja zatrzymuje rearanżację genomową. Do utrzymania linii nie są potrzebne zwierzęta, a zatem krioprezerwacja przyczynia się do ogólnego ograniczenia potencjalnej nadwyżki zwierząt. Do przywrócenia linii konieczne będzie jednak wykorzystanie niektórych zwierząt.

Krioprezerwacja powinna stanowić integralną część planu reagowania dla ośrodka hodowli genetycznie zmienionych zwierząt, np. jeśli obiekt dla zwierząt zostanie zniszczony w pożarze lub w kolonii pojawi się ognisko poważnej choroby to w chłodni będzie dostępna wystarczająca ilość materiału, aby można było założyć nową kolonię.

Zalecenia:

- ☐ Wszyscy zaangażowani w tworzenie i hodowlę genetycznie zmienionych zwierząt powinni mieć dostęp do usług krioprezerwacji.
- ☐ Należy rozważyć liczbę i koszty utrzymania kolonii w porównaniu z krioprezerwacją.
- ☐ Należy przeprowadzać regularne przeglądy kolonii hodowlanych oraz opracować strategię krioprezerwacji szczepów, które nie są już potrzebne.
- ☐ W ramach wspierania udoskonalania i ograniczenia należy rozważyć stosowanie mrożenia nasienia zamiast mrożenia zarodków.
- ☐ Krioprezerwacja powinna być stosowana w celu ułatwienia dystrybucji i udostępniania modeli genetycznie zmienionych zwierząt.

Część 3: Systemy oceny dobrostanu zwierząt w odniesieniu do najbardziej rozpowszechnionych gatunków zmienionych genetycznie

1. Wprowadzenie

Fakt, czy dana linia ma fenotyp nieupośledzający czy upośledzający, ma bezpośrednie konsekwencje w odniesieniu do wymogów regulacyjnych dotyczących hodowli i utrzymania takiej linii oraz wynikających z tego obowiązków sprawozdawczych. Zagadnienie to omówiono bardziej szczegółowo w części 1 i 5 niniejszych wytycznych.

Ocena dobrostanu jest wymagana w przypadku każdej nowo utworzonej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, aby można było dostarczyć wszystkie informacje niezbędne do zapewnienia dla tej linii odpowiedniej opieki i warunków utrzymania. Co więcej, stanowi ona podstawę dokumentu dotyczącego przeniesienia, dzięki któremu wszystkie najważniejsze informacje są przekazywane wraz ze zwierzętami do nowego ośrodka lub nowej grupy naukowej w ośrodku. Ponadto w połączeniu z przewidywanymi skutkami modyfikacji genetycznej dla zwierzęcia (np. zwiększona podatność na cukrzycę lub ryzyko zakażenia), pozwala ona określić, czy stabilną zmodyfikowaną genetycznie linię zwierząt można wstępnie sklasyfikować jako posiadającą fenotyp nieupośledzający lub upośledzający.

Skuteczność systemu oceny dobrostanu zależy od wyboru wskaźników, które

- są łatwo i w sposób wiarygodny rozpoznawalne;
- skutecznie zapewniają dobre mierniki dobrostanu;
- są odpowiednie dla gatunku i szczepu (w stosownych przypadkach), etapu rozwoju i dla badania naukowego;
- są praktyczne w realizacji i nie powodują nadmiernego niepokojenia zwierząt oraz
- można je wykorzystać do celów spójnych pomiarów, interpretacji i analiz.

Wspólne podejście do rejestrowania obserwacji klinicznych jest zatem pożądanym celem, ponieważ pomoże w opracowaniu spójnego podejścia do klasyfikacji dotkliwości. Ułatwiłoby to porównywanie ustaleń badań klinicznych między poszczególnymi badaniami oraz dostarczyłoby informacji osobom zaangażowanym w ocenę dotkliwości i potencjalnie mogłoby być wykorzystane w celu zmniejszenia dotkliwości.

2. Uwagi ogólne

Nie należy hodować dodatkowych zwierząt w celu przeprowadzenia oceny dobrostanu zwierząt. Ocena powinna opierać się wyłącznie na obserwacji zwierzęcia, a zwierzęta nie powinny być poddawane żadnym interwencjom ani innym czynnościom, które mogą wywołać dodatkowy ból, dystres, cierpienie lub trwałe uszkodzenie, wykraczające poza próg wkłucia igły.

Przy każdej nowo wyprodukowanej kombinacji genetycznej linia wynikowa musi być poddawana systematycznej ocenie. Zgodnie z decyzją wykonawczą Komisji (UE) 2020/569 tworzenie nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt obejmuje także krzyżowanie istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt w celu stworzenia nowej linii zmienionej genetycznie, **jeżeli fenotypu nowej linii nie można z wyprzedzeniem określić jako nieupośledzającego**.

W miarę możliwości ocena dobrostanu powinna być przeprowadzona na naukowo i statystycznie uzasadnionej liczbie zwierząt, jednak nie mniejszej niż 14 zwierząt, przy czym pochodzących z >1 miotu/lęgu. Przy obliczaniu liczebności próby należy uwzględnić różnice płci w fenotypie, jeśli nie można ich wykluczyć w oparciu o podstawy naukowe. Jeśli nie jest znana zależność genotypu od płci, należy ocenić 7 samic i 7 samców. Ocena dobrostanu powinna obejmować zwierzęta z reprezentatywnych grup wiekowych i odpowiednich genotypów (heterozygotyczne i homozygotyczne).

Zwierzęta z odpowiednim tłem genetycznym (np. typu dzikiego) lub z określonej linii odniesienia powinny służyć jako zwierzęta kontrolne.

Każda anomalia fenotypowa stwierdzona w zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt powinna być porównana z występowaniem w określonej linii odniesienia. Jeśli anomalia występuje również w szczepie podstawowym, należy to uwzględnić. Należy stosować badania statystyczne w celu obliczenia, czy poziom anomalii zaobserwowany w zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt jest znacząco wyższy niż w szczepie podstawowym (tj. w celu ustalenia, czy anomalia wynika z modyfikacji genetycznej). W przypadkach, gdy fenotyp, który może być wynikiem modyfikacji genetycznej występuje również w szczepie podstawowym, prawdopodobnie konieczne będzie zwiększenie liczby ocenianych zwierząt.

Dane należy uzyskać z co najmniej dwóch cykli rozrodczych z pokolenia, w którym transmisja modyfikacji genetycznej jest stabilna.

Obserwacje kliniczne nie zawsze pozwalają w sposób wiarygodny zidentyfikować wszystkie problemy wynikające z inżynierii genetycznej. Jeżeli jednak z naukowego punktu widzenia można się spodziewać, że modyfikacje genetyczne wpłyną negatywnie na dobrostan zwierząt, należy rozważyć wszystkie takie szkody i uwzględnić je w ostatecznym określeniu, czy dana linia jest upośledzająca, czy nie. Metody inwazyjne powinny być stosowane w celu uzyskania informacji uzupełniających, na przykład próbki krwi w celu oceny poziomu glukozy w domniemanym modelu cukrzycy, wyłącznie w stosownych przypadkach i przy wyraźnym uzasadnieniu w pozwoleniu na projekt.

Jeżeli to możliwe, należy uwzględnić dodatkowe dane z innych źródeł, np. wyniki z procedur stosowanych w odniesieniu do zwierząt lub z publikacji. Jeśli dostępne są dodatkowe informacje, należy zaktualizować ocenę dobrostanu dla danej linii.

W zależności od oczekiwanych skutków konieczne może być zwiększenie stopnia i częstotliwości monitorowania w stosunku do podstawowego codziennego monitorowania.

Szablony przedstawione w sekcjach A i B powinny być wykorzystywane jako podstawa oceny i powinny być uzupełnione o spodziewane skutki inżynierii genetycznej lub w przypadku zaobserwowania nieoczekiwanego fenotypu.

Wyniki oceny dobrostanu mogą odnosić się wyłącznie do wieku zwierząt, w którym przeprowadzana jest ocena, oraz do konkretnego otoczenia, w którym zwierzęta zostały poddane ocenie. Jeśli parametry ulegną zmianie, np. wiek lub środowisko (inny ośrodek), ocenę dobrostanu zwierząt należy potwierdzić dodatkowymi obserwacjami.

W przypadku śmierci zwierząt należy prowadzić dokładną dokumentację kliniczną i środowiskową, a następnie poddawać ją przeglądowi, aby zapobiec dalszym upadkom. W stosownych przypadkach (np. wyższa niż przewidywana śmiertelność) należy przeprowadzić sekcję zwłok, aby pomóc w ustaleniu przyczyny śmierci. Przegląd płodności może być również pomocny w ocenie, czy modyfikacja genetyczna ma wpływ na np. liczbę poczęć; dystocji; poronień; urodzeń osobników martwych.

Ocena poszczególnych zwierząt powinna być dokumentowana i raportowana za pomocą wysokiej jakości systemów, które umożliwiają łatwe dzielenie się informacjami z innymi (zazwyczaj wspieranych przez systemy informatyczne). Jednak np. w przypadku niedojrzałych zwierząt, takich jak larwy ryb, bardziej odpowiednia może być ocena grupowa. Aby ułatwić spójne rejestrowanie wyników oceny, opracowano szablony dla najczęściej stosowanych gatunków zmodyfikowanych genetycznie (zob. sekcja B).

Ponadto istotne jest, aby informacje uzyskane podczas oceny dobrostanu były podsumowywane i zgłaszane przy przekazywaniu zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt do innej grupy badawczej lub do innego ośrodka, tak aby można było natychmiast zastosować zasadę 3R. Dalsze wytyczne zawarte są w dokumencie dotyczącym przenoszenia zmodyfikowanych genetycznie zwierząt, w tym wspólny szablon dla przemieszczania w obrębie państw członkowskich i między nimi.

Wyniki oceny dobrostanu zwierząt powinny umożliwić zaklasyfikowanie linii jako nieupośledzającej lub upośledzającej. W przypadku gdy zmodyfikowana genetycznie linia zwierząt zostanie oceniona jako upośledzająca, ocena powinna zawierać odpowiednią klasyfikację stopnia dotkliwości (łagodna, umiarkowana, ciężka) na podstawie załącznika VIII do dyrektywy 2010/63/UE. Więcej informacji można znaleźć w dokumencie roboczym dotyczącym ram oceny dotkliwości (2012).

Ocena dobrostanu zwierząt powinna być poddawana przeglądowi i aktualizowana w miarę uzyskiwania nowych informacji z odpowiednią informacją zwrotną dla sprzedawcy, hodowcy i innych użytkowników, jeśli są znani.

W miarę dostępności danych od większej liczby zwierząt należy zweryfikować klasyfikację dotkliwości linii, w szczególności w przypadku linii uznanych za nieupośledzające, ponieważ większa liczba zwierząt może ujawnić biologicznie istotny fenotyp o niskim przenikaniu, który nie jest widoczny w próbce o mniejszej liczebności.

Aby zapewnić spójność podejścia, ocenę dobrostanu powinni przeprowadzać kompetentni, doświadczeni pracownicy, którzy ukończyli odpowiednie szkolenie.

3. Sekcja A szablonu oceny dobrostanu w odniesieniu do wszystkich gatunków i punktów czasowych

Sekcja A	Szablon oceny dobrostanu
Nazwa gatunku	
Oceniana linia – Nazwa wewnętrzna	Nazwa, która jest używana w ośrodku: w stosownych przypadkach należy podać numer szczepu
Oceniana linia – Nazwa międzynarodowa	W stosownych przypadkach nazwa powinna być podana zgodnie z międzynarodowymi standardami nomenklatury ^{6,7} .
Strategia hodowli	Wskazać preferowaną metodę hodowli kolonii, np. heterozygota x heterozygota; heterozygota x typ dziki; homozygota x homozygota lub inne formy. Ogólna ocena wydajności reprodukcyjnej, np. samce/ samice/średnia wielkość miotu/upadkowość przedodsadzeniowa/sukces wylęgowy, w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi typu dzikiego.
Szczep podstawowy	Jeśli jest znany, należy określić szczep podstawowy, np. poprzez udokumentowanie nazwy międzynarodowej.
Rodzaje modyfikacji genetycznych	Krótki opis rodzaju modyfikacji genetycznej, zastosowanej techniki i schematu docelowego ⁸ . Tłu genetycznemu typu dzikiego należy nadać nazwę
Informacje o zwierzętach w czasie oceny	Wiek lub stadium rozwojowe zwierząt, liczba (podać, czy szacunkowe, np. formy larwalne) i rozkład płci
Informacje o warunkach trzymania w momencie dokonywania oceny	Rodzaj pomieszczenia i środowiska, np. oświetlenie, temperatura, wilgotność, urozmaicenie warunków bytowania w klatkach, charakterystyka wody dla gatunków wodnych (np. temperatura, pH, amoniak), położenie w obiekcie dla zwierząt (np. poziom klatki/zbiornika) itp.
Inne informacje istotne dla oceny	Wszelkie inne informacje, które mogły mieć wpływ na ocenę dobrostanu, np. prace budowlane, zmiana personelu, stan zdrowia w momencie oceny
Inne istotne informacje	Publikacje; linki do stron internetowych

⁶Międzynarodowy Komitet ds. Standaryzowanej Nomenklatury Genetycznej Myszy oraz Komitet ds. Genomu i Nomenklatury Szczura; [Guidelines for nomenclature of mouse and rat strains](#); (2018),

⁷ Komisja ds. nomenklatury danio przegowanego; [ZFIN Zebrafish Nomenclature Conventions](#), (2019).

⁸ Rodzaj modyfikacji (w tym liczba kopii, jeśli jest znana i ma zastosowanie), gen, którego dotyczy modyfikacja, wzór dziedziczenia, powiązania między płciami itd. Lub odnieść się/załączyć szczegółowy opis - najlepiej odpowiednią publikacją dotyczącą pokolenia danej linii (patrz również sekcja „Inne istotne informacje”).

Klasyfikacja dotkliwości	Na podstawie załącznika VIII do dyrektywy 2010/63/UE
Źródło	Ośrodek, w którym zwierzęta zostały wyhodowane lub były ostatnio przetrzymywane
Osoba oceniająca (osoby oceniające)	
Data	

4. Sekcja B szablonu oceny dobrostanu w odniesieniu do określonych gatunków

System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych gryzoni

Zalecenia dotyczące oceny dobrostanu gryzoni:

- Oceny dokonujemy wkrótce po urodzeniu, w okresie odsadzenia i ponownie po osiągnięciu dojrzałości płciowej oraz u starszych zwierząt, u których spodziewane jest późniejsze wystąpienie choroby.
- Zwierzęta z odpowiednim tłem genetycznym lub z określonej linii odniesienia służą jako zwierzęta kontrolne. Podczas tworzenia linii szczególnie przydatne są zwierzęta z jednego miotu typu dzikiego, jeśli są dostępne.
- Pomocne może być wygenerowanie krzywej wzrostu dla tej linii.

Dodatkowe uwagi dotyczące zwierząt neonatalnych oraz nowo narodzonych miotów przedstawiono w poniższych tabelach.

Sekcja B szablonu oceny dobrostanu gryzoni

Wygląd zewnętrzny/Funkcje organizmu/Środowisko/Zachowania/Wskaźniki specyficzne dla danej procedury/Dowolne spostrzeżenia

Kategorie wysokiego poziomu	Obszary, na których należy się skupić, obserwując zwierzęta	Szczególne wskaźniki, które należy monitorować
Wygląd	Stan fizyczny	Utrata/zwiększenie masy ciała
		Otyłość
		Szcupłość
		Ocena stanu organizmu, jeśli jest dostępna
	Stan sierści i skóry	Piloreksja
		Zaniedbanie lub brak pielęgnacji
		Tłusta sierść
		Utrata sierści
		Odwodnienie – napięcie skóry
		Uszkodzenia skóry – opuchlizna, świerzb, wrzód, uszkodzenie lub rana
		Zabarwienie kału lub moczu
	Wydzieliny	z oczu, nosa, uro-genitalne; zabarwienie porfiryngą u niektórych gatunków, np. u szczura
	Oczy	Zapadnięte lub „ospałe”
		Zamknięte/pół zamknięte/opuchnięte
		Uszkodzenie oka (np. owrzodzenie rogówki)
	Otwór gębowy	Ślinienie
Wada zgryzu/przerośnięte zęby		
Inne	„Pysk z objawami bólu” - np. półprzymknięte oczy i wybrzuszenie nosa u myszy	
	Zwężenia jamy brzusznej	
	Opuchnięta część ciała, np. rozdęty brzuch	
Funkcje organizmu	Oddychanie	Przyspieszony oddech (tachypnoea)
		Głęboki oddech (hyperpnoea)

		Ciężki oddech (dyspnoea, dyszenie)
		Świszczący oddech lub wydawanie innych dźwięków podczas oddychania
	Przyjmowanie pokarmu	Zwiększone/zmniejszone
	Przyjmowanie wody	Zwiększone/zmniejszone
	Temperatura ciała	Podwyższona/obniżona; zmierzona temperatura ciała, w przypadkach, w których jest to możliwe (za pomocą termometru dotykowego lub bezdotykowego) barwa kończyn u gryzoni
	Zmysły	Oznaki pogorszenia wzroku, słuchu lub równowagi
Środowisko	Warunki bytowania zwierząt w pomieszczeniu, w tym ściółka, materiały do budowy gniazd, przedmioty urozmaicające warunki bytowania	Obecność i konsystencja kału
		Wilgotna ściółka, np. z powodu wielomoczu
		Obecność krwi
		Wykorzystywanie przez zwierzę przedmiotów urozmaicających warunki bytowania, np. materiałów do budowy gniazd, kostek do żucia
Zachowania	Interakcje społeczne	Odchylenie od standardowego usposobienia – bojaźliwe lub agresywne interakcje z innymi zwierzętami; zachowanie lękowe (np. wyraźne odruchy ucieczki, ukrywanie się)
		Osamotnione lub odsunięte od innych osobników z grupy społecznej
	Zachowania niepożądane	Zachowania powtarzalne/stereotypowe
		Wrywanie sierści (gryzienie), trichotillomania
		Samookaleczanie się
		Zwiększona agresja wobec ludzi lub innych zwierząt
	Pozycja i poruszanie się	Nienaturalna, skulona postawa
		Nienaturalny chód, kulawizna, brak ruchu/letarg/niechęć do poruszania się w przypadku stymulacji
		Nieskoordynowane ruchy
		Pozycja skulona, przechylona głowa
	Inne	Drżenie
		Napady/konwulsje/skurcze/drgawki

		Wydawanie odgłosów; spontaniczne lub wywołane. <i>(Uwaga - gryzonie zwykle wydają dźwięki w zakresie ultradźwięków, więc słyszalne odgłosy są szczególnie istotne).</i>
		Upadkowość (lub wczesne uśmiercenie z powodu objawów niepożądanych) przed osiągnięciem oczekiwanej długości życia lub najdłuższego okresu życia.
Wskaźniki specyficzne dla danej procedury	Określa się je na podstawie indywidualnego projektu, jego potencjalnych szkodliwych skutków oraz oczekiwanych wskaźników tych skutków.	Na przykład w modelu stwardnienia rozsianego mogą one obejmować; utratę napięcia ogona, osłabienie kończyn tylnych, osłabienie kończyn przednich, paraliż, utrata funkcji pęcherza moczowego
Dowolne spostrzeżenia	Ocena dobrostanu powinna zawsze obejmować możliwość odnotowywania wszelkich spostrzeżeń dotyczących nieoczekiwanych negatywnych skutków dla dobrostanu.	

Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu noworodków do czasu odsadzenia od matki

Kryteria	Na co zwracać uwagę
Objawy kliniczne	np. zniekształcenia, wielkość, kolor skóry, obrzęk wzrost i nieprawidłowy/opóźniony rozwój (np. czas otwarcia oczu; wzrost futra)
Objawy behawioralne	np. zwiększona aktywność, agresja, nadmierna wokalizacja, senność/ brak reakcji?

plama mleczna (tylko u noworodków)	Czy któreś z młodych nie wykazuje obecności plamy mlecznej?
Zachowanie matki	Czy istnieją jakieś dowody na słaby instynkt macierzyński (np. kanibalizm, młode porzucone w klatce i nie odzyskiwane, duże straty przed odstawieniem)?
Miot	Wielkość miotu; homogeniczność miotu

System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych ryb (ryby kostnoszkieletowe)

Zalecenia dotyczące oceny dobrostanu ryb:

Podstawowa ocena dobrostanu genetycznie zmienionych linii ryb powinna koncentrować się na obserwacji widocznych zmian u ryb. W przypadku pojawienia się nowych odkryć naukowych dotyczących percepcji bólu i zachowań związanych z bólem u ryb, zostaną one uwzględnione we wszelkich przyszłych aktualizacjach oceny dobrostanu.

Niniejszy przewodnik ma zastosowanie do wszystkich gatunków ryb kostnoszkieletowych. Należy podać nazwę dokładnego gatunku ocenianej linii. Zaleca się, aby ocena dobrostanu ryb kostnoszkieletowych była przeprowadzana co najmniej na dwóch etapach rozwoju:

- 1. W stadium larwalnym podczas samodzielnego pobierania pokarmu**
- 2. Dorosłych, dojrzałych płciowo zwierząt**
- 3. Starsze zwierzęta powinny zostać poddane ocenie, jeżeli spodziewany jest późniejszy początek wystąpienia choroby.**

Ostateczna ocena genetycznie zmienionych ryb kostnoszkieletowych powinna być oparta na obserwacjach co najmniej na tych etapach rozwoju.

Punkt czasowy samodzielnego pobierania pokarmu larw zależy od gatunku ryb (sugerowane 5 dni po zapłodnieniu (dpz) dla danio pręgowanego (*Danio rerio*) (w temperaturze wody 28°C) zgodnie z decyzją wykonawczą Komisji 2020/569/UE oraz 12 dpz dla ryżanki japońskiej (*Oryzias latipes*) i może się znacznie różnić w zależności od warunków hodowli (głównie temperatury wody). Zasada, którą należy się kierować, jest czas, gdy cały przewód pokarmowy jest otwarty i ryba w normalnych warunkach aktywnie pobiera pokarm.

Moment osiągnięcia dojrzałości płciowej zależy również od gatunku ryb, a także od warunków trzymania. W przypadku danio pręgowanego i ryżanki japońskiej za dojrzałość płciową można uznać okres około 12–16 tygodni w temperaturze wody 28°C.

Wystąpienie jakichkolwiek zmian w wyniku inżynierii genetycznej może zależeć od specyficznych warunków trzymania zwierząt w danym ośrodku. Dlatego w ocenie dobrostanu należy wziąć pod uwagę warunki trzymania (w tym żywienie), co należy udokumentować.

Przy ocenie dobrostanu genetycznie zmienionych ryb kostnoszkieletowych należy wziąć pod uwagę następujące zasady:

- Ocena opiera się wyłącznie na obserwacji zwierząt w środowisku, w którym przebywają (np. płytka Petriego, akwarium).
- Do celów oceny dorosłych, dojrzałych płciowo ryb nie jest konieczne wykorzystywanie tych samych osobników, których użyto do oceny w stadium larwalnym, ponieważ zazwyczaj nie jest możliwe trwałe oznaczenie larw.
- Wszystkie zmiany należy rozpatrywać w odniesieniu do pochodzenia konkretnego typu dzikiego oraz warunków trzymania w danym obiekcie, co należy udokumentować w końcowej ocenie dobrostanu. Uwaga: Zakłada się, że zmiany wymienione w dwóch

poniższych tabelach występują jedynie sporadycznie (do 1 %) u ryb typu dzikiego, jeśli są one trzymane w dobrze utrzymanym obiekcie zgodnie z załącznikiem III do dyrektywy 2010/63/UE. Liczby te mogą się różnić w zależności od ośrodka

- Do oceny wskaźnika upadkowości ryb zmienionych genetycznie na poziomie populacji należy stosować odpowiednie wskaźniki śmiertelności osobników typu dzikiego.

Sekcja B szablon oceny dobrostanu ryb

Obserwacje są podzielone na sześć następujących kategorii. Należy pamiętać, że rozwój ryb w wysokim stopniu zależy od gatunku i warunków trzymania (np. temperatury wody i karmienia). Zaobserwowane zmiany należy zawsze rozpatrywać w odniesieniu do pochodzenia konkretnego typu dzikiego i warunków trzymania zwierząt w danym obiekcie.

Larwy/Wygląd zewnętrzny/Funkcja organizmu/Zachowania/Wskaźniki specyficzne dla danej procedury/Dowolne spostrzeżenia

Kategorie wysokiego poziomu	Obszary, na których należy się skupić, obserwując zwierzęta	Szczególne wskaźniki, które należy monitorować
Larwy	Przed okresem samodzielnego pobierania pokarmu Należy wskazać, czy podano wartości szacunkowe	Średnia wielkość lęgu jako liczba jaj (lub przykłady).
		Czas od tarła do rozpoczęcia samodzielnego pobierania pokarmu (jeśli temperatura wody różni się od normalnych warunków trzymania, należy odnotować dokładną temperaturę wody)
		Liczba wyklutych zwierząt jako odsetek wszystkich jaj z lęgu, najlepiej udokumentowany w punkcie czasowym 5 dpz dla danio przegowanego.
		Wskaźnik przeżywalności larw przy samodzielnym pobieraniu pokarmu (np. dla danio przegowanego w punkcie czasowym 5 dpz, dla ryżanki japońskiej w punkcie czasowym 12 dpz) jako odsetek wszystkich wyklutych jaj.
		Ponieważ przeżywalność larw stabilizuje się na późniejszym etapie, wskaźnik przeżywalności jako odsetek wszystkich larw należy odnotować w drugim punkcie czasowym przed osiągnięciem dojrzałości płciowej (np. dla danio przegowanego w punkcie czasowym 28 dpz).
	Podczas samodzielnego pobierania pokarmu	Morfologia; np. zatrzymany/nieprawidłowy rozwój, wielkość, skóra, płetwy, wszelkie formy obrzęku, nieprawidłowe wygięcie, obrzęk serca, nieotwarty pęcherz pławny
	Zachowanie i aktywność podczas pływania; np. długotrwałe pływanie przy dnie zbiornika lub blisko powierzchni, pozycja w wodzie	
Obszary, na których należy się skupić, obserwując dorosłe, dojrzałe płciowo ryby kostnoszkieletowe		

Wygląd	Stan fizyczny	Zmienność długości/wyraźnie mniejszy/większy rozmiar w stosunku do wieku (szacunkowo)
		Wycieńczone
		Otyłe/opuchnięte
		Zmieniony kształt, np. nieprawidłowości kręgosłupa
		Zmienione lub brakujące płetwy (proszę określić rodzaj płetwy i sposób, w jaki uległa zmianie)
		Zmienione lub brakujące pokrywy skrzelowe (wieczko skrzelowe)
	Łuski i stan skóry	Zmiany na łuskach/skórze
		Zaczerwieniona skóra
		Jaśniejsza/ciemniejsza pigmentacja
		Inne zmiany koloru skóry
		Owrzodzenia
		Zlokalizowany obrzęk/guz
Funkcja organizmu	Oddychanie	Zwiększona częstość ruchów wieczka skrzelowego
		Próby chwytania powietrza przy powierzchni
	Przyjmowanie pokarmu	Zmiana sposobu pobierania pokarmu (proszę określić)
Inne	Proszę określić	
Zachowania	Pływanie	Zwiększona/zmniejszona aktywność (w tym w odpowiedzi na stymulację)
		Pływanie po okręgu/spiralne
		Ocieranie się o bok/dno zbiornika, „objanie się” o dno zbiornika
		Pływanie przy dnie zbiornika
		Pływanie przy powierzchni
	Interakcje społeczne	Agresja
	Inne kwestie dotyczące populacji	Utrata potrzeby włączania się do ławicy, odłączanie się od ławicy
		Płodność, określona dla samców i samic. W tym podatność na „uwięźnięcie jaja”.
		Upadkowość (lub wczesne uśmiercenie z powodu objawów niepożądanych) przed osiągnięciem oczekiwanej długości życia lub najdłuższego okresu życia.

Wskaźniki specyficzne dla danej procedury	Określa się je na podstawie indywidualnego projektu, jego potencjalnych szkodliwych skutków oraz oczekiwanych wskaźników tych skutków.	
Dowolne spostrzeżenia	System oceny dotkliwości powinien zawsze obejmować możliwość odnotowywania wszelkich spostrzeżeń dotyczących nieoczekiwanych negatywnych skutków dla dobrostanu.	

Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu form larwalnych

Ocenę larw przeprowadza się wyłącznie poprzez obserwację zwierzęcia, w zależności od wielkości, pod mikroskopem, na płytce Petriego albo w zbiorniku. Do oceny dobrostanu wykorzystuje się reprezentatywną liczbę larw (i lęgów). W celu uzupełnienia oceny dobrostanu należy wziąć pod uwagę szczególne aspekty dotyczące larw przed okresem samodzielnego pobierania pokarmu.

Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu dojrzałych płciowo, dorosłych form

Ocenę dorosłych, (w miarę możliwości) dojrzałych płciowo ryb przeprowadza się, obserwując zwierzę w zbiorniku. Jeśli to możliwe, wszystkie obserwowane ryby należy trzymać w jednej grupie, ponieważ rozdzielenie ich do oceny spowodowałoby dodatkowy stres.

Chociaż na ogół nie uważa się za konieczne przeprowadzania osobnej oceny obu płci, w ocenie należy uwzględnić obie płcie. Jeśli istnieją jakiegokolwiek wskazania, że zaobserwowane nieprawidłowości są zależne od płci, wówczas ocenę dobrostanu dorosłych, dojrzałych płciowo ryb należy przeprowadzić oddzielnie dla samców i samic.

System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych świń hodowlanych lub świnek miniaturowych

Zalecenia dotyczące oceny dobrostanu świń hodowlanych lub świnek miniaturowych

Ocena dobrostanu powinna obejmować zwierzęta z reprezentatywnych grup wiekowych:

- wkrótce po urodzeniu, w okresie odsadzania (w wieku 4–5 tygodni) i ponownie po osiągnięciu dojrzałości płciowej (w wieku ok. 4–6 miesięcy) oraz w dodatkowych punktach czasowych, które zostaną uznane za właściwe w ramach uprzedniego przeglądu potencjalnego wpływu modyfikacji genetycznej, np. w przypadku wystąpienia choroby zależnej od wieku
- minimum 7 samców i 7 samic pobranych do próby z więcej niż jednego miotu (liczba potomstwa w miotach świnek miniaturowych jest niewielka, a przy tym liczba hodowców genetycznie zmienionych zwierząt i liczba zwierząt są na ogół znacznie niższe niż w przypadku innych gatunków)

Sekcja B – Szablon oceny dobrostanu świń hodowlanych lub świnek miniaturowych

Wygląd zewnętrzny/Funkcje organizmu/Środowisko/Zachowania/Wskaźniki specyficzne dla danej procedury/Dowolne spostrzeżenia

Kategorie wysokiego poziomu	Obszary, na których należy się skupić, obserwując zwierzęta	Szczególne wskaźniki, które należy monitorować
Wygląd	Stan fizyczny	Odchylenia od krzywej wzrostu
		Otyłe lub większe
		Chude lub mniejsze
		Odchylenia w ocenie stanu fizycznego
	Stan sierści i skóry	Odchylenie w kolorze skóry
		Odchylenia w wyglądzie skóry
		Odchylenia w jakości sierści (np. gęsta sierść)
		Utrata sierści lub łysienie
		Luźna skóra spowodowana np. odwodnieniem lub głodem
		Uszkodzenia skóry – opuchlizna, świerzb, wrzód, uszkodzenie lub rana
		Zapalenie skóry lub egzema
	Wydzieliny	z oczu, nosa, układu moczowo-płciowego lub biegunka
	Oczy	Małocze
		Opuchnięte lub zamknięte/pół zamknięte
		Uszkodzenie oka (np. owrzodzenie rogówki lub oznaka ślepoty)
	Otwór gębowy	Ślinienie
Wada zgryzu/przerośnięte zęby		
Inne	Wady rozwojowe (np. zniekształcenia układu kostnego lub nieprawidłowości, takie jak wodogłowie)	
	Nieprawidłowości morfologiczne, neurologiczne lub mięśniowo-szkieletowe	
	Opuchnięta część ciała (np. wzdęty brzuch) lub guzy	
Funkcje organizmu	Oddychanie	Przyspieszony oddech (<i>tachypnoea</i>)
		Głęboki oddech (<i>hyperpnoea</i>)

		Ciężki oddech (<i>dyspnoea</i> , dyszenie)
		Świszczący oddech lub wydawanie innych dźwięków podczas oddychania
	Przyjmowanie pokarmu	Zwiększone/zmniejszone
	Przyjmowanie wody	Zwiększone/zmniejszone
	Temperatura ciała	Podwyższona/obniżona; zmierzona temperatura ciała, w przypadkach, w których jest to możliwe (np. za pomocą termometru dotykowego lub bezdotykowego)
	Zmysły	Oznaki pogorszenia wzroku, słuchu lub równowagi
Środowisko	Warunki bytowania zwierząt w pomieszczeniu, w tym ściółka, materiały do budowy gniazd, przedmioty urozmaicające warunki bytowania	Obecność i konsystencja kału
		Nadmierne oddawanie moczu
		Obecność wymiocin lub krwi
		Wykorzystywanie przez zwierzę przedmiotów urozmaicających warunki bytowania, np. materiałów do budowy gniazd, kostek do żucia
Zachowania	Interakcje społeczne	Czy zwierzę wykazuje pełen repertuar zachowań właściwych dla danego szczepu; w tym interakcje społeczne, rycie, chodzenie, bieganie, spanie
		Osamotnione lub odsunięte od innych osobników z grupy społecznej
	Zachowania niepożądane	Zachowania powtarzalne/stereotypowe
		Długotrwały brak aktywności
		Zwiększona agresja wobec ludzi lub innych zwierząt
	Pozycja i poruszanie się	Nienaturalna postawa (np. prosięta z rozkroczością)
		Nienaturalny chód, kulawizna, brak ruchu/letarg/niechęć do poruszania się w przypadku stymulacji
		Nieskoordynowane lub upośledzone ruchy lub jakiegokolwiek trudności z orientacją
		Pozycja skulona, przechylona głowa
	Inne	Sztywność lub drżenie
		Napady/konwulsje/skurcze/drgawki
		Wydawanie odgłosów; spontaniczne lub wywołane
		Upadkowość (lub wczesne uśmiercenie z powodu objawów niepożądanych) przed osiągnięciem oczekiwanej długości życia lub najdłuższego okresu życia.

Wskaźniki specyficzne dla danej procedury	Określa się je na podstawie indywidualnego projektu, jego potencjalnych szkodliwych skutków oraz oczekiwanych wskaźników tych skutków.	
Dowolne spostrzeżenia	System oceny dotkliwości powinien zawsze obejmować możliwość odnotowywania wszelkich spostrzeżeń dotyczących nieoczekiwanych negatywnych skutków dla dobrostanu.	

Dodatkowe uwagi dotyczące oceny dobrostanu noworodków

KRYTERIA	NA CO ZWRACAĆ UWAGĘ
Kolor i wygląd skóry noworodków	Czy któreś z prosiąt wykazują oznaki nieprawidłowego koloru skóry (np. anemia, słabe krążenie)? Czy mają luźną skórę (objaw odwodnienia lub głodu)? Czy wyglądają na „owłosione” (objaw trudności w utrzymaniu normalnej temperatury ciała)?
Aktywność noworodków	Jakakolwiek nietypowa aktywność? Czy noworodki są aktywne i swobodnie się poruszają? Czy oddychają normalnie? Czy mają nienaturalną postawę (np. prosięta z rozkroczością)?
Interakcje noworodków z lochą i zachowanie przy ssaniu	Czy noworodki otrzymały siarę? Czy są zainteresowane ssaniem i zdolne do ssania oraz czy spożycie przez nie mleka wydaje się normalne? Czy są odizolowane od lochy lub źródła ciepła? Czy przy wymieniu występuje walka i agresja? Czy są jakieś dowody odrzucenia młodych przez matki?
Miot	Czy ciąża była donoszona? Czy poród przebiegał normalnie? Jakiegokolwiek nieprawidłowości dotyczące wielkości miotu, jednorodności miotu, rozwoju i wzrostu prosiąt?

System oceny dobrostanu genetycznie zmienionych kurcząt

Zalecenia dotyczące oceny dobrostanu kurcząt:

Ważne jest, aby badaniem zostały objęte zwierzęta z reprezentatywnych grup wiekowych.

- Należy uwzględnić wskaźniki skuteczności wylęgu
- Wkrótce po wykluciu (zwykle w inkubatorze) i w innych odpowiednich okresach*), zwierzęta dorosłe, starzejące się lub w maksymalnym utrzymywanym wieku
- Minimum 7 samców i 7 samic pobranych do próby z więcej niż jednego lęgu jaj
- W miarę możliwości porównanie z podobnymi zwierzętami genetycznie niezmiennymi.

*) oraz w dodatkowych punktach czasowych, które zostaną uznane za właściwe w ramach uprzedniego przeglądu potencjalnego wpływu modyfikacji genetycznej, np. w przypadku wystąpienia choroby zależnej od wieku.

Warto wiedzieć, czy ptak należy do linii niosek czy brojlerów, ponieważ będzie to miało wpływ na żywienie i fenotyp i w zależności od tego może wymagać różnic środowiskowych i zmian żywieniowych.

Sekcja B – Szablon oceny dobrostanu kurcząt

Wygląd zewnętrzny/Funkcje organizmu/Środowisko/Zachowania/Wskaźniki specyficzne dla danej procedury/Dowolne spostrzeżenia

Kategorie wysokiego poziomu	Obszary, na których należy się skupić, obserwując zwierzęta	Szczególne wskaźniki, które należy monitorować
Wygląd	Stan fizyczny/uformowanie/wzrost	Wady rozwojowe, nieprawidłowy rozwój, zniekształcenie układu kostnego, rozkroczość
		Odchylenia od wzrostu i oczekiwanej wielkości
		Stan fizyczny – specyficzny dla niosek/brojlerów
		Utrata/zwiększenie masy ciała
	Stan piór i skóry	Nieprawidłowy rozwój piór
		Pióra w złym stanie/nastroszone/zabrudzone
		Obszary utraty piór, częstsze wydziobywanie piór niż oczekiwano
		Odwodnienie – napięcie skóry
		Uszkodzenia skóry – wrażliwość/opuchlizna, świerzb, wrzód, uszkodzenie lub rana
	Wydzieliny	z oczu, nosa, odbytnicy (kloaki)
	Oczy	Zapadnięte lub „ospałe”
		Zamknięte/pół zamknięte/opuchnięte
		Uszkodzenie oka (np. owrzodzenie rogówki)
	Dziób/przewód pokarmowy	Problemy z wołem, takie jak zatkane wołe
		Zdeformowany dziób, grzebień lub dzwonki
Inne	Zabarwienie i uformowanie dzwonków i grzebienia – blade/czerwone/sine; twarde lub miękkie	
	Opuchnięta część ciała, np. rozdęty brzuch	
Funkcje organizmu	Oddychanie	Przyspieszony oddech (tachypnoea)
		Głęboki oddech (hyperpnoea)
		Ciężki oddech (dyspnoea, dyszenie)

		Świszczący oddech lub wydawanie innych dźwięków podczas oddychania
	Pobieranie pokarmu/wody	Zwiększone/zmniejszone Zdolność do znajdowania pokarmu i wody przy wylęgu zgodnie z oczekiwaniami; konieczność pomocy lub trzymania ze zwierzętami kontrolnymi (np. jako towarzyszami)
	Temperatura ciała	Podwyższona/obniżona; zmierzona temperatura ciała, w przypadkach, w których jest to możliwe (np. za pomocą termometru dotykowego lub bezdotykowego) barwa kończyn
	Zmysły	Oznaki pogorszenia wzroku, słuchu lub równowagi
	Rozmnażanie	Nieprawidłowy odsetek żywotnych zarodków w badaniu pod światło (niższy niż oczekiwane 90 %) Niski wskaźnik wylęgu spowodowany niezdolnością do otwarcia jaj (utknięcie w skorupce) Nieśność kur, początek wieku nieśności, wskaźnik produkcji jaj w okresie nieśności, deformacje jaj, spójność skorupy, psucie się jaj.
Środowisko	Warunki bytowania zwierząt w pomieszczeniu, w tym ściółka, materiały do budowy gniazd, przedmioty urozmaicające warunki bytowania	Obecność i konsystencja kału
		Nadmierne/nietypowe zabrudzenie podłoża
		Wykorzystywanie przez zwierzę przedmiotów urozmaicających warunki bytowania, np. kąpeli piaskowej, grzędę
Zachowania	Interakcje społeczne	Wykazuje normalnie pełen zespół zachowań właściwych dla danego szczepu, w tym muskanie piór, chodzenie, bieganie, drapanie, kąpiele piaskowe, grzędowanie, krótkie „loty”, poszukiwanie pożywienia
		Nietypowa aktywność, taka jak nadpobudliwość.
		Odchylenie od standardowego usposobienia –
		Osamotnione lub odsunięte od innych ptaków z grupy społecznej.
	Zachowania niepożądane	Interakcje z nastawieniem pełnym obaw/agresywnym wobec innych ptaków, zachowanie lękowe (np. wyraźne odruchy ucieczki, ukrywanie się)
		Wzmożone wydawanie odgłosów podczas kontaktu

		Zachowania powtarzalne/stereotypowe
		Wydziobywanie piór
		Długotrwały brak aktywności (może wskazywać na przewlekły stres lub depresję (anhedonię) lub chorobę/ból), w szczególności w połączeniu ze skuloną postawą lub nastroszonymi lub zmierzwionymi piórami.
		Zwiększona agresja wobec ludzi lub innych zwierząt
	Pozycja i poruszanie się	Nienaturalna, skulona postawa
		Trudności z orientacją
		Nienaturalny chód, kulawizna, brak ruchu/letarg/niechęć do poruszania się w przypadku stymulacji
	Inne	Drżenie
		Szttywność
		Napady/konwulsje/skurcze/drgawki
Wydawanie odgłosów; spontaniczne lub wywołane.		
		Upadkowość (lub wczesne uśmiercenie z powodu objawów niepożądanych) przed osiągnięciem oczekiwanej długości życia lub najdłuższego okresu życia.
Wskaźniki specyficzne dla danej procedury	Określa się je na podstawie indywidualnego projektu, jego potencjalnych szkodliwych skutków oraz oczekiwanych wskaźników tych skutków.	
Dowolne spostrzeżenia	System oceny dotkliwości powinien zawsze obejmować możliwość odnotowywania wszelkich spostrzeżeń dotyczących nieoczekiwanych negatywnych skutków dla dobrostanu.	

Część 4: Przekazywanie informacji dotyczących genetycznie zmienionych zwierząt

1. Podstawowe zasady

W przypadku przenoszenia genetycznie zmienionych zwierząt w obrębie instytucji i pomiędzy nimi ważne jest, aby wraz ze zwierzętami przekazywano szczegółowe informacje na temat ich potrzeb w zakresie dobrostanu. Pozwoli to osobom opiekującym się zwierzętami lub je wykorzystującym zrozumieć szczególne cechy tych zwierząt (lub szczepów, lub linii), które otrzymują, wraz z wszelkimi specjalnymi wymogami, jakie mogą mieć w odniesieniu do ich dobrostanu, aby móc natychmiast zastosować udoskonalenia.

Informacje te można przekazywać w różnych formatach, takich jak dokument w wersji papierowej, plik elektroniczny czy baza danych. Ważne jest, aby zawierały one dostosowane do potrzeb i istotne informacje oraz były łatwo dostępne dla każdej osoby opiekującej się genetycznie zmienionymi zwierzętami w dowolnym miejscu, tak aby każde zwierzę (lub partia zwierząt) było objęte stałą opieką przez całe życie.

Jakie informacje należy przekazywać wraz ze zwierzętami?

Oprócz wszystkich istotnych danych dotyczących pokolenia, hodowli, nomenklatury i tła genetycznego (**część A oceny dobrostanu**) w dokumentach dotyczących przeniesienia należy umieścić jasny opis fenotypu lub innych cech zaobserwowanych podczas oceny dobrostanu (**część B oceny dobrostanu**).

W przypadku przenoszenia zwierząt z linii nieupośledzających szczególnie ważne jest podawanie informacji na temat warunków, w jakich dokonano pierwotnej klasyfikacji, np. stanu zdrowia, warunków środowiskowych, ponieważ zmiany te mogą wpływać na konsekwencje modyfikacji genetycznej w odniesieniu do dobrostanu zwierzęcia, powodując zmianę klasyfikacji z nieprzejawiających upośledzającego fenotypu na przejawiające upośledzający fenotyp.

Aby ułatwić stosowanie odpowiednich praktyk w zakresie trzymania zwierząt, opieki nad nimi i ich monitorowania, istotne jest ponadto, aby informacje na temat potencjalnych problemów dotyczących dobrostanu zwierząt związanych z fenotypem oraz odpowiednich wymogów w zakresie opieki i hodowli były udokumentowane wraz z możliwymi strategiami udoskonalania (**Część C – Wymogi w zakresie opieki i hodowli**) i dostarczone wraz ze zwierzętami.

W przypadku każdego genotypu, który może powstać (tj. heterozygot i homozygot) w wyniku hodowli zwierząt przekazywanych do nowego środowiska, należy podać następujące informacje.

Należy przekazać istotne informacje dotyczące:

- **fenotypów** – obserwowanych w klatkach lub w zbiornikach – w tym stadium życia/wieku zwierząt;

- **opieki nad zwierzętami** – kwestii związanych z hodowlą, które mogą mieć wpływ na zdrowie zwierzęcia, oraz wszelkiej wymaganej specjalnej opieki nad zwierzętami (np. suplementów, urozmaicenia warunków bytowania itp.);
- **sterylność** – płodność, problemy z miotem lub hodowlą;
- **szczegółowych zagadnień dotyczących szczepu** – nomenklatura, tło genetyczne, informacje o genotypie

2. Sekcja C – Szablon transferu dotyczący wymagań zakresie opieki i hodowli genetycznie zmienionych zwierząt

Sekcja C – Wymogi w zakresie opieki i hodowli						
<p>Krótkie wyjaśnienie fenotypu, w tym działań zaradczych i punktów końcowych</p> <p>Należy uwzględnić nieprawidłowości fenotypowe i zauważalne cechy, które mogą wystąpić, określając w tym celu wiek wystąpienia (np. wkrótce po urodzeniu/wylęgu, przy odsadzeniu, samodzielnym pobieraniu pokarmu lub podczas dojrzewania płciowego, u osobnika dorosłego lub w czasie hodowli (brak rozwoju jaj, poronienia, nieprawidłowe płody itp.)</p>						
	Wi ek	Rodzaje objawów	Potencjalny wpływ na dobrostan	Możliwe leczenie, interwencje i strategie udoskonalania	Szczególne warunki utrzymania lub opieki	Humanitarne punkty końcowe
<p>Objawy kliniczne</p> <p>W tym wygląd zewnętrzny, funkcje organizmu i monitorowanie środowiska</p>						
<p>Objawy behawioralne</p>						

Wydajność hodowlana, w tym żywotność młodych/potomstwa						
Przedwczesna śmierć						

Część 5: Sprawozdawczość związana z genetycznie zmienionymi zwierzętami

1. Ogólne ramy prawne

Ogólne obowiązki sprawozdawcze określono w art. 54 dyrektywy. Szczegółowe wymogi określono w decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE.

Dyrektywa zawiera dwa rodzaje obowiązków sprawozdawczych, które dotyczą genetycznie zmienionych zwierząt:

- 1) roczną sprawozdawczość statystyczną zawierającą dane statystyczne dotyczące sposobów wykorzystania zwierząt, w tym do celów stworzenia i utrzymania genetycznie zmienionych zwierząt. Działania wchodzące w zakres definicji „procedury” wymagają pozwolenia wydanego na projekt, a zwierzęta wykorzystywane w projektach są na ogół objęte obowiązkiem składania rocznych sprawozdań statystycznych.

Szczegółowe wymogi można znaleźć w załączniku III do decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE;

- 2) ponadto raz na pięć lat państwa członkowskie są zobowiązane do gromadzenia informacji na temat wdrażania dyrektywy. Obejmują one dwie konkretne kategorie danych od hodowców i użytkowników genetycznie zmienionych zwierząt na temat stworzenia i utrzymania genetycznie zmienionych zwierząt w ostatnim roku pięcioletniego cyklu sprawozdawczego:
 - wszystkie pozostałe zwierzęta, których nie uwzględniono w rocznych sprawozdaniach statystycznych, w tym zwierzęta powstałe w wyniku stworzenia i utrzymania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt (zwierzęta wyhodowane, uśmiercone i niewykorzystane), oraz
 - reprezentatywne informacje na temat metod pobierania próbek tkanek dla celów charakterystyki genetycznej (genotypowania) – zwierzęta te mogły być uwzględnione lub nie w rocznych sprawozdaniach statystycznych, w zależności od rodzaju zastosowanej metody pobierania próbek tkanek (zob. s. 70).

Szczegółowe wymogi można znaleźć w załączniku II do decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE.

2. Schemat blokowy wymogów w zakresie sprawozdawczości statystycznej i sprawozdań z wykonania dotyczących stworzenia, utrzymania i wykorzystywania genetycznie zmienionych zwierząt

W schemacie na następnej stronie przedstawiono zestawienie wymogów w zakresie sprawozdawczości dotyczących zarówno rocznej sprawozdawczości statystycznej (pola ciemnoniebieskie), jak i pięcioletnich sprawozdań z wykonania (pola jasnozielone).

Schemat można pobrać w formie plakatu ze strony:

https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_posters_en.htm

<p style="text-align: center;">Statystyki roczne:</p> <p style="text-align: center;">zwierzęta wykorzystywane do stworzenia linii (w tym rodzice) są zgłaszane w statystykach rocznych w ramach celu badań podstawowych/stosowanych, dla którego tworzy się linię</p> <p style="text-align: center;">Jedyny wyjątek: potomstwa typu dzikiego nie uwzględnia się w rocznych statystykach</p>	<p style="text-align: center;">Sprawozdanie z wykonania:</p> <p style="text-align: center;">raz na pięć lat, w ostatnim roku cyklu sprawozdawczości z wykonania: kolejne sprawozdania obejmują lata 2022, 2027, 2032</p> <p style="text-align: center;">Zwierzęta wykorzystywane do stworzenia linii: obejmują tylko potomstwo typu dzikiego bez anomalii genetycznych (jeśli nie wykorzystuje się go (a zatem nie zgłasza w inny sposób) w innych procedurach)</p>
<p>Ocena dobrostanu – z późniejszym podjęciem decyzji dotyczącej klasyfikacji linii</p>	

NIEUPOŚLEDZAJĄCY FENOTYP

UPOŚLEDZAJĄCY FENOTYP

Metoda pobierania próbek tkanek na potrzeby genotypowania:

(nieinwazyjne) pobieranie próbek tkanek **poniżej** progu

pobieranie próbek tkanek **powyżej** progu

Brak pozwolenia na projekt	Pozwolenie na projekt	Pozwolenie na projekt
<p>Sprawozdanie z wykonania:</p> <p>wszystkie <u>niewykorzystane</u> zwierzęta, które uśmiercono i które nie były genotypowane z wykorzystaniem metody inwazyjnej.</p>	<p>Statystyki roczne w kategorii „utrzymanie kolonii...”:</p> <p>wszystkie <u>niewykorzystane</u> zwierzęta, które uśmiercono i które były genotypowane z wykorzystaniem metody inwazyjnej (nie w celu znakowania)</p>	<p>Statystyki roczne w kategorii „utrzymanie kolonii...”:</p> <p>wszystkie <u>niewykorzystane</u> zwierzęta, które uśmiercono i które przejawiały upośledzający fenotyp lub były genotypowane z wykorzystaniem metody inwazyjnej (nie w celu znakowania)</p>
<p>Zwierzęta, których nie uśmiercono i które nadal wykorzystuje się w procedurach</p>		
<p>Pozwolenie na projekt</p>		
<p>Statystyki roczne: wszystkie zwierzęta wykorzystywane w procedurach zgłasza się w statystykach rocznych po zakończeniu procedury i w celu, w jakim przeprowadzono tę procedurę.</p>		

3.1. Roczna sprawozdawczość statystyczna

Wymogi prawne dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt i wymogi dotyczące rocznej sprawozdawczości statystycznej

W załączniku III do decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE zawarto w

- części A – kategorie danych, które należy wykorzystać;
- części B – instrukcje ogólne i instrukcje dotyczące szczegółowych kategorii danych.

Do celów rocznej sprawozdawczości statystycznej zwierzęta są zgłaszane **tylko raz** po przeprowadzeniu procedury – na ogół przez właściciela projektu, który kończy „wykorzystanie”. Do celów sprawozdawczości statystycznej ważne jest rozróżnienie między „wykorzystaniem”, „wykorzystaniem ciągłym” i „ponownym wykorzystaniem” (więcej informacji na ten temat znajduje się w [dokumencie roboczym dotyczącym konkretnych artykułów dyrektywy 2010/63/UE](#)⁹).

Zgłaszanie zwierząt wykorzystanych do stworzenia zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

Wszystkie zmodyfikowane genetycznie linie zwierząt są zamawiane w określonym celu naukowym. Procedury związane z tworzeniem nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt należy zgłaszać w zależności od konkretnego obszaru badań, dla którego tworzy się linię. W związku z tym, aby zapewnić dokładność zgłaszania przez kierownika projektu, należy przedyskutować i udokumentować działania osób wnioskujących o stworzenie linii oraz osób tworzących nowe linie.

- „Tworzenie” oznacza rozwój nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt poprzez celową lub zamierzoną modyfikację genetyczną (np. wstawianie, usunięcie lub edycja genu, mutageniza chemiczna lub inne manipulacje gametą lub zarodkiem lub krzyżowanie dwóch wcześniej istniejących linii)

Jak opisano w części 1 sekcja 3 niniejszych wytycznych, stworzenie nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt zasadniczo uznaje się za procedurę. Zwierzęta wykorzystywane do celów tworzenia zgłasza się w statystykach rocznych, z wyjątkiem potomstwa, które jest genotypowane z wykorzystaniem metod nieinwazyjnych i które okazuje się być typu dzikiego, tzn. nie jest nosicielem mutacji genetycznej. Takie zwierzęta typu dzikiego będą zgłaszane wyłącznie w sprawozdaniu z wykonania za okres pięcioletni – zob. s. 65.

Wyjątkiem jest sytuacja, gdy krzyżuje się/krzyżuje się wstecznie **dwie linie o nieupośledzającym fenotypie** i gdy można **racjonalnie oczekiwać**, że nowa linia **nie** spowoduje powstania upośledzającego fenotypu – wymóg uzyskania pozwolenia na projekt może nie mieć zastosowania, a co za tym idzie zwierzęta te nie są zgłaszane w rocznych sprawozdaniach statystycznych – **chyba że** zastosowano inwazyjne metody genotypowania.

⁹ https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Consensus_document.pdf

Ważne jest, aby przy zgłaszaniu zwierząt w rocznym sprawozdaniu statystycznym uwzględnić osobno każdego z rodziców i potomstwo, ponieważ każde z nich może być zgłaszane inaczej, na przykład w zależności od wykazanego genotypu i fenotypu oraz losu (zob. tabela poniżej).

Zgłaszanie zwierząt wykorzystanych do utrzymania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

Po utworzeniu linii, w następstwie zakończenia oceny dobrostanu i zaliczenia do kategorii nieupośledzających/upośledzających oraz zaliczenia do kategorii dotkliwości (z uwzględnieniem heterozygot i homozygot), zgłaszanie powinno odbywać się w kategorii „Utrzymanie kolonii stabilnych linii zwierząt zmienionych genetycznie, niewykorzystywanych do celów innych procedur”, chyba że zwierzęta są przekazywane do wykorzystania ciągłego w procedurach naukowych wymagających danego genotypu.

Zwierzęta z linii, którą zaliczono do kategorii **z nieupośledzającym fenotypem**, będą zgłaszane w rocznym sprawozdaniu statystycznym w przypadku zastosowania inwazyjnych metod genotypowania i uśmiercenia zwierzęcia, a także w przypadku gdy zwierzę zostanie utrzymane przy życiu i posiada **niezamierzony genotyp**. Zgłasza się to jako pierwsze wykorzystanie. Zwierzęta o **zamierzonym genotypie**, które nadal wykorzystuje się w procedurach naukowych wymagających tego genotypu, zostaną zgłoszone dopiero po zakończeniu całej procedury tego wykorzystania ciągłego.

Zwierzęta ze stabilnej linii, którą zaliczono do kategorii **z upośledzającym fenotypem**, będą zgłaszane w statystykach rocznych, tj. zwierzęta, które przejawiają uszkodzenie lub te, które poddano inwazyjnym metodom genotypowania i uśmiercono w danym roku bez późniejszego wykorzystania w procedurze naukowej.

Szczegółowe informacje dotyczące wymogów w zakresie sprawozdawczości znajdują się w tabeli na następnej stronie.

Zgłaszanie zwierząt, które przekazuje się między procedurami, projektami, ośrodkami lub państwami członkowskimi

W przypadku gdy zwierzęta przekazuje się między projektami lub między ośrodkami (w obrębie państwa członkowskiego lub między państwami członkowskimi) w celu umożliwienia dokładnej sprawozdawczości na koniec życia/procedury („wykorzystanie”), wówczas wraz ze zwierzętami przy ich przekazaniu należy przekazać informacje o tym, czy te zwierzęta:

- są zwierzętami, które nie zostały poddane żadnej procedurze w pierwszym ośrodku;
 - które mają zostać zgłoszone przez odbiorcę w przypadku wykorzystania w procedurze naukowej po zakończeniu tej procedury;
 - [uwaga: zwierząt, których nie poddano żadnej procedurze w ośrodku przyjmującym, nie zgłasza się w statystykach rocznych, musi je jednak zgłosić ośrodek, w którym się je uśmierca, jeśli uśmiercono je w roku rejestracji, do celów sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni – zob. sekcja 3.2];
- są zwierzętami w trakcie wykorzystania ciągłego (np. genotypowanie z wykorzystaniem metody inwazyjnej w celu potwierdzenia właściwego genotypu i przekazane do wykorzystania w procedurze naukowej wymagającej tego genotypu);

- które mają zostać zgłoszone przez odbiorcę po zakończeniu procedury;
- lub są zwierzętami po zakończeniu „wykorzystania” (np. genotypowanie z wykorzystaniem metody inwazyjnej, w wyniku którego stwierdzono, że zwierzę nie ma zamierzonego genotypu), a zwierzę przekazuje się do ponownego wykorzystania;
 - które mają zostać zgłoszone zarówno przez pierwszego użytkownika, któremu wydano pozwolenie i który przeprowadził genotypowanie zwierząt przy pierwszym wykorzystaniu, jak i przez odbiorcę po zakończeniu ponownego wykorzystania.

W poniższych dwóch tabelach przedstawiono typowe procedury w ramach utrzymania genetycznie zmienionych zwierząt oraz schemat decyzyjny pozwalający określić, czy dane zwierzę należy zgłosić w statystykach rocznych w ramach utrzymania, czy nie.

1. W pierwszej tabeli przedstawiono zwierzęta hodowane ze stabilnej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt **nieprzejawiającej upośledzającego fenotypu**.
2. W drugiej tabeli przedstawiono zwierzęta hodowane ze stabilnej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt **przejawiającej upośledzający fenotyp**.

1. ZWIERZĘTA WYKORZYSTANE DO UTRZYMANIA ISTNIEJĄCEJ LINII NIEPRZEJAWIAJĄCEJ UPOŚLEDZAJĄCEGO FENOTYPU

Jaki jest genotyp zwierzęcia?	Czy u zwierzęcia wystąpiły szkodliwe skutki związane z genotypem?	Czy zwierzę genotypowane z wykorzystaniem inwazyjnej metody pobierania próbek tkanek, której nie stosuje się do celów identyfikacji ¹⁰ ?	Czy genotyp został potwierdzony zgodnie z oczekiwaniami?	Czy zwierzę poddano innym procedurom niż utrzymanie lub pobranie próbek tkanek ¹¹ ?	Czy zwierzę uśmiercono w roku sprawozdawczym i nie zostało ono wykorzystane do innych procedur?	Czy właściciel projektu (ośrodka) musi zgłosić zwierzę w statystykach rocznych w celu utrzymania zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt?	Uwagi	Zgłoszona rzeczywista dotkliwość
Niezmieniony genetycznie	Nie	Nie	Niewymagane	Nie	Tak	NIE	Zgłaszane jedynie raz na 5 lat w ramach sprawozdania z wykonania	Niewymagane
Niezmieniony genetycznie	Nie	Tak	Niewymagane	Nie	Tak	TAK	Chociaż informacje o dotkliwości pobierania próbek tkanek w izolacji są wymagane jedynie w roku poprzedzającym sprawozdanie z wykonania za okres pięcioletni, zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku pobierania próbek tkanek
Zmieniony genetycznie	Nie	Nie	Nieistotne	Nie	Tak	NIE	Genetycznie zmienione zwierzęta nieprzejawiające upośledzającego fenotypu – zgłaszane jedynie raz na 5 lat w ramach sprawozdania z wykonania	Niewymagane
Zmieniony genetycznie	Nieoczekiwane Tak	Nie	Nieistotne	Nie	Tak	NIE	Jeżeli u szeregu zwierząt wystąpią szkodliwe skutki, należy powtórzyć ocenę dobrostanu zwierząt i w stosownych przypadkach rozważyć zmianę klasyfikacji z linii nieupośledzającej na linię upośledzającą.	Niewymagane

¹⁰ Dotyczy to wszystkich inwazyjnych metod pobierania próbek tkanek, w których tkanki nie pobiera się podczas znakowania zwierzęcia.

¹¹ W rzadkich przypadkach, gdy transfer zarodka jest konieczny wyłącznie w celu usunięcia drobnoustroju komensualnego lub drobnoustrojów komensualnych z kolonii hodowlanej (tj. nie w celu poprawy zdrowia lub dobrostanu kolonii, ale w celu naukowym), stosowane procedury (np. transfer zarodka, w razie potrzeby superowulacja) należy uwzględniać w statystykach rocznych, przy czym stopień dotkliwości należy odnotować jako najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku wspomnianej procedury.

							Jeżeli klasyfikacja linii zostanie zmieniona na linię upośledzającą, do jej utrzymania wymagane będzie pozwolenie na projekt. – Zgłaszane jedynie raz na 5 lat w ramach sprawozdania z wykonania	
Zmieniony genetycznie	Nieoczekiwane Tak	Tak	Nieistotne	Nie	Tak	TAK	Jeżeli u szeregu zwierząt wystąpią szkodliwe skutki, należy powtórzyć ocenę dobrostanu zwierząt i w stosownych przypadkach rozważyć zmianę klasyfikacji z linii nieupośledzającej na linię upośledzającą. Jeżeli klasyfikacja linii zostanie zmieniona na linię upośledzającą, do jej utrzymania wymagane będzie pozwolenie na projekt.	
Zmieniony genetycznie	Nie	Tak	Nieistotne	Nie	Tak	TAK	Zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni, które będzie wymagane dla tych zwierząt oprócz statystyk rocznych.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku pobierania próbek tkanek
Zmieniony genetycznie	Nie	Tak	Tak	Nie	Nie	NIE	Inwazyjne pobieranie próbek tkanek (w przypadku gdy oczekiwany fenotyp zostaje potwierdzony , a zwierzę nie zostaje uśmiercone) stanowi pierwszą część wykorzystania ciągłego ; <u>użytkownik końcowy rejestruje zwierzę w statystykach rocznych</u> po zakończeniu ostatecznego wykorzystania	O dotkliwości pobrania próbki tkanki należy poinformować użytkownika końcowego, aby uwzględnił ją w końcowej zgłoszonej rzeczywistej dotkliwości.
Zmieniony genetycznie	Nie	Tak	Nieodpowiedni genotyp	Nie	Nie	TAK	Inwazyjne pobieranie próbek tkanek (w przypadku gdy oczekiwany fenotyp nie zostaje potwierdzony , a zwierzę nie zostaje uśmiercone) uznaje się za pierwsze wykorzystanie tego zwierzęcia; każde następne wykorzystanie uznaje się za ponowne wykorzystanie . Zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku pobierania próbek tkanek

2. ZWIERZĘTA WYKORZYSTANE DO UTRZYMANIA **ISTNIEJĄCEJ** LINII **PRZEJAWIAJĄCEJ** UPOŚLEDZAJĄCY FENOTYP

Jaki jest genotyp zwierzęcia?	Czy u zwierzęcia wystąpiły szkodliwe skutki związane z genotypem?	Czy zwierzę genotypowano z wykorzystaniem inwazyjnej metody pobierania próbek tkanek ¹²⁾ ?	Czy genotyp został potwierdzony zgodnie z oczekiwaniami?	Czy zwierzę poddano innym procedurom niż utrzymanie lub pobranie próbek tkanek ¹³⁾ ?	Czy zwierzę uśmiercono w roku sprawozdawczym i nie zostało ono wykorzystane do innych procedur?	Czy właściciel projektu (ośrodek) musi zgłosić zwierzę w statystykach rocznych w celu „utrzymania” genetycznie zmienionych zwierząt?	Uwagi	Zgłoszona rzeczywista dotkliwość
Niezmieniony genetycznie	Nie	Nie	Niewymagane	Nie	Tak	NIE	Zgłaszane jedynie raz na 5 lat w ramach sprawozdania z wykonania	Nie dotyczy
Niezmieniony genetycznie	Nie	Tak	Niewymagane	Nie	Tak	TAK	Zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku pobierania próbek tkanek
Zmieniony genetycznie	Nie	Nie	Nieistotne	Nie	Tak	NIE	Zgłaszane jedynie raz na 5 lat w ramach sprawozdania z wykonania	Nie dotyczy
Zmieniony genetycznie	Tak	Nie	Nieistotne	Nie	Tak	TAK		Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku szkodliwych skutków związanych z genotypem
Zmieniony genetycznie	Nie	Tak	Nieistotne	Nie	Tak	TAK	Zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku pobierania próbek tkanek
Zmieniony genetycznie	Tak	Tak	Nieistotne	Nie	Tak	TAK	Zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości, biorąc pod uwagę zarówno wyniku szkodliwych skutków związanych z genotypem, jak i wynik pobrania próbek tkanek

¹²⁾ Dotyczy to wszystkich inwazyjnych metod pobierania próbek tkanek, w których tkanki nie pobiera się podczas znakowania zwierzęcia.

¹³⁾ W rzadkich przypadkach, gdy transfer zarodka jest konieczny wyłącznie w celu usunięcia drobnoustrojów komensualnych lub drobnoustrojów komensualnych z kolonii hodowlanej (tj. nie w celu poprawy zdrowia lub dobrostanu kolonii, ale w celu naukowym), stosowane procedury (np. transfer zarodka, w razie potrzeby superowulacja) należy uwzględniać w statystykach rocznych, przy czym stopień dotkliwości należy odnotować jako najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku wspomnianej procedury.

Zmieniony genetycznie	Nie	Tak	Tak	Nie	Nie	NIE	Zwierzę nie zostaje uśmiercone, ale zostało poddane inwazyjnemu pobraniu próbek tkanek, które stanowi pierwszą część wykorzystania ciągłego ; <u>użytkownik końcowy rejestruje zwierzę w statystykach rocznych po zakończeniu wykorzystania.</u>	U zwierzęcia mogły/nie mogły wystąpić szkodliwe skutki związane z genotypem. O najwyższej dotkliwości, biorąc pod uwagę zarówno skutki związane z genotypem, jaki i pobraniem próbki tkanki, należy poinformować użytkownika końcowego, aby uwzględnił ją w końcowej zgłoszonej rzeczywistej dotkliwości.
Zmieniony genetycznie	Tak	Tak	Tak	Nie	Nie	NIE	Zwierzę nie zostaje uśmiercone, ale zostało poddane inwazyjnemu pobraniu próbek tkanek, które stanowi pierwszą część wykorzystania ciągłego ; <u>użytkownik końcowy rejestruje zwierzę w statystykach rocznych po zakończeniu wykorzystania.</u>	U zwierzęcia mogły/nie mogły wystąpić szkodliwe skutki związane z genotypem. O najwyższej dotkliwości, biorąc pod uwagę zarówno skutki związane z genotypem, jaki i pobraniem próbki tkanki, należy poinformować użytkownika końcowego, aby uwzględnił ją w końcowej zgłoszonej rzeczywistej dotkliwości.
Zmieniony genetycznie	Nie	Tak	Nieodpowiedni genotyp	Nie	Nie	TAK	Inwazyjne pobieranie próbek tkanek (w przypadku gdy oczekiwany fenotyp nie zostaje potwierdzony , a zwierzę nie zostaje uśmiercone, ale jest utrzymywane przy życiu w celu wykorzystania w innym badaniu wymagającym tego genotypu lub w badaniu, w którym genotyp nie jest istotny) uznaje się za pierwsze wykorzystanie tego zwierzęcia; każde następane wykorzystanie uznaje się za ponowne wykorzystanie. Zaleca się odnotowanie metody pobierania próbek tkanek wraz z powiązaną z nią dotkliwością, aby ułatwić sporządzanie sprawozdania z wykonania za okres pięcioletni.	Najwyższy osiągnięty stopień dotkliwości w wyniku pobierania próbek tkanek

3.2. Sprawozdanie z wykonania sporządzane co pięć lat

Wymogi prawne dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt i sprawozdania z wykonania przedstawiane przez państwa członkowskie

W załączniku II do decyzji wykonawczej Komisji (UE) 2020/569 wprowadzono wymóg składania co 5 lat sprawozdań dotyczących dwóch odrębnych obszarów, które odnoszą się do genetycznie zmienionych zwierząt. Obejmują one:

- zwierzęta, które są hodowane, uśmiercane i nie są wykorzystywane, a które są wynikiem stworzenia albo utrzymania zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt;
- zwierzęta, od których pobrano próbki tkanek, niezależnie od metody wykorzystanej w celu uzyskania tkanek.

Szczegółowe wymogi prawne znajdują się w części C.2 i części D.3.1 załącznika II do decyzji wykonawczej Komisji 2020/569/UE.

Zwierzęta hodowane, uśmiercone i niewykorzystywane

W dyrektywie zawarto wymóg, aby raz na pięć lat dokładnie policzyć wszystkie zwierzęta, które są potrzebne do celów prowadzenia badań i testów w UE. Wynik uzyskuje się częściowo na podstawie rocznych danych statystycznych za dany rok, które obejmują wszystkie zwierzęta wykorzystywane w procedurach, a drugą część, której celem jest ustalenie całkowitej liczby, uzupełnia się raz na pięć lat, licząc wszystkie pozostałe zwierzęta hodowane, uśmiercone i niewykorzystane w procedurach. Kategoria ta obejmuje zarówno zwierzęta konwencjonalne, jak również zwierzęta ze stworzonych i utrzymanych zmienionych genetycznie linii.

W porównaniu z danymi z 2017 r. w przyszłych sprawozdaniach wymagana jest oddzielna identyfikacja zwierząt, które uśmiercono w celu pozyskania narządów/tkanek.

Należy zauważyć, że informacje przekazywane do tej kategorii danych zgłaszają nie tylko **użytkownicy, ale także hodowcy zwierząt.**

Ważne jest, aby przy zgłaszaniu zwierząt pochodzących ze stworzonych i hodowanych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt do celów sprawozdania z wykonania uwzględnić osobno każdego z rodziców i potomstwo, ponieważ każde z nich może być zgłaszane inaczej w zależności od wykazanego genotypu i fenotypu.

Hodowlę zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, o ile nie potwierdzono (np. poprzez genotypowanie, kolor sierści), że nie jest to zmodyfikowana genetycznie linia zwierząt, należy zgłosić jako zmodyfikowaną genetycznie.

Państwa członkowskie stosują różne metody gromadzenia tych danych. Aby społeczność hodowców i użytkowników zwierząt miała jasny obraz sytuacji, niektóre państwa członkowskie postanowiły gromadzić te dane co roku.

Komisja Europejska stworzyła dobrowolne narzędzie mające pomóc w dokładnym gromadzeniu tych danych, wykorzystując szablon w programie Excel („Szablon danych użytkownika/hodowcy do sprawozdania z wykonania sporządzanego przez państwo

członkowskie”, rodzaj rejestru IR2). Można je wykorzystywać do rejestrowania danych rocznych.

Wymogi w zakresie sprawozdawczości opisano szczegółowo w tabeli na s. 68. Ponieważ narzędzia sprawozdawcze mogą się jednak różnić w poszczególnych krajach, w tabeli odniesiono się jedynie do narzędzi udostępnionych przez Komisję.

Zalecenia:

- Państwa członkowskie powinny zapewnić, aby odpowiednie właściwe organy i środowisko naukowe wiedziały o właściwych i aktualnych narzędziach gromadzenia danych dotyczących zwierząt hodowanych, uśmierconych i niewykorzystanych przed rozpoczęciem pięcioletniego cyklu sprawozdawczego i dysponowały takimi narzędziami.

Pobieranie próbek tkanek

W odróżnieniu od *dokładnej liczby* wszystkich zwierząt hodowanych, uśmierconych i niewykorzystanych, państwa członkowskie są zobowiązane do przedstawienia *reprezentatywnych* danych dotyczących pobierania próbek tkanek. Celem sprawozdania dotyczącego pobierania próbek tkanek nie jest określenie całkowitej liczby zwierząt, od których pobrano próbki tkanek. Umożliwia ono natomiast przeprowadzenie na poziomie UE analizy rodzaju gatunków, proporcji różnych stosowanych metod pobierania próbek tkanek i związanego z nimi stopnia dotkliwości, aby ocenić postępy we wdrażaniu zasady 3R do celów pobierania próbek tkanek.

Sposób interpretowania i gromadzenia „danych reprezentatywnych” różni się znacząco w poszczególnych państwach członkowskich. Aby ograniczyć zamieszanie wśród społeczności użytkowników i uprościć wymogi w zakresie sprawozdawczości, niektóre państwa członkowskie zdecydowały się na coroczne gromadzenie wszystkich danych od wszystkich hodowców i użytkowników. Niektóre inne państwa członkowskie gromadziły dane jedynie za ostatni rok pięcioletniego cyklu sprawozdawczego. W niektórych przypadkach dane gromadzono ze wszystkich ośrodków, a w innych jedynie z reprezentatywnej liczby ośrodków. W niektórych przypadkach dane częściowe (np. za sześć miesięcy w okresie sprawozdawczym) gromadzono ze wszystkich odpowiednich ośrodków. W kolejnych sprawozdaniach z wykonania za okres pięcioletni należy wymienić kryteria stosowane przez państwa członkowskie przy wyborze i przekazywaniu danych, aby zapewnić reprezentatywność przedstawianych informacji. Państwa członkowskie powinny w odpowiednim czasie określić i poinformować środowisko naukowe, jakie to będą kryteria.

Podobnie jak w przypadku danych dotyczących zwierząt hodowanych, uśmierconych i niewykorzystanych, informacje dotyczące pobierania próbek tkanek zgłaszają **zarówno użytkownicy, jak i hodowcy zwierząt**.

W przeciwieństwie do zgłaszania zwierząt hodowanych, uśmierconych i niewykorzystanych, niektóre zwierzęta, które zgłasza się w ramach pobierania próbek tkanek, można również uwzględniać w rocznych sprawozdaniach statystycznych w przypadku gdy zwierzę poddano

innym procedurom naukowym (nawet jeśli próbkę tkanki pobrano metodą nieinwazyjną lub nadmiar tkanek uzyskanych podczas znakowania wykorzystano w celu charakterystyki genetycznej) albo w związku z zastosowaniem u zwierzęcia inwazyjnej metody pobierania próbek tkanek.

Informacje są wymagane dla wszystkich gatunków, u których zastosowano pobranie próbek tkanek. Dla każdego gatunku należy podać liczbę zwierząt w podziale na rodzaj zastosowanej metody oraz, jeśli jest to metoda inwazyjna, odpowiedni rozkład dotkliwości.

Aby ułatwić gromadzenie danych dotyczących metod pobierania próbek tkanek i związanej z nimi dotkliwości, Komisja Europejska stworzyła w tym celu dwa nieobowiązkowe, uzupełniające się narzędzia:

- w przypadku **zwierząt zgłaszanych w statystykach rocznych** – dodatkowe nieobowiązkowe pola (X–Z) w szablonie Excel na potrzeby rocznych sprawozdań statystycznych, w których podaje się informacje dotyczące pobierania próbek tkanek oraz

X	Y	Z
Method of tissue sampling	Specify other method	Severity of genotyping
<ul style="list-style-type: none"> [IG1] Invasive genotyping: blood sampling [IG2] Invasive genotyping: ear biopsy [IG3] Invasive genotyping: tail biopsy [IG6] Invasive genotyping: fin biopsy [IG4] Invasive genotyping: toe clipping [IG5] Invasive genotyping: other [ST1] Surplus tissue from the marking of an animal via ear punc [ST2] Surplus tissue from the marking of an animal via toe clipp 		

- w przypadku **zwierząt, które nie są zgłaszane w statystykach rocznych**, można skorzystać z nieobowiązkowego arkusza Excel na potrzeby dodatkowych danych użytkownika („Szablon danych użytkownika/hodowcy do sprawozdania z wykonania sporządzanego przez państwo członkowskie”, rodzaj rejestru IR1), aby zarejestrować nieinwazyjne pobieranie próbek tkanek i wykorzystanie nadmiaru materiału uzyskanego podczas identyfikacji/znakowania zwierzęcia.

A	J	K
Entry data		
Record type *	Method of tissue sampling	Specify other method
[IR1] Tissue sampling (non-invasive genotyping or from surplus tissue)	<ul style="list-style-type: none"> [ST1] Surplus tissue from the marking of an animal via ear punch [ST2] Surplus tissue from the marking of an animal via toe clipping [NG1] Non-invasive genotyping: hair sampling [NG2] Non-invasive genotyping: observation under special lighting [NG3] Non-invasive genotyping: post mortem [NG4] Non-invasive genotyping: other 	

Te uzupełniające się narzędzia, jeżeli są stosowane łącznie, będą wspierać dokładną sprawozdawczość. W przypadku pominięcia jednego lub drugiego narzędzia należy udostępnić inne narzędzie krajowe, aby zapewnić rejestrowanie i zgłaszanie wszystkich niezbędnych informacji na potrzeby sprawozdania z wykonania.

Jeżeli powyższe narzędzia są stosowane w państwie członkowskim, w tabeli poniżej pokazano, które z narzędzi należy stosować w jakich przypadkach, w jaki sposób zgłosić rzeczywistą dotkliwość związaną z pobieraniem próbek tkanek i kto powinien je zgłosić.

SPRAWOZDAWCZOŚĆ W ZAKRESIE METOD POBIERANIA PRÓBEK TKANEK DO CELÓW SPRAWOZDANIA Z WYKONANIA ZA OKRES PIĘCIOLETNI Z WYKORZYSTANIEM NARZĘDZI UDOSTĘPNIONYCH PRZEZ KOMISJĘ EUROPEJSKĄ						
Metoda genotypowania	Zwierzę zostaje uśmiercone po pobraniu próbek tkanek	Zwierzę jest wykorzystywane w (pierwszej/kontynuowanej/innej) ¹⁾ procedurze po pobraniu próbek tkanek		Sprawozdawczość przy użyciu dobrowolnego arkusza Excel ¹⁴ – rodzaj rejestru: [R1] pobieranie próbek tkanek	Zgłaszanie w drodze dodania odpowiednich informacji w rocznym sprawozdaniu statystycznym – kolumny X–Z	Uwagi
		Przez ten sam ośrodek	Przez inny ośrodek			
Metoda nieinwazyjna lub z wykorzystaniem nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia ²⁾	Tak	Nie	Nie	TAK		Zgłaszane przez ośrodek, w którym zwierzę poddano genotypowaniu i uśmiercono.

¹⁴ Dobrowolny arkusz Excel „Szablon danych użytkownika/hodowcy do sprawozdania z wykonania sporządzanego przez państwo członkowskie”

Metoda nieinwazyjna lub z wykorzystaniem nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia ²⁾	Nie	Tak	Nie		TAK	Informacje dotyczące pobierania próbek tkanek dodaje się w kolumnach X–Y w rocznej sprawozdawczości statystycznej po zakończeniu wykorzystania danego zwierzęcia w procedurze
Metoda nieinwazyjna lub z wykorzystaniem nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia ²⁾	Nie	Nie	Tak	TAK		Sprawozdawczość w zakresie metody pobierania próbek tkanek prowadzi ośrodek, w którym pobrano próbki tkanek od zwierzęcia
Inwazyjna metoda pobierania próbek tkanek – bez wykorzystywania nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia	Tak	Nie	Nie		TAK	Pobieranie próbek tkanek jest zgłaszane jako jedyne wykorzystanie w rocznej sprawozdawczości statystycznej w pozycji tworzenia lub utrzymywania – rzeczywista dotkliwość pobierania próbek tkanek zostanie zgłoszona w obu kolumnach „T” i „Z” ³⁾
Inwazyjna metoda pobierania próbek tkanek – bez wykorzystywania nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia	Nie	Tak w ramach wykorzystania ciągłego wymagającego tego genotypu	Nie		TAK	W przypadku tego zwierzęcia zgłoszone zostaną 2 stopnie dotkliwości: w odniesieniu do głównego wykorzystania i pobierania próbek tkanek. Rzeczywistą dotkliwość całej procedury (w tym skutki inwazyjnego genotypowania) zgłasza się w kolumnie „T”. Stopień dotkliwości w kolumnie „Z” powinien odnosić się wyłącznie do rzeczywistej dotkliwości pobierania próbek tkanek ³⁾
Inwazyjna metoda pobierania próbek tkanek – bez wykorzystywania nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia	Nie	Tak w innej procedurze, niewymagającej konkretnego genotypu	Nie		TAK	Pierwszym „wykorzystaniem” jest inwazyjne pobieranie próbek tkanek, a kolejnym wykorzystaniem jest „ponowne wykorzystanie”. Pierwszy użytkownik musi zgłosić rzeczywistą dotkliwość pobierania próbek tkanek w obu kolumnach „T” i „Z”. Pobieranie próbek tkanek jest zgłaszane jako pierwsze wykorzystanie w rocznej sprawozdawczości statystycznej w pozycji tworzenia lub utrzymywania. ³⁾
Inwazyjna metoda pobierania próbek tkanek – bez wykorzystywania nadmiaru tkanek uzyskanych podczas	Nie	Nie	Tak, w ramach wykorzystania ciągłego wymagającego tego genotypu		TAK	Pobieranie próbek tkanek jest zgłaszane dopiero po zakończeniu całej procedury przez ośrodek, który zakończył to „wykorzystanie”. W przypadku tego zwierzęcia zgłoszone zostaną 2 stopnie dotkliwości: w odniesieniu do głównego wykorzystania i pobierania próbek tkanek. Rzeczywistą dotkliwość całej procedury (w tym skutki inwazyjnego genotypowania) zgłasza się w kolumnie

znakowania zwierzęcia						„T”. Stopień dotkliwości w kolumnie „Z” powinien odnosić się wyłącznie do pobierania próbek tkanek ³⁾ . Informacje na temat inwazyjnego pobierania próbek tkanek (metody i rzeczywistej dotkliwości) powinny zostać otrzymane razem ze zwierzęciem.
Inwazyjna metoda pobierania próbek tkanek – bez wykorzystywania nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia	Nie	Nie	Tak, w innej procedurze, niewymagające j konkretnego genotypu		TAK	Pobieranie próbek tkanek jest zgłaszane jako „pierwsze wykorzystanie” przez ośrodki, w którym pobrano próbki tkanek (w pozycji tworzenia lub utrzymywania) – rzeczywista dotkliwość w kolumnach „T” i „Z” odnosi się zatem do rzeczywistej dotkliwości pobierania próbek tkanek ³⁾ . Zwierzęciu powinna towarzyszyć informacja, że przeprowadzono już jego pierwsze wykorzystanie. Zastosowanie mają warunki ponownego wykorzystania.

1. Pierwsze wykorzystanie: pobieranie próbek tkanek przeprowadzono metodą nieinwazyjną lub przy użyciu nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia, w związku z czym pobieranie próbek nie jest uznawane za procedurę, a każda kolejna procedura zostanie uznana za pierwsze wykorzystanie;

Wykorzystanie ciągłe: od zwierzęcia pobrano tkanki metodą inwazyjną, potwierdzono zamierzony genotyp i wykorzystano zwierzę (= wykorzystanie ciągłe) w procedurze, która wymagała tego genotypu;

Ponowne wykorzystanie w innej procedurze: od zwierzęcia pobrano tkanki metodą inwazyjną (= pierwsze wykorzystanie), ale następnie wykorzystano je w procedurze, która nie wymagała zamierzonego genotypu.

2. Nieinwazyjne pobieranie próbek tkanek/wykorzystanie nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania zwierzęcia nie jest uznawane za procedurę/wykorzystanie zwierzęcia.
3. Rzeczywista dotkliwość zgłoszona w kolumnie „Z” powinna odnosić się wyłącznie do rzeczywistej dotkliwości pobierania próbek tkanek w przeciwieństwie do rzeczywistej dotkliwości zgłoszonej w kolumnie „T”, która powinna odzwierciedlać najwyższy stopień dotkliwości odczuwanej przez zwierzę podczas całego wykorzystania zwierzęcia (tj. z uwzględnieniem skutków związanych z genotypem, genotypowaniem i dotkliwości odczuwanej podczas innych elementów procedury).

Zalecenia:

- Państwa członkowskie powinny w odpowiednim czasie określić i poinformować odpowiednie właściwe organy i środowisko naukowe, jakie będą kryteria pobierania próbek w odniesieniu do „danych reprezentatywnych” służących gromadzeniu danych dotyczących pobierania próbek tkanek;
- Państwa członkowskie powinny zapewnić, aby odpowiednie właściwe organy i środowisko naukowe dysponowały aktualnymi narzędziami i informacjami na temat

wymogów odnoszących się do gromadzenia danych dotyczących pobierania próbek tkanek.

Dodatki

Dodatek I: Przykłady baz danych dotyczących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

Linki sprawdzone w marcu 2020 r.

1. Niewyczerpujący wykaz przykładowych baz danych dotyczących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt:
 - <http://www.informatics.jax.org/>
 - <https://www.infrafrontier.eu/>
 - <https://archive.har.mrc.ac.uk/index>
 - <https://www.mousephenotype.org/>
 - <http://zfin.org/>
 - <https://www.xenbase.org/gene/static/geneNomenclature.jsp>
2. Strona internetowa umożliwiająca wyszukiwanie ludzkich genów i chorób genetycznych: <https://omim.org>

Dodatek II: Wniosek projektowy i ocena tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt

Wprowadzenie

W art. 36–44 dyrektywy 2010/63/UE określono wymogi dotyczące wniosków projektowych, ich oceny i wydawania pozwoleń na projekty.

Część A niniejszego dodatku (na podstawie załącznika VI do dyrektywy) skierowana jest zarówno do wnioskodawców, jak i osób oceniających. Określono w niej wymogi informacyjne o szczególnym znaczeniu, które należy uwzględnić we wniosku o stworzenie lub utrzymywanie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.

W art. 37 określono wymagane elementy wniosku o wydawanie pozwolenia na projekt, a mianowicie:

- opis projektu,
- nietechniczne streszczenie projektu oraz
- informacje dotyczące elementów określonych w załączniku VI do dyrektywy.

Część B niniejszego dodatku jest skierowana głównie do osób oceniających projekty. Skoncentrowano się w niej na procesie oceny projektu, podkreślając najważniejsze kwestie i sposoby ich uwzględnienia podczas oceny. Ta część będzie również interesująca dla wnioskodawców, ponieważ pozwala lepiej zrozumieć kwestie, które należy uwzględnić pod kątem procesu oceny, aby zapewnić spełnienie wymogów określonych w dyrektywie.

Dalsze informacje na temat wymogów zawartych w dyrektywie można znaleźć w [wytocznych UE dotyczących oceny projektów i oceny retrospektywnej](#).

Część A: Poglądowe przykłady najważniejszych informacji wymaganych we wniosku projektowym dotyczącym genetycznie zmienionych zwierząt

Opis projektu

W opisie określa się najważniejsze kwestie naukowe do uwzględnienia, w tym cel projektu (jak określono w art. 5). Wniosek projektowy stanowi dokumentację przedkładaną do właściwego organu zawierającą szczegółowe informacje na temat planowanych prac i wniosek o wydanie na nie pozwolenia. W stosownych przypadkach, gdy jest to dopuszczalne w danym państwie członkowskim, należy rozważyć wykorzystanie wielokrotnych typowych projektów

(https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Consensus_document.pdf)

i uproszczonych procedur administracyjnych określonych odpowiednio w art. 40 ust. 4 i art. 42.

W przypadku hodowli i utrzymywania wyłącznie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt przejawiających nieupośledzający fenotyp, ale z zastosowaniem inwazyjnych metod pobierania próbek tkanek, wymagane jest pozwolenie na projekt. Projekt taki może być prosty i skupiać się przede wszystkim na udoskonaleniu i przyszłej klasyfikacji dotkliwości tych procedur.

Projekty dotyczące tworzenia i utrzymywania genetycznie zmodyfikowanych zwierząt są na ogół wymagane do celów badań podstawowych lub stosowanych. W ramach takich projektów należy określać aktualny stan wiedzy, na którym ma się opierać dany projekt. W stosownych przypadkach powinno to obejmować cele osiągnięte w ramach poprzednich projektów oraz cele szczegółowe, które należy osiągnąć w ramach danego projektu. Uzasadnienie naukowe należy przedstawić w sposób zwięzły i poprzeć najważniejszymi odniesieniami/przeglądem literatury. Chociaż w przypadku produkowania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt dla innych podmiotów przedstawienie szczegółowych celów naukowych nie będzie możliwe, wnioskodawca musi uzyskać od użytkowników/nabywców zwierząt informacje na temat linii, które mają zostać wytworzone, oraz ich przeznaczenia, jeżeli informacje te nie są mu znane.

W opisie wyjaśnia się, dlaczego nie jest możliwe osiągnięcie celów naukowych bez stosowania genetycznie zmienionych zwierząt, w jaki sposób takie zwierzęta będą wykorzystywane, dlaczego niezbędne są nowe zmodyfikowane genetycznie linie zwierząt, oraz przedstawia potwierdzenie, że żadne inne odpowiednie linie nie są dostępne.

W przypadku gdy informacje są przekazywane przez klientów i poddawane przeglądowi może zaistnieć potrzeba ustanowienia systemu dla projektów usługowych (zob. poniżej).

Nietechniczne streszczenie projektu

Wzór służący przekazywaniu nietechnicznych streszczeń projektów znajduje się w części A załącznika I do decyzji wykonawczej Komisji (UE) 2020/569, a wytyczne dotyczące składania wniosków zostaną udostępnione na późniejszym etapie pod adresem https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_guidance_en.htm.

Wykaz elementów, o których mowa w art. 37 ust. 1 lit. c) i załączniku VI

W poniższej tabeli wymieniono elementy z załącznika VI, które należy uwzględnić w wniosku projektowym. Zostały one następnie szerzej omówione poniżej w kontekście genetycznie zmienionych zwierząt, co ma na celu zapewnienie, aby informacje zawarte we wniosku były wystarczające dla osób oceniających projekt, by osoby te mogły należycie rozważyć, czy należy zalecić udzielenie pozwolenia.

	Element załącznika VI	Numery punktów, w których elementy te omówiono poniżej.
I.	Znaczenie i uzasadnienie: a) wykorzystania zwierząt, z uwzględnieniem ich pochodzenia, szacowanych liczb, gatunków i stadiów życia;	1 lit. a), 1 lit. b), 1 lit. c), 1 lit. d), 1 lit. e), 2, 3

	b) procedur	1, 2
II.	Stosowanie metod zastępowania, ograniczania i udoskonalania wykorzystania zwierząt w procedurach.	1 lit. f), 1 lit. g), 1 lit. h), 3
III.	Planowane stosowanie znieczulenia, zniesienia czucia bólu lub innych metod uśmierzających ból.	3 lit. c) ppkt (i)
IV.	W stosownych przypadkach zmniejszanie, unikanie i łagodzenie wszelkich form cierpienia zwierząt od urodzenia do śmierci.	3 lit. c), 1 lit. f), 1 lit. g), 1 lit. h)
V.	Stosowanie humanitarnych punktów końcowych.	3 lit. c) ppkt (v)
VI.	Strategia doświadczalna lub obserwacyjna oraz planowanie statystyczne w celu ograniczenia do minimum liczby zwierząt, ich bólu, cierpienia, dystresu oraz, w stosownych przypadkach, oddziaływania na środowisko.	3, 4, 5
VII.	Ponowne wykorzystanie zwierząt i jego kumulatywny wpływ na zwierzęta.	3 lit. b) ppkt (iv), 3 lit. c) ppkt (vii)
VIII.	Proponowana klasyfikacja dotkliwości procedur.	4
IX.	W stosownych przypadkach unikanie nieuzasadnionego powielania procedur.	3 lit. a) ppkt (i)
X.	Warunki trzymania i hodowli zwierząt oraz opieki nad nimi.	3 lit. c) ppkt (iv)
XI.	Metody uśmiercania.	3 lit. c) ppkt (vi)
XII.	Kwalifikacje osób biorących udział w projekcie.	6 lit. a), 6 lit. b)

Poniższe elementy obejmują zarówno tworzenie, jak i utrzymywanie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt z zamiarem połączenia ich w ramach tego samego projektu i należy je odpowiednio zastosować. Kolejność nie jest zgodna z powyższym wykazem; elementy przedstawiono w kolejności, która jest łatwiejsza do zastosowania przy przygotowywaniu wniosku projektowego.

Obecnie w Europie tworzenie, hodowlę i wykorzystywanie genetycznie zmienionych zwierząt można przypisać do czterech następujących kategorii:

- 1. Projekt naukowy**, który obejmuje **hodowlę, utrzymywanie i wykorzystanie** zwierząt i może obejmować **tworzenie nowych linii** (w tym krzyżowanie istniejących zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt). Wnioskodawca będzie miał dostęp do wszystkich istotnych informacji, a procedury składania wniosków i oceny powinny być proste.
- 2. Projekt dotyczący świadczenia usług typu A – hodowla i utrzymywanie stabilnych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt przejawiających upośledzający fenotyp w celu zaopatrywania grup naukowo-badawczych**, np. myszy z genetycznie wywołaną otyłością (ob/ob) lub myszy homozygotycznych pod względem spontanicznej mutacji prowadzącej do cukrzycy (lepr). Są one nierzadko hodowane i utrzymywane na zasadach komercyjnych, **często poza terenem ośrodka**. Szkodliwe skutki linii będą znane, w związku z czym szkody będzie można łatwo wziąć pod uwagę.

3. **Projekt dotyczący świadczenia usług typu B** – W tym przypadku **tworzenie, hodowla i utrzymywanie genetycznie zmienionych zwierząt mają formę usługi scentralizowanej w danym ośrodku badań naukowych**. Wszystkie istotne informacje są łatwo dostępne u naukowca zlecającego usługę, a informacje zwrotne są udzielane usługodawcy bezpośrednio.
4. **Projekt dotyczący świadczenia usług typu C** – W tym przypadku grupa dysponująca wysokim poziomem wiedzy fachowej pracuje w ośrodku zewnętrznym **względem ośrodka naukowego użytkownika/ośrodka badań naukowych** i usługa może być w pełni komercyjna. W tym przypadku konstrukty genów są przesyłane z zamówieniem na stworzenie nowych linii zwierząt i przeprowadzenie wszystkich wymaganych czynności w celu wytworzenia stabilnej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt, która następnie jest zazwyczaj wysyłana do użytkownika do celów hodowli i utrzymania. Podstawową funkcją projektu tego rodzaju jest **tworzenie nowych linii z konstruktów genów**.

Ten wykaz rodzajów projektów nie jest wyczerpujący; możliwe są inne kombinacje procesów.

Poniższy tekst dotyczy z jednej strony projektów naukowych, a z drugiej strony projektów usługowych.

1. Znaczenie i uzasadnienie procedur

Aby zrozumieć kontekst wniosku w odpowiednich dziedzinach nauki (lub rzadziej w ramach regulacyjnych), niezbędne są informacje ogólne.

- a. Ogólny cel tworzenia lub utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt powinien być jasny, aby prawdopodobne osiągnięcia zapewniły podstawę do oceny korzyści, jakie może przynieść projekt. Należy zadbać o to, aby informacje ogólne były precyzyjne i umożliwiały przegląd dziedziny zastosowania oraz obejmowały odnośną potrzebę naukową, medyczną, weterynaryjną lub kryminalistyczną. Do poparcia głównych punktów należy wykorzystać odniesienia (lub wytyczne regulacyjne) oraz wyniki wcześniejszych prac.

W przypadku projektów usługowych opisuje się usługę, którą będą Państwo świadczyć, oraz korzyści, jakie usługa przyniesie użytkownikom w stosunku do sytuacji, w której mieliby oni przeprowadzić odnośne czynności we własnym zakresie. Cele istotne dla projektu muszą być jasne, a ponadto konieczne może być uzyskanie od klientów informacji, które umożliwią określenie celu i umożliwią wykazanie, że oczekiwania, iż hodowla zwierząt przyniesie korzyści, są uzasadnione.

- b. **Cel** – w przypadku projektów związanych z tworzeniem i utrzymywaniem genetycznie zmienionych zwierząt pozwolenie może być wydane wyłącznie w odniesieniu do procedur służących określonym celom (art. 5 dyrektywy). Z informacji podanych we wniosku musi jasno wynikać, które z poniższych celów mają zastosowanie:
 - a) badania podstawowe;
 - b) badania translacyjne lub stosowane prowadzone w którymkolwiek z następujących celów:

- (i) unikanie, zapobieganie, diagnozowanie lub leczenie choroby, złego stanu zdrowia lub innej nieprawidłowości lub ich skutków u ludzi, zwierząt lub roślin;
- (ii) ocena, wykrywanie, regulacja lub modyfikacja stanów fizjologicznych u ludzi, zwierząt lub roślin; lub
- (iii) dobrostan zwierząt i poprawa warunków hodowli zwierząt hodowanych w celach rolniczych;
- c) prowadzone w którymkolwiek z celów określonych w lit. b) w opracowywaniu i produkcji leków, środków spożywczych, pasz i innych substancji lub produktów lub badania ich jakości, skuteczności i bezpieczeństwa ich stosowania;
- d) ochrona środowiska naturalnego w interesie zdrowia lub dobrostanu ludzi lub zwierząt;
- e) badania mające na celu zachowanie gatunku;
- f) kształcenie na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia, utrzymania lub doskonalenia umiejętności zawodowych;
- g) badania z zakresu medycyny sądowej.

Cele określone w lit. d)–g) są bardzo rzadko zgłaszane w odniesieniu do wykorzystania genetycznie zmienionych zwierząt. W przypadku zamiaru stworzenia genetycznie zmienionych zwierząt do celów określonych w lit. d)–g) zaleca się skontaktowanie się z krajowym/regionalnym/właściwym organem w celu ustalenia, czy cel został prawidłowo wskazany. W przypadku projektów obejmujących wyłącznie utrzymywanie istniejących linii w nietechnicznym streszczeniu projektu oraz w sprawozdawczości statystycznej należy wybrać „utrzymywanie”. Ważne jest jednak, aby w informacjach ogólnych we wniosku projektowym oraz w nietechnicznym streszczeniu projektu wyjaśnić, jaki będzie ogólny obszar wykorzystania.

c. Cele projektu

W przypadku projektu naukowego należy jasno określić naukowe cele projektu. Zdecydowana większość (> 95 %) nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt jest wytwarzana do celów badań podstawowych (celem pozostałej części są badania translacyjne/stosowane). Linie tego rodzaju wykorzystuje się do wspierania projektów przewidujących badania służące konkretnym celom w danej dziedzinie naukowej, na które udzielono pozwolenie. Przykładem może być projekt w dziedzinie neurologii mający na celu zbadanie genów biorących udział w demielinizacji (degeneracji nerwów), u którego podstaw leży zamiar opracowania strategii leczenia wyniszczających chorób, takich jak stwardnienie rozsiane. Projekt taki może wymagać pozwolenia na opracowanie szeregu nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt w celu zbadania patogenez (przyczyn) demielinizacji. Projekt taki mógłby obejmować wszystkie procedury niezbędne do stworzenia, utrzymania i późniejszego naukowego wykorzystania tych zwierząt w ramach jednego określonego programu prac.

W przypadku projektu naukowego wniosek musiałby obejmować kwestie takie jak:

- dlaczego takie zwierzęta/linie są potrzebne?

- powody wyboru danego gatunku
- do jakich badań będą one wykorzystywane?
- jakie wyniki/cele naukowe zostaną osiągnięte dzięki stworzeniu tych zwierząt?
- dlaczego każda z wnioskowanych procedur jest niezbędna do stworzenia, hodowli/utrzymania tych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt?

Alternatywnie w przypadku projektów usługowych we wniosku trzeba określić cele dotyczące świadczenia usług wysokiej jakości, aby umożliwić innym stronom osiągnięcie korzyści naukowych.

d. Jeżeli dostępna jest wiedza fachowa niezbędna do opracowania genetycznie zmodyfikowanych zwierząt (w ośrodku badań naukowych w ramach projektu usługowego typu B albo w innym ośrodku w ramach projektu usługowego typu C), wniosek projektowy dotyczący stworzenia nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt może przewidywać spełnienie potrzeb wielu grup badawczych. Należy rozważyć wykorzystanie tej wiedzy fachowej do świadczenia skutecznych usług zaspokajających potrzeby zarówno wewnętrznego, jak i szerszego środowiska naukowego. W przypadku projektu usługowego wniosek powinien obejmować kwestie takie jak:

- zapotrzebowanie na usługę;
- gatunki, które będą oferowane, oraz adekwatne doświadczenie z każdym z nich;
- sposób określenia przez wnioskodawcę wykorzystania i celu zwierząt (przed stworzeniem/utrzymywaniem);
- korzyści dla użytkowników końcowych wynikające z usługi;
- dlaczego każda z wnioskowanych procedur jest niezbędna do stworzenia, hodowli/utrzymania tych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt?

e. W stosownych przypadkach, gdy jest to dopuszczalne w danym państwie członkowskim, projekty dotyczące genetycznie zmienionych zwierząt mogą zostać objęte pozwoleniem dotyczącym wielokrotnych typowych projektów, jak określono w art. 40. W przypadku wielokrotnych typowych projektów muszą one jednak nadal gwarantować, że w odniesieniu do każdej nowej linii cel procedur wymagany na mocy art. 5 dyrektywy (zob. pkt 1b powyżej) może zostać prawidłowo określony w warunkach pozwolenia i udokumentowany. W przypadku projektów usługowych we wniosku należy opisać wewnętrzny proces operacyjny przekazywania nowych linii do wykorzystania przez klienta, w tym organizację, zarządzanie i przegląd wniosków o wykorzystanie w ramach zakładu. Procesy te powinny potwierdzać należyte zarządzanie i kontrolę jakości wewnętrznego procesu decyzyjnego. W takich przypadkach zarządzanie rozwojem nowej linii zapewnia się za pomocą procesu wewnętrznego, który gwarantuje, że lokalne procesy są wystarczające do spełnienia wymogów pozwolenia na projekt. Zasadnicze znaczenie ma prawidłowe prowadzenie dokumentacji oraz zadbanie o to, aby dokumentacja dotycząca podejmowania decyzji w odniesieniu do każdej linii była następnie dostępna, w tym do wglądu/inspekcji przez właściwy organ, w celu zapewnienia ciągłej skuteczności nadzoru wewnętrznego. Ważne jest, aby całkowita przewidywana liczba zwierząt i odnośne stopnie dotkliwości znalazły pełne odzwierciedlenie we wniosku i późniejszym pozwoleniu. Po

stworzeniu i zapewnieniu stabilności nowej linii często występuje potrzeba utrzymywania takich stabilnych linii. W związku z tym przed przekazaniem zwierząt w celu wykorzystania ciągłego w ramach projektu użytkownika należy rozważyć projekt łączony obejmujący stworzenie i utrzymywanie zwierząt. Jeżeli wymagane jest tylko utrzymywanie stabilnych linii, mogą one być hodowane i utrzymywane w ramach specjalistycznego projektu hodowli/utrzymania (projekt usługowy dotyczących usług typu A), zanim zostaną dostarczone innemu użytkownikowi w celu dalszego wykorzystania w ramach odpowiedniego projektu, na który udzielono pozwolenia. Świadczenie usług może być objęte pozwoleniem na wiele typowych projektów, ale jest mało prawdopodobne, aby takie pozwolenie obejmowało projekt użytkownika końcowego.

- f. W przypadku projektów naukowych należy rozważyć, czy skuteczniejszym rozwiązaniem nie byłoby wyprodukowanie linii w ośrodku specjalizującym się w ich tworzeniu, w którym wydajność może być większa, w związku z czym nie byłoby potrzeby uwzględniania w projekcie dotyczącym wykorzystania do celów naukowych procedur dotyczących wazektomii, superowulacji lub biorców zarodków.
- g. W odniesieniu do projektów naukowych, w przypadku których linie nie są tworzone w tym samym ośrodku badań naukowych, należy wziąć pod uwagę stres transportowy, który należy zminimalizować, jeżeli gamety/zarodki nie mogą być przywiezione/sprowadzone z innego ośrodka. W przypadku korzystania z usługi specjalistycznej oczekuje się, że jakość źródła powinna być wysoka, lecz mimo to klient powinien działać z zachowaniem należytej staranności.
- h. Należy uwzględnić omówienie potencjalnych skutków niedocelowych oraz strategii obserwacyjnej służącej ich wykryciu (część 2 sekcja 2).

2. Znaczenie i skutki potencjalnych korzyści

We wnioskach należy jasno określić następujące kwestie:

- a. Jakie korzyści przyniesie wytworzenie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt?
- b. Kto odniesie korzyści z rezultatów?
- c. Jakie to będą korzyści lub jakie skutki będą miały rezultaty **odnośnego projektu**?
- d. Kiedy (w miarę możliwości) osiągnięte zostaną korzyści?

W przypadku wnioskowania o pozwolenie na projekt, który ma na celu stworzenie wielu, być może zróżnicowanych, zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt do różnych celów badawczych (zazwyczaj dotyczy to projektów usługowych), w tym wielokrotnych typowych projektów, głównymi korzyściami może być świadczenie na rzecz klientów wysokiej jakości wydajnych i efektywnych usług przez specjalistów z wieloletnim doświadczeniem, którzy zapewniają precyzyjne, wysokiej jakości genetycznie zmienione zwierzęta przy jednoczesnej minimalizacji szkód dla ich dobrostanu i liczby zwierząt.

We wnioskach dotyczących stworzenia (i utrzymywania) zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt na potrzeby badań podstawowych (projekty naukowe) powinno się znaleźć zobowiązanie do upowszechniania wyników.

We wnioskach o pozwolenie na świadczenie usług należy uwzględnić zobowiązanie do minimalizacji nadwyżek i dzielenia się liniami, jeżeli jest to wykonalne.

3. Przyjęcie/uwzględnienie metod zastępowania, ograniczania i udoskonalania (*replace, reduce & refine, 3R*) wykorzystania zwierząt w procedurach

Szczegółowe informacje na temat sposobów uwzględnienia zasady 3R znajdują się w części 2 niniejszych wytycznych. Ważne, aby wnioskodawca wykazał we wniosku, że uwzględniono wszystkie istotne aspekty.

Poniżej omówiono przykłady najważniejszych elementów.

a. Zastępowanie.

We wniosku należy wyjaśnić, dlaczego wykorzystanie zwierząt jest konieczne, jakie alternatywy zostały wzięte pod uwagę i dlaczego nie można ich zastosować. W sekcji tej należy również wskazać prace związane z produkcją zwierzęcą w kontekście ogólnego programu naukowego, tj. jakie alternatywy stosuje się w odniesieniu do aspektów projektu i jaki jest ich wkład.

Może to obejmować np.:

- i. Określenie, w jaki sposób będzie prowadzone/kontynuowane poszukiwanie mające na celu stwierdzenie dostępności odnośnych linii w innym miejscu.
- ii. Rozważenie wykorzystania rodzajów zwierząt, które nie są objęte zakresem dyrektywy, takich jak *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans*.

b. Ograniczanie

Powinno obejmować uwzględnienie strategii doświadczalnej lub obserwacyjnej czy strategii hodowli w celu zminimalizowania liczby zwierząt. Planowanie statystyczne rzadko odgrywa rolę na **etapie tworzenia** genetycznie zmienionych zwierząt. Zasadnicze znaczenie dla ograniczania ma jednak dobre zarządzanie kolonią, w ramach którego dopasowuje się podaż do popytu. Przykładowe kwestie do uwzględnienia:

- i. rozważenie najodpowiedniejszej technologii inżynierii genetycznej w celu najbardziej efektywnego osiągnięcia celu naukowego;
- ii. w jaki sposób monitorowanie liczby zwierząt, gamet, potomstwa itp. będzie wykorzystywane do efektywnego tworzenia i hodowli zwierząt;
- iii. rozważenie krioprezervacji do celów zmniejszenia zapotrzebowania na utrzymywanie tak dużej liczby żywych zwierząt;
- iv. szczegółowe informacje na temat proponowanego ponownego wykorzystania zwierząt i jego skumulowanych skutków dla zwierząt – np. potomstwo typu dzikiego, które zostało poddane genotypowaniu metodą

inwazyjną, a które następnie wykorzystuje się do superowulacji, aby uzyskać jaja typu dzikiego do celów inżynierii genetycznej;

- v. wykorzystanie zwierząt do pobierania organów/tkanek;
- vi. wyjaśnienie, w jaki sposób oszacowano daną liczbę zwierząt, o które wnioskowano, np. liczbę linii do wyhodowania/stworzenia, liczbę wnioskowanych biorców chirurgicznych itp.

c. Udoskonalanie

Ogólne uwagi dotyczące udoskonalanie nie będą wystarczające. Wnioskodawcy powinni wyjaśnić, w jaki sposób wykorzystanie zwierząt zostanie udoskonalone w planowanych procedurach, w tym – w stosownych przypadkach – opisać sposoby zmniejszania, unikania i łagodzenia wszelkich form cierpienia zwierząt od urodzenia do śmierci, łącznie z:

- i. planowanym stosowaniem znieczulenia, zniesienia czucia bólu lub innych metod uśmierzających ból w przypadku procedur chirurgicznych niezbędnych do stworzenia nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt: np. wazektomii, chirurgicznego transferu zarodków;
- ii. wiekiem (etapem rozwoju) wykorzystywanych zwierząt – w tym wykorzystaniem bardzo młodych samic do hodowli/zbierania jaj;
- iii. wyborem metod pobierania próbek tkanek – wykorzystanie nadmiaru tkanek uzyskanych podczas znakowania lub – w przypadku proponowanych metod inwazyjnych – uzasadnienie, dlaczego metody nieinwazyjne są nieodpowiednie oraz jakie metody znieczulenia miejscowego / zniesienia czucia bólu będą stosowane;
- iv. warunkami utrzymania, hodowli i opieki nad zwierzętami – np. zwierzęta mające obniżoną odporność będą utrzymywane przy zastosowaniu barier w celu ograniczenia prawdopodobieństwa zakażenia, stosowana będzie określona karma, np. masa ciastowata przez dłuższy okres w przypadku młodych o oczekiwanych małych rozmiarach w stosunku do wieku w porównaniu z normalnymi warunkami, wyższa temperatura w pomieszczeniach dla zwierząt nagich / zwierząt bez sierści;
- v. stosowaniem humanitarnych punktów końcowych – szczególnie ważne w przypadku upośledzających fenotypów, zwłaszcza w przypadkach, w których szkody mają znaczne skutki. Humanitarne punkty końcowe związane z wiekiem mogą być znaczące – np. uśmiercenie przed 6 miesiącem życia przy pierwszym przejawieniu się [fenotypu];
- vi. metodami uśmiercania – wybór metod uśmiercania musi być możliwie najbardziej udoskonalony, np. metoda określona w załączniku IV stosowana do uśmiercania matek-biorców po odsadzeniu miotów uzyskanych w drodze wszczepienia chirurgicznego. W niektórych przypadkach, gdy niezbędne są tkanki genetycznie zmienionych zwierząt, może zaistnieć potrzeba uwzględnienia, w charakterze odstępstwa, metody niewymienionej w załączniku IV w pozwoleniu na hodowlę i utrzymywanie, jeżeli jest to jedyne „wykorzystanie”. W przypadku metod

- niewymienionych w załączniku IV należy przedstawić szczegółowe uzasadnienie, np. w niektórych przypadkach naukowych wymagane jest stosowanie utrwalania perfuzyjnego w celu zachowania mikroanatomii;
- vii. innymi losami zwierząt – losem zwierząt zarodkowych wycofanych z użytkowania, ponownym wykorzystaniem zwierząt typu dzikiego;
 - viii. opisem wdrożonych procesów mających na celu wprowadzanie technik w zakresie łagodzenia szkód pojawiających się w czasie trwania projektu.

4. Klasyfikacja dotkliwości procedur:

Po zakończeniu procedur, a także wszystkich planowanych udoskonaleń, powinna istnieć możliwość przypisania potencjalnych stopni dotkliwości do każdej procedury.

W przypadku projektów naukowych potencjalna dotkliwość będzie obejmować dotkliwość wykorzystania ciągłego, jak również skutków samej linii. W niektórych przypadkach, gdy w pozwoleniu nie przewidziano hodowli ani utrzymywania, należy opisać proces ustalania dotkliwości aż do punktu dostawy od hodowcy, ponieważ kwestię tę należy obowiązkowo uwzględnić przy zgłaszaniu rzeczywistej dotkliwości po zakończeniu procedury.

Wniosek musi zawierać informacje na temat procedur, które będą stosowane podczas tworzenia i utrzymywania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, potencjalnych szkodliwych skutków oraz metod, które zostaną użyte do zminimalizowania skutków dla zwierząt.

W przypadku projektów usługowych dotyczących usług typu A należy uwzględnić szkody spowodowane inwazyjnym genotypowaniem, którego nie przeprowadza się do celów identyfikacji, a w przypadku którego utrzymywanie odnośnych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt będzie mieć skutki dla ich dobrostanu.

W przypadku projektów usługowych dotyczących usług typu B i C, oprócz szkód wskazanych w odniesieniu do projektów przewidujących usługi typu A dotyczących hodowli i utrzymania, należy uwzględnić szkody wynikające z procedur tworzenia (w tym nieprzewidywalność szkód w nowych zmodyfikowanych genetycznie liniach zwierząt).

W odniesieniu do każdej procedury należy wskazać proponowaną klasyfikację dotkliwości, która odzwierciedla najwyższy oczekiwany stopień dotkliwości. Informacje o genie docelowym powinny umożliwić podjęcie świadomej decyzji z uwzględnieniem prawdopodobnego najgorszego scenariusza w przypadku każdego poszczególnego zwierzęcia. Jedynie w przypadku, gdy nie można podjąć takiej świadomej decyzji, należy zgodnie z zasadą ostrożności przypisać – jako potencjalną dotkliwość – klasyfikację „dotkliwe”, przy czym konieczne jest opisanie wczesnych punktów końcowych, aby ograniczyć szkody do niezbędnego minimum.

W przypadku procedur stosowanych u zwierząt wymagane są informacje dotyczące

- częstotliwości/czasu trwania procedur;
- prawdopodobieństwa szkodliwych skutków;

- poziomu dotkliwości i metod minimalizacji dotkliwości;
- systemu monitorowania; protokołów oceny dobrostanu;
- humanitarnych punktów końcowych i warunków interwencji.

W odniesieniu do procedur wymaganych rutynowo, takich jak transfer zarodków, superowulacja, chirurgiczne wszczepianie zarodków, i procedur dotyczących potomstwa wytworzonego z wykorzystaniem upośledzającego fenotypu lub inwazyjnego pobierania próbek tkanek należy przedstawić wyjaśnienia dotyczące potencjalnych szkodliwych skutków, metod stosowanych w celu ich ograniczenia, takich jak zniesienie czucia, oraz zapewnić stosowanie metod udoskonalonych w możliwie największym stopniu.

Przy tworzeniu nowych linii należy wziąć pod uwagę potencjalne szkodliwe skutki dla potomstwa. Skutki te można przewidzieć na podstawie informacji o genach poddawanych modyfikacji lub informacji na temat innych linii z podobnymi zmianami. W przypadku niektórych linii mogą jednak wystąpić nieoczekiwane szkodliwe skutki – jeżeli przekroczą one przewidywaną dotkliwość, może zaistnieć potrzeba wprowadzenia zmian w projekcie.

Stopnie dotkliwości przypisuje się zgodnie z odpowiednimi kryteriami przypisywania zawartymi w sekcji II i przykładami w załączniku VIII oraz wytycznymi UE dotyczącymi ram oceny dotkliwości, które zawierają opis przypadku genetycznie zmienionych zwierząt ([model 6, s. 62](#)).

Oprócz maksymalnych stopni dotkliwości w odniesieniu do każdej procedury (klasyfikacja potencjalnej dotkliwości) istotne jest wykazanie, jakie są realistycznie oczekiwane szkody wynikające z całego projektu – z uwzględnieniem całego projektu i wszystkich procedur – jako że ułatwi to osobie oceniającej projekt przeprowadzenie analizy szkód i korzyści. W podsumowaniu powyższych informacji może pomóc tabela z nietechnicznego streszczenia projektu:

Zgodnie z przewidywaniami jakie gatunki i jaka liczba zwierząt będą wykorzystywane? Jaka jest oczekiwana dotkliwość i liczba zwierząt w każdej kategorii dotkliwości (w podziale na gatunki)?	Gatunek	Szacunkowa całkowita liczba	Szacunkowa liczba dla każdej kategorii dotkliwości			
			Terminalne	Łagodne	Umiarkowane	Dotkliwe
	Myszy	5 400	0	5 000	300	100
	Danio pręgowny	10 500	0	7 500	2 500	500

5. Wpływ na środowisko

Ograniczenie, w stosownych przypadkach, wpływu na środowisko – z wyjątkiem uwalniania genetycznie zmienionych zwierząt – jest rzadko, o ile w ogóle, istotne dla projektów tego rodzaju.

6. Analiza szkód i korzyści

Przeprowadzana przez osoby oceniające analiza szkód i korzyści obejmuje określenie prawdopodobieństwa faktycznego uzyskania wskazanych korzyści. We wniosku należy wykazać, że korzyści przewyższają szkody.

- a. Dziedzina modyfikacji genetycznych u zwierząt szybko się rozwija i wymaga szczególnej wiedzy fachowej ze strony osób biorących udział w projekcie. Taka wiedza stanowi wymóg dodatkowy w stosunku do ogólnych wymogów dotyczących kompetencji i fakt jej posiadania dostarcza niezbędnych informacji umożliwiających ocenę prawdopodobieństwa powodzenia projektu. Obejmuje ona umiejętności, wiedzę i doświadczenie zapewniające skuteczne i efektywne wdrożenie projektu, w tym doświadczenie, które umożliwia wybór metod manipulacji genami/edycji genomu oraz zachowanie integralności linii po ich stabilizacji. Dotychczasowe osiągnięcia grupy badawczej oraz jakość i wiarygodność prac, które doprowadziły do projektu, są istotne. Chociaż wcześniejsze doświadczenie nie jest konieczne, prawdopodobieństwo odniesienia sukcesu przez nowego pracownika badawczego jest niższe i osoby oceniające powinny w analizie szkód i korzyści uwzględnić tę kwestię, biorąc pod uwagę wiedzę fachową dostępną w ramach projektu. Nowi badacze w tej dziedzinie nie będą pozbawieni możliwości uzyskania pozwolenia, pod warunkiem że prawdopodobieństwo powodzenia wnioskowanego projektu jest wystarczająco wysokie. We wnioskach dotyczących projektów usługowych, w tym projektów sklasyfikowanych jako wielokrotne typowe projekty, należy wykazać, że dostępne są wystarczające umiejętności i doświadczenie do podejmowania decyzji co do tego, czy prace wymagane przez inne podmioty (w odniesieniu do usług typu B w ramach ośrodka lub typu C poza ośrodkiem) mogą w sposób uzasadniony zostać wykonane w ramach proponowanego projektu (przykłady rodzajów decyzji, przed którymi może stanąć wnioskodawca, znajdują się w sekcji 1).
- b. Prawdopodobieństwo uzyskania pomyślnych rezultatów jest wyższe, jeśli w ramach projektu dostępne są odpowiednie zasoby ludzkie, obiekty i zasoby finansowe.
- c. Wykazanie, że korzyści przewyższają szkody, jest łatwiejsze w przypadku wniosków dotyczących konkretnych obszarów naukowych. Jeżeli wniosek dotyczy typowego projektu obejmującego wiele procedur, może się to okazać trudniejsze. W takim przypadku należy wykazać wartość samej usługi, a także prawdopodobne korzyści dla nauki związane ze zmodyfikowanymi genetycznie

liniami zwierząt, które zostaną uwzględnione w ramach udzielania pozwolenia na projekt.

Część B: Poglądowy przykład oceny wniosków dotyczących projektów związanych z genetycznie zmienionymi zwierzętami

Jest to proces dwuetapowy. Podczas przygotowywania oceny w sprawie wniosku, osoba oceniająca powinna sprawdzić, czy opisane powyżej informacje są w nim zawarte. Jest to weryfikacja opisana w pkt 1 poniżej. Jeżeli we wniosku uwzględniono wszystkie informacje, można przystąpić do oceny (zob. pkt 2 poniżej), natomiast w przypadku braku wystarczających informacji pełna ocena jest niemożliwa. Informacje zawarte w każdej odpowiedniej sekcji powinny zawierać odniesienia do powyższych elementów, co pozwoli zagwarantować jakość informacji umożliwiającą podjęcie decyzji w sprawie każdego kryterium oraz stwierdzenie ich zgodności z wymogami prawnymi. Przedstawione poniżej kwestie i wyniki będą się różnić w zależności od rodzajów pozwoleń opisanych w części A. W niektórych przypadkach pytania i przykłady wyników oceny mają zastosowanie do wszystkich rodzajów pozwoleń. Przedstawiono niektóre przykłady występowania różnic.

1. W ramach oceny projektu należy **zweryfikować**, czy projekt spełnia następujące kryteria:

	Kryteria, których spełnienie jest wymagane przy ocenie projektu:	Kwestie dotyczące sposobów spełnienia przez osoby oceniające projekty wymogów weryfikacji	Przykłady wyników oceny obejmujących wymagane podstawowe elementy
a)	projekt jest uzasadniony z naukowego lub edukacyjnego punktu widzenia lub jest wymagany przez prawo;	<p>W przypadku projektów naukowych osoba oceniająca projekt potrzebuje wystarczających informacji, aby podjąć decyzję, czy warto przeprowadzić dane przedsięwzięcie naukowe.</p> <p>LUB</p> <p>W przypadku projektów usługowych, w tym wielokrotnych typowych projektów, osoby oceniające potrzebują wystarczających informacji na temat:</p> <ul style="list-style-type: none"> – sposobu ustalania uzasadnienia wykorzystania zwierząt w cyklu życia projektu na podstawie linii/grupy z poszczególnych linii/grupy oraz - sposobu ustalenia korzyści naukowych (lub innych) oraz 	<p>W ramach projektu u zwierząt zostaną wywołane mutacje w ścieżkach, o których wiadomo lub w przypadku których istnieje hipoteza, że są one związane z postępowaniem demielinizacji. Wytworzone w ten sposób zwierzęta zostaną wykorzystane do dalszego opisanie tych ścieżek z nadzieją, że można będzie zidentyfikować cele terapeutyczne na potrzeby ich opracowania w przyszłości. Oczekuje się, że szereg tych celów określonych zostanie w pięcioletnim okresie realizacji omawianego projektu. Cele te zostaną podane do wiadomości innych naukowców i potencjalnych przedsiębiorstw farmaceutycznych/biotechnologicznych w drodze publikacji w czasopiśmie naukowych. Dostępne są znaczne fundusze przeznaczone na te prace, pochodzące ze sprawdzonych w kręgach naukowych źródeł. Do tej pory grupa zajmująca się projektem publikowała artykuły w wysokiej jakości czasopiśmie i w okresie ostatnich 5 lat wykazała solidne postępy w swoich</p>

		<p>- korzyści wynikające ze specjalistycznej usługi świadczonej na rzecz innych osób.</p>	<p>pracach, sugerujące wysokie prawdopodobieństwo osiągnięcia celów projektu.</p> <p>LUB</p> <p>W przypadku projektu usługowego dotyczącego usług typu A wszystkie linie, które mają być hodowane i utrzymywane, to stabilne linie związane z otyłością. W ramach projektu zobowiązano się, że zwierzęta będą dostarczane wyłącznie do zatwierdzonych ośrodków, jeżeli pozwolenia na projekt udzielono w drodze nadania numeru pozwolenia na projekt. Grupa zajmująca się projektem posiada doświadczenie w zakresie wydajnych procesów hodowli, prowadzonych z uwzględnieniem dopasowania podaży do popytu.</p> <p>LUB</p> <p>W przypadku projektów usługowych dotyczących usług typu B i C wnioskodawca jest znanym ekspertem w dziedzinie metod transgenezy i przyczynił się do opracowania wytycznych dotyczących najlepszych praktyk w tej dziedzinie. Wszystkie objęte wnioskiem rodzaje procedur były przeprowadzane w okresie ostatnich 10 lat i istnieją dowody na wprowadzenie udoskonaleń oraz środków prowadzących do ograniczenia nadwyżek. Grupa zajmująca się projektem znacznie poprawiła jakość linii i ich integralność genetyczną. Opisano systemy dobrego zarządzania, dzięki którym żadna nowa linia nie będzie taka sama, jak linie dostępne już gdzie indziej, a korzyści z tworzenia każdej linii przekroczą oczekiwane szkody związane z niezbędnymi procedurami tworzenia linii. Tworzenie każdej linii jest finansowana przez klienta, który zostanie zweryfikowany jako uznany naukowiec/użytkownik mający wysokie oczekiwania co do jakości wyników naukowych. Wzory rejestrów procesów wewnętrznych powinny generować wszystkie informacje</p>
--	--	---	--

			niezbędne do podejmowania decyzji i stwierdzono, że będą one dostępne do wglądu.
b)	cele projektu uzasadniają wykorzystanie zwierząt oraz	W tym przypadku decyzja wymaga rozważenia oczekiwanych korzyści oraz określenia możliwości zastosowania rozwiązań alternatywnych.	<p>Biorąc pod uwagę fakt, że demielinizacja powoduje szereg chorób, które prowadzą do niepełnosprawności od najmłodszych lat, a często też przedwczesnej śmierci, oraz uwzględniając możliwość określenia potencjalnych celów terapeutycznych w ramach omawianego projektu, które przyczynią się do poprawy wyników, uzasadnione jest tworzenie, hodowla, utrzymywanie i wykorzystywanie zwierząt zmienionych genetycznie do tego celu.</p> <p>Wnioskodawca wykazał w drodze odpowiednich poszukiwań, a oceniający zgadzają się z jego opinią, że nie istnieją alternatywne metody, które mogłyby zastąpić wykorzystanie zwierząt zmienionych genetycznie w ramach omawianego projektu.</p>
c)	projekt jest zaplanowany tak, aby umożliwić wykonywanie procedur w sposób możliwie najbardziej humanitarny i przyjazny dla środowiska.	Osoba oceniająca musi mieć pewność, że nie są dostępne żadne udoskonalenia, które mogłyby zostać uwzględnione (i nadal umożliwić osiągnięcie przewidywanych wyników naukowych/edukacyjnych/regulacyjnych). Wpływ projektów tego rodzaju na środowisko prawdopodobnie nie będzie istotny.	Przedstawiono wystarczające informacje na temat monitorowania zwierząt pod kątem oznak związanych z objawami demielinizacji i uwzględniono odpowiednie punkty końcowe niezbędne do przeprowadzenia oceny (zob. poniżej).

W niektórych przypadkach wczesne wersje projektu nie będą zawierać informacji wystarczających do sprawdzenia tych kwestii. W takich przypadkach należy przekazać wnioskodawcy szczegółowe uwagi dotyczące rzeczonych braków i zwrócić się do niego o uzupełnienie/zmianę wniosku. W większości przypadków przy przekazywaniu takich uwag należy wskazać wszelkie dodatkowe informacje, które są niezbędne do przeprowadzenia oceny projektu.

2. Ocena projektu obejmuje w szczególności następujące elementy:

	Elementy wymagane przy ocenie projektu:	Przykłady sposobów spełnienia przez osoby oceniające projekty wymogów oceny	Przykłady wyników oceny obejmujących wymagane podstawowe elementy
a)	ocena celów projektu, przewidywanych korzyści naukowych lub jego wartości edukacyjnej;	<p>Osoba oceniająca projekt musi ustalić na podstawie informacji zawartych we wniosku, czy warto przeprowadzić dane przedsięwzięcie naukowe. Na przykład: czy stworzenie opisanych genetycznie zmienionych zwierząt zapewni wgląd w proces lub skutki choroby? Czy jest prawdopodobne, że dostępność takiej wiedzy doprowadziłaby do postępów w leczeniu pacjentów cierpiących na tę chorobę? Czy adekwatność przyjętych modeli jest prawdopodobna? Jakie korzyści zostaną utracone, jeśli nie przeprowadzi się omawianych prac?</p> <p>LUB</p> <p>Jakie korzyści wynikają z korzystania z usług scentralizowanych w przypadku projektów usługowych, w tym wielu typowych projektów?</p> <p>Czy tworzenie i utrzymywanie byłyby bardziej skuteczne i efektywne, gdyby realizowano je w ten sposób? Czy przyniesie to korzyści dla dobrostanu zwierząt?</p> <p>Czy proces podejmowania decyzji, jakie linie wyprodukować, jest rzetelny? Czy uzasadnienie wykorzystania zwierząt zostanie określone na podstawie linii/grupy z poszczególnych linii/grupy oraz w jaki sposób zostaną ustalone korzyści naukowe (lub inne) związane z każdą linią?</p>	<p><i>W przypadku projektu naukowego:</i></p> <p>W ramach omawianego projektu stworzone zostaną zmodyfikowane genetycznie linie myszy, które będą wykorzystywane do badania ścieżek związanych z odkładaniem się mieliny lub powiązanych procesów zapalnych. Oczekuje się postępu wiedzy, który przyczyni się do opracowania potencjalnego leczenia. Chociaż w trakcie realizacji omawianego projektu nie oczekuje się opracowania metod leczenia, literatura powinna zostać za jego sprawą wzbogacona o znaczną wiedzę umożliwiającą innym badaczom skupienie się na celach, z którymi wiąże się większe prawdopodobieństwo poprawy jakości i długości życia odnośnych pacjentów w perspektywie długoterminowej.</p> <p><i>lub</i></p> <p><i>W przypadku projektu usługowego:</i></p> <p>Umiejętności zespołu zajmującego się projektem powinny zapewnić świadczenie skutecznej i efektywnej usługi tworzenia i utrzymywania wysokiej jakości zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, które będą stanowić podstawę rozwoju nauki, zarówno w dziedzinie badań podstawowych, jak i stosowanych w związku z określonymi grupami chorób. Zadeklarowano, że każda linia zostanie wyprodukowana dopiero po starannym rozważeniu konkretnych korzyści (w kontekście określonej grupy chorób), które może przynieść, cele produkcji zostaną określone zgodnie z art. 5, a następnie będą mogły zostać zgłoszone zgodnie z decyzją wykonawczą Komisji (UE) 2020/569.</p>

b)	<p>ocena zgodności projektu z wymogiem</p> <ul style="list-style-type: none"> i. zastąpienia ii. ograniczenia iii. udoskonalenia 	<p>Każdą z wymienionych kwestii należy rozważyć oddzielnie. Czy wnioskodawca odwołuje się do jakichkolwiek baz danych wymienionych w (części 2; załącznik 1) lub wykazuje w inny sposób, że znana mu jest zasada 3R w tej dziedzinie?</p> <ul style="list-style-type: none"> i. Czy poszukiwano istniejących linii? Czy odpowiednio uzasadniono konieczność stworzenia linii? Czy osoby oceniające mają wiedzę o wszelkich odpowiednich metodach alternatywnych, których wnioskodawca nie wykluczył jako nieodpowiednich? Czy w opinii osób oceniających wnioskodawca przedstawił odpowiednie i kompletne uzasadnienie konieczności wykorzystania zwierząt? ii. Czy wnioskodawca odpowiednio wykazał, w jaki sposób zapewni dopasowanie podaży do popytu? Czy strategie zarządzania koloniami omówiono w sposób sugerujący rzetelną kontrolę jakości oraz ograniczenie nadwyżki zwierząt do minimum lub ich ponownie wykorzystane w stosownych przypadkach? <p><u>W przypadku projektów naukowych:</u> Czy treść wniosku daje pewność, że do uzyskania solidnej wiedzy naukowej wykorzystana zostanie możliwie najmniejsza liczba zwierząt?</p> <p>LUB</p> <p><u>W przypadku projektów usługowych</u> – czy treść wniosku daje pewność, że do celów dopasowania podaży do popytu wykorzystana zostanie możliwie jak najmniejsza liczba zwierząt?</p>	<p>(i) <u>W przypadku projektu naukowego:</u> Grupa zajmująca się projektem wykonuje znaczną część pracy z wykorzystaniem linii komórkowych i hodowli mieszanych, ale ponieważ na każdą tkankę nerwową składają się złożone interakcje komórek różnego rodzaju, nawet wielokomórkowe strukturalnie ukierunkowane techniki <i>in vitro</i> nie pozwalają w tym przypadku replikować wszystkich badanych składników.</p> <p><u>W przypadku wszystkich typów projektów:</u> Grupa wskazała bazy danych, które zostaną przeszukane pod kątem wcześniej istniejących linii.</p> <p>(ii) <u>W przypadku wszystkich typów projektów:</u> Opisano strategię, które sugerują, że przedsięwzięte zostaną wszystkie odpowiednie środki, takie jak zarządzanie hodowlą szczepów podstawowych i kolonii, w celu ograniczenia liczby zwierząt do niezbędnego minimum przy jednoczesnym zapewnieniu integralności genetycznej i ograniczenia rearanżacji genomowej w ramach wytwarzanych linii.</p> <p><u>W przypadku projektów naukowych i projektów usługowych dotyczących usług typu B i C:</u> Omówiono kriokonserwację. Z danych dotyczących produkcji (tworzenia) jasno wynika, że zastosowane systemy są równie efektywne jak systemy innych grup lub w wielu przypadkach lepsze. Istnieją dowody pochodzące z okresu ostatnich 5 lat na aktualizację i doskonalenie praktyk w celu zwiększenia efektywności i ograniczenia</p>
----	---	--	---

	<p>iii. Kwestie określone w ust. 1 lit. c) pozwolą na stwierdzenie, czy zastosowane zostaną najbardziej humanitarne metody. W sekcji tej należy rozwinąć te kwestie, a osoby oceniające powinny być w stanie ustalić oczekiwane skutki każdej z uwzględnionych procedur. Wnioskodawca powinien wyjaśnić procedury i ich szkodliwe skutki dla zwierząt, aby można było określić ogólne szkody wyrządzone zwierzętom.</p> <p><u>W przypadku wszystkich projektów:</u> osoba oceniająca powinna ustalić, czy zastosowane zostaną wystarczające udoskonalenia w odniesieniu do hodowli zwierząt z upośredzającym fenotypem. Osoba oceniająca powinna wziąć pod uwagę prawdopodobieństwo wystąpienia nieoczekiwanych szkodliwych skutków w ramach nowych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt.</p> <p><u>W przypadku projektów usługowych dotyczących usług typu B i C oraz odpowiednich projektów naukowych:</u> czy planuje się stosowanie wystarczających udoskonalień w odniesieniu do superowulacji, wazektomii, wszczepiania zarodków biorcom – osoba oceniająca musi zrozumieć, jaka liczba zwierząt będzie cierpieć, w jakim stopniu i przez jaki czas, biorąc pod uwagę udoskonalenia i punkty końcowe, które mają być zastosowane. Przydatne informacje</p>	<p>nadwyżki zwierząt. Oczekuje się, że działania te będą kontynuowane w ciągu najbliższych 5 lat.</p> <p>(iii) <u>W przypadku projektu naukowego:</u> Jeżeli planuje się wykorzystanie zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt obciążonych zmianami demielinizacyjnymi, oczekuje się wystąpienia osłabienia, chyba że jest ono kontrolowane/zapobiega się mu przy użyciu proponowanych substancji badanych wpływających na chorobę. W przypadku zwierząt kontrolnych oraz w przypadku gdy produkt badany jest nieskuteczny opisano podział projektu na etapy dostosowane do wyników naukowych wymaganych w odniesieniu do każdego z celów, przy założeniu uśmiercania przy wystąpieniu osłabienia kończyn przednich stwierdzonego na podstawie niskiej siły chwytu, co jest oczekiwaną konsekwencją w odniesieniu do 80 % zwierząt pochodzących z tych zmodyfikowanych genetycznie linii. Pozostałe 20 % będzie utrzymywane do czasu pierwszych wyraźnych oznak osłabienia kończyn tylnych. Żaden z etapów nie będzie miał zauważalnego wpływu na możliwość karmienia, pojenia ani zapewnienia opieki. W przypadku wystąpienia osłabienia kończyn tylnych następuje ograniczenie możliwości ruchu. W przypadku zaobserwowania osłabienia kończyn przednich planuje się monitorowanie 4 razy dziennie w celu ograniczenia czasu występowania osłabienia kończyn tylnych (nie dłużej niż 18 godzin).</p> <p>Skutki podawania produktów badanych powinny być łagodne i przejściowe, związane jedynie ze metodą podawania, jak szczegółowo udokumentowano w informacjach na temat bezpieczeństwa badanych środków terapeutycznych.</p> <p>LUB</p> <p><u>W przypadku projektów naukowych i projektów usługowych:</u> Genotyp większości zwierząt hodowlanych nie powinien powodować żadnych</p>
--	--	---

		<p>można znaleźć w dokumencie roboczym w sprawie oceny i retrospektywnej oceny projektów, s. 23.</p> <p>Wiedzę tę należy uwzględnić w następnej sekcji, umożliwiającej określenie klasyfikacji dotkliwości.</p>	<p>szkód, pod warunkiem że bariera ochrony biologicznej opisana we wniosku pozostaje nienaruszona, co miało miejsce w przeszłości. Niektóre zwierzęta wykazywałyby osłabienie w przypadku utrzymywania przez okres dłuższy niż 6 miesięcy, ale zwierzęta przeznaczone do wykorzystania mają zostać przeniesione do projektu/protokołu x w wieku 6 tygodni, więc do tego czasu wyniki ich obserwacji w klatkach pozostaną normalne. Zwierzęta hodowlane w ramach tej linii zostaną zastąpione w wieku 6 miesięcy lub wcześniej.</p> <p>Sprawozdania dotyczące dobrostanu genetycznie zmienionych zwierząt należy sporządzać w odniesieniu do każdej linii o upośledzającym fenotypie, z zapewnieniem właściwego monitorowania i komunikacji.</p> <p><u>W przypadku odpowiednich projektów naukowych i projektów usługowych dotyczących usług typu B i C:</u></p> <p>Ponieważ planowane jest monitorowanie skali grymasów przy pomocy odpowiedniego zniesienia czucia bólu określonego przez wyznaczonego lekarza weterynarii, można oczekiwać należytej kontroli bólu w odniesieniu do wszystkich zwierząt, w związku z czym skutki wszczepienia i wazektomii powinny być niewielkie, a powrót do normalnych zachowań powinien nastąpić w ciągu 24 godzin.</p> <p>W przypadku superowulacji występuje chwilowy ból u każdego zwierzęcia przy każdej iniekcji, jednak skutki powinny być minimalne.</p>
c)	ocenę i przypisanie klasyfikacji dotkliwości procedur;	Wnioskodawca jest zobowiązany do przedstawienia opinii na temat przyszłej klasyfikacji dotkliwości każdej z procedur. Osoby oceniające projekt muszą sprawdzić lub określić i ponownie przypisać stopnie dotkliwości do każdej z procedur (lub serii procedur), aby były one zgodne z załącznikiem VIII, dostosowane do danego przypadku zgodnie z sekcją II tego załącznika, oraz	Osoby oceniające zgadzają się ze stanowiskiem wnioskodawcy w odniesieniu do stopni dotkliwości przypisanych do większości wymienionych procedur. Pojawiły się jednak pewne wątpliwości co do prawdopodobnych stopni dotkliwości przypisanych do niektórych linii wykazujących demielinizację, w szczególności w przypadku, gdy modyfikacja i interwencje powodują postęp choroby w kierunku ciężkiego stanu klinicznego. Osoby oceniające uważają za przekonujące

		<p>wszelkimi dodatkowymi wytycznymi UE lub państw członkowskich. W ramach sprawdzania należy potwierdzić, że przypisane stopnie dotkliwości są prawidłowe.</p>	<p>przedstawione argumenty dotyczące monitorowania, podziału na etapy i stosowania wczesnych punktów końcowych w ramach poszczególnych etapów, a po rozważeniu istotnych informacji porównawczych zawartych w załączniku VIII, wytycznych UE dotyczących przykładów dotkliwości oraz artykule autorstwa Zintscha¹⁵, są zdania, że w kontekście przypisania potencjalnej dotkliwości procedura x powinna być sklasyfikowana jako umiarkowana, a nie dotkliwa. Osoby oceniające zgadzają się, że procedury y i z powinny być sklasyfikowane jako dotkliwe. Personel (naukowy i techniczny) ma wysoki poziom doświadczenia w zakresie tych oznak i oczekuje się, że opisane powyżej wykrywanie będzie należyte.</p> <p>LUB</p> <p>W przypadku projektów usługowych dotyczących usług typu B:</p> <p>Osoby oceniające zgadzają się ze stanowiskiem wnioskodawcy w odniesieniu do stopni dotkliwości przypisanych do wymienionych procedur. W przypadku utrzymywanych linii umiarkowana dotkliwość nie zostanie przekroczona, ponieważ wszelkie oczekiwane dotkliwe skutki zostaną przeniesione na użytkownika > 6 tygodni przed przewidywanym pojawieniem się bardziej znaczących objawów. Podejmuje się działania, aby transportowi zwierząt towarzyszyły oceny ich dobrostanu, co ma umożliwić użytkownikowi końcowemu odpowiednią sprawozdawczość. W przypadku wystąpienia szkodliwych skutków przeprowadzane będzie humanitarne uśmiercanie.</p>
d)	<p>analiza stosunku szkodliwości projektu i korzyści z niego płynących, aby ocenić, czy szkody u zwierząt pod kątem</p>	<p>Analizę tę należy przeprowadzić po zakończeniu WSZYSTKICH innych aspektów oceny, ponieważ wymaga ona uwzględnienia wszystkich informacji.</p> <p>Osoby oceniające powinny zapoznać się z informacjami na s. 25–27 dokumentu roboczego w sprawie oceny i retrospektywnej oceny projektów. Osoby oceniające</p>	<p>W przypadku projektu naukowego:</p> <p>Wnioskodawca nie posiadał zezwolenia w przeszłości, ale pracował z inną grupą doświadczoną w omawianej dziedzinie oraz z omawianymi gatunkami, co zwiększa prawdopodobieństwo powodzenia. Wnioskodawca odbył wszystkie wymagane szkolenia określone w dokumencie, w którym opisano ramy kształcenia i szkolenia. Choć zespół</p>

¹⁵ Zintzsch A., Noe E, Reißmann M., Ullmann K., Krämer S., Jerchow B., Kluge R., Gösele C., Nickles H., Puppe A., Rüllicke T.; [Guidelines on severity assessment and classification of genetically altered mouse and rat lines](#); (2017 r.).

<p>cierpienia, bólu i dystresu są uzasadnione oczekiwanym wynikiem, biorąc pod uwagę względy etyczne, i czy mogą one ostatecznie przynieść korzyści ludziom, zwierzętom lub środowisku;</p>	<p>powinny dopilnować, aby korzyści związane z dziedziną nauki, której dotyczy program, były realistyczne i specyficzne dla opisanych procedur tworzenia, hodowli i wykorzystania genetycznie zmienionych zwierząt (w stosownych przypadkach).</p> <p>W stosownych przypadkach należy przeprowadzić ocenę zalet scentralizowanej usługi świadczonej z wykorzystaniem wiedzy fachowej i doświadczenia grupy badawczej w stosunku do innych zazwyczaj mniej wykwalifikowanych grup zajmujących się tworzeniem, hodowlą i utrzymaniem.</p> <p>Osoba oceniająca wniosek dotyczący projektu musi uwzględnić szkody, których mogą/z dużym prawdopodobieństwem mogą doświadczyć zwierzęta w trakcie realizacji projektu.</p> <p>Szkody, o których mowa powyżej, należy uwzględnić, biorąc pod uwagę</p> <ul style="list-style-type: none"> - prawdopodobieństwo wystąpienia szkodliwych skutków u potomstwa, szczególnie w przypadku tworzenia; - system monitorowania; protokoły oceny dobrostanu z uwzględnieniem proponowanych udoskonaleń; - poziom dotkliwości i metod minimalizacji dotkliwości; - humanitarne punkty końcowe i warunki interwencji; - częstotliwość/czas trwania procedur; <p>Aby ocenić prawdopodobną całkowitą szkodę spowodowaną przez projekt, osoby oceniające powinny</p>	<p>jest niewielki, osoby oceniające spodziewają się, że opisane we wniosku cele mogą zostać zrealizowane. Wyszukiwanie w bazie danych PubMed dotyczące wnioskodawcy potwierdziło istnienie publikacji w odnośnej dziedzinie, w tym w dwóch bardzo ważnych czasopismach.</p> <p>Opisany poziom monitorowania i wykorzystania arkuszy oceny punktowej powinien zapewniać stosowanie odpowiednich punktów końcowych w celu ograniczenia szkód do nieprzekraczalnego poziomu maksymalnego opisanego we wniosku. Wnioskodawca zobowiązał się do przeszkolenia nowego personelu w zakresie przebiegu choroby i sprawowania nad personelem bezpośredniego nadzoru aż do chwili uzyskania kwalifikacji.</p> <p>W projekcie proponuje się wykorzystanie do 5 400 myszy i 10 000 danio pręgowanych, w tym około 400 do procedur chirurgicznych, a pozostałą część do hodowli. Oczekuje się, że jedynie około 20 % zwierząt hodowlanych będzie wykazywało umiarkowane objawy, a 4 % objawy dotkliwe, przy czym na podstawie obserwacji w klatkach/akwariach duża część zwierząt będzie przejawiać normalne zachowanie.</p> <p>W opinii osób oceniających korzyści wynikające z poszerzenia wiedzy na temat wpływu manipulowania ścieżką p na proces demielinizacji dla badaczy zajmujących się tą dziedziną, która to wiedza zostanie rozpowszechniona w drodze publikacji, prezentacji i współpracy, przewyższają opisane szkody.</p> <p>W przypadku projektu usługowego dotyczącego usług typu B:</p> <p>Wnioskodawca ma dobre referencje, jeżeli chodzi o zapewnianie skutecznej i wydajnej produkcji linii zamawianych przez klientów w przeszłości. Powracający klienci stanowią potwierdzenie tej jakości, zwłaszcza że dostępne są tańsze możliwości. Wyszukiwanie w PubMed w oparciu o niewielką liczbę linii stworzonych i dostarczonych w okresie ostatnich 5 lat pokazuje, że w prestiżowych czasopismach publikowano wysokiej jakości wyniki naukowe przynoszące korzyści środowisku</p>
---	--	---

		<p>również wziąć pod uwagę całkowitą liczbę zwierząt, o które wnioskowano, oraz liczbę zwierząt, co do których przewiduje się, że będą doświadczać cierpienia w stopniu równym potencjalnej (maksymalnej) dotkliwości, oraz odsetek zwierząt, które będą doświadczać cierpienia w niższym stopniu.</p> <p>Należy ocenić prawdopodobieństwo powodzenia, biorąc pod uwagę dostępną wiedzę i umiejętności oraz to, czy jest prawdopodobne, że grupa badawcza będzie odpowiednio stosować udoskonalenia i prowadzić monitorowanie. Historia publikacji lub wcześniejszego tworzenia genetycznie zmienionych zwierząt ma znaczenie. Czy zaproponowano nowatorskie rozwiązania, które mogą okazać się mniej skuteczne niż przyjęte metody? W niektórych przypadkach, chociaż prawdopodobieństwo powodzenia jest mniejsze, potencjalny wpływ korzyści takich rozwiązań może być bardzo duży – np. w przypadku nowatorskich technik.</p>	<p>naukowemu w różnych dziedzinach. Ta grupa badawcza angażowała się w szkolenie naukowców w dziedzinie integralności genetycznej i sposobu hodowli linii, którego celem było zapewnienie solidnych podstaw naukowych.</p> <p>Jest to zespół wysokiej jakości i jego zdolność do osiągnięcia wyników oraz skutecznego i wydajnego dostarczania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt grupom dysponującym mniejszymi możliwościami tworzenia takich wysokiej jakości linii jest dobrze udokumentowana. Opisany poziom monitorowania, szkolenia i wykorzystania arkuszy oceny punktowej gwarantuje stosowanie odpowiednich punktów końcowych w celu ograniczenia szkód do nieprzekraczalnego poziomu maksymalnego, opisanego we wniosku. W projekcie proponuje się wykorzystanie do 5 400 myszy i 10 000 danio pręgowanych, w tym około 400 do procedur chirurgicznych, a pozostałą część do hodowli. Oczekuje się, że jedynie około 20 % zwierząt hodowlanych będzie wykazywało umiarkowane objawy, a 4 % objawy dotkliwe, przy czym na podstawie obserwacji w klatkach/akwariach duża część zwierząt będzie przejawiać normalne zachowanie.</p> <p>Zdolność do osiągnięcia wyników oraz skutecznego i wydajnego dostarczania zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt grupom dysponującym mniejszymi możliwościami tworzenia takich wysokiej jakości linii jest dobrze udokumentowana. Opisany poziom monitorowania, szkolenia i wykorzystania arkuszy oceny punktowej gwarantuje stosowanie odpowiednich punktów końcowych w celu ograniczenia szkód do nieprzekraczalnego poziomu maksymalnego, opisanego we wniosku. W projekcie proponuje się wykorzystanie do 5 400 myszy i 10 000 danio pręgowanych, w tym około 400 do procedur chirurgicznych, a pozostałą część do hodowli. Oczekuje się, że jedynie około 20 % zwierząt hodowlanych będzie wykazywało umiarkowane objawy, a ich duża część, na podstawie obserwacji w klatkach/akwariach, będzie przejawiać normalne zachowanie.</p>
--	--	--	---

			W opinii osób oceniających korzyści dla nauki, korzyści w zakresie ograniczania oraz dobrostanu zwierząt wynikające z wykorzystania tego wysokiej jakości zespołu do świadczenia omawianej usługi na rzecz innych naukowców przeważają nad opisanymi spodziewanymi szkodami.
e)	ocena wszelkich uzasadnień, o których mowa w:		
	art. 6 – Metody uśmiercania.	Jest mało prawdopodobne, aby istniały jakiegokolwiek szczególne uzasadnienia/zwolnienia inne niż wymagane w przypadku każdego projektu.	
	art. 7 – Gatunki zagrożone	Prawdopodobnie nieistotne w przypadku projektów dotyczących genetycznie zmienionych zwierząt.	
	art. 8 – Zwierzęta z rzędu naczelnych	Rzadka praktyka, jednak w przypadku takiego wniosku niezbędne jest staranne uzasadnienie (zob. https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/research_and_innovation/egenetics/egenetics_ethics_of_genome_editing_opinion_publication.pdf).	
	art. 9 – Zwierzęta dzikie	Nie dotyczy tych projektów	
	art. 10 – Zwierzęta wymienione w załączniku I muszą być hodowane w celu wykorzystania w procedurach, chyba że uzasadniona jest inna praktyka	W przypadku takiego wniosku niezbędne jest staranne uzasadnienie.	

	art. 11 – Zbłąkane i dziczące zwierzęta domowe	Prawdopodobnie nieistotne w przypadku projektów dotyczących genetycznie zmienionych zwierząt.	
	art. 12 – Procedury powinny być wykonywane w ośrodku	Nie ma powodu, aby tego rodzaju projekt był prowadzony poza ośrodkiem. Istnieją inne przepisy wymagające ograniczenia wykorzystania genetycznie zmienionych zwierząt.	
	art. 14 – Stosowanie znieczulenia i zniesienia czucia bólu	Mogą one być omówione w sekcji dotyczącej udoskonalenia lub w ramach szkodliwych skutków protokołów badawczych. Osoby oceniające projekty powinny ustalić, czy określono jednoznacznie, że w przypadku procedur chirurgicznych związanych z tworzeniem będzie stosowane znieczulenie i zniesienie czucia bólu (u biorców zarodków, przy wazektomii). Ponadto również w przypadku genotypowania, chyba że wykorzystana metoda jest natychmiastowa, a zastosowanie znieczulenia / zniesienia czucia bólu byłoby bardziej dotkliwe.	<p>We wniosku zawarto jasne opisy rodzajów znieczulenia / zniesienia czucia bólu wraz z systemami monitorowania, w tym skale grymasów. Zadeklarowano konsultacje z wyznaczonym lekarzem weterynarii w indywidualnych przypadkach. Lekarz weterynarii wykazał się solidną i aktualną wiedzą w zakresie nowoczesnych praktyk w tej dziedzinie. Daje to pewność, że systemy znieczulenia / zniesienia czucia bólu u zwierząt będą optymalne.</p> <p>Rozważono znieczulenie w odniesieniu znakowania uszu i stwierdzono, że znieczulenie jest w tym przypadku bardziej dotkliwe niż sama procedura, jeżeli doświadczony personel zakładu pojedynczy kolczyk na uchu przy użyciu dziurkarki – osoby oceniające zgadzają się z tą opinią.</p>
	art. 16 – Ponowne wykorzystanie	Wszelkie zwierzęta hodowane do celów wykorzystania zostaną przeniesione do protokołu wykorzystania (wykorzystanie ciągłe zamiast ponownego wykorzystania). Ponowne wykorzystanie może wystąpić na przykład w przypadku zwierząt genotypowanych metodą inwazyjną, jeżeli okaże się, że są to zwierzęta typu dzikiego, które nie są potrzebne do wykorzystania w charakterze zwierząt kontrolnych. Gdyby zwierzęta te mogły być wykorzystywane do innego celu, stanowiłoby to ograniczenie. Jeżeli wnioskuje się o wykorzystanie tego rodzaju, konieczne jest jednoznaczne wykazanie, że spełnione zostaną warunki określone w art. 16	W rzadkich przypadkach planuje się ponowne wykorzystanie niektórych zwierząt typu dzikiego. Chociaż grupa badawcza przeprowadza genotypowanie w drodze przycinania uszu, to stosuje ona chipy identyfikacyjne, aby ułatwić sprawozdawczość na podstawie bieżącego monitorowania, w związku z czym metodę pobierania próbek tkanek do celów genotypowania uznaje się za wykorzystanie. Zwierzęta typu dzikiego, którym przypisano rzeczywistą dotkliwość w stopniu łagodnym i które mają zostać ponownie wykorzystane, zostaną zbadane przez wyznaczonego lekarza weterynarii, który stwierdzi, czy ogólny stan zdrowia zwierząt został w pełni przywrócony. Wnioskuje się o ponowne wykorzystanie jedynie w przypadku zwierząt, które spełniają te dwa kryteria, i tylko w procedurach o co najwyżej umiarkowanym stopniu

		(ograniczenie stopnia dotkliwości i badanie przez lekarza weterynarii).	dotkliwości. Jest to zgodne z wymogami prawnymi i w związku z tym wydanie pozwolenia jest możliwe.
art. 33 Konieczność spełnienia wymogów dotyczących i trzymania	– opieki	<p>Oprócz zgodności z załącznikiem III do dyrektywy w odniesieniu do wszystkich zwierząt należy opisać wszelkie proponowane pojedyncze rozwiązania służące do trzymania myszy poddanych wazektomii, wraz z przedstawieniem uzasadnienia.</p> <p>Należy zaznaczyć, że wszystkie zwierzęta, które mają lub mogą mieć obniżoną odporność, będą utrzymywane w klatkach z wentylacją indywidualną (najbardziej udoskonalona metoda), jeżeli jest to właściwe.</p> <p>Należy uwzględnić wszelkie szczególne wymogi dotyczące hodowli lub opieki odnoszące się do poszczególnych zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt, w odniesieniu do których ma być wydane pozwolenie.</p>	<p>Stwierdza się, że wszystkie zwierzęta będą utrzymywane zgodnie z normami określonymi w załączniku III, z następującymi wyjątkami: pojedyncze pomieszczenia dla dojrzałych dorosłych samców poddanych wazektomii uzasadniono tym, że separacja podczas krycia nie może prowadzić do kojarzenia grup rodzeństwa w okresach, w którym nie należą one do par lęgowych. Osoby oceniające podzielają pogląd, że utrzymywanie w odosobnieniu może być konieczne w przypadku niektórych osobników i że grupa badawcza podejmuje wszelkie możliwe działania w celu pozostania przy utrzymywaniu w grupie, jeżeli jest to możliwe.</p> <p>Oczekuje się, że niektóre zwierzęta będą utrzymywane w odosobnieniu po przydzieleniu do badań. W ramach kryteriów projektu doświadczalnego próbuje się prowadzić kojarzenie ze zwierzętami typu dzikiego, ale metoda ta nie jest jeszcze dopracowana, w związku z czym oczekuje się, że w tym kontekście osobne pomieszczenia będą niekiedy uzasadnione. Okres utrzymywania w odosobnieniu nie będzie trwał dłużej niż 3 tygodnie, ponieważ do tego czasu naukowe punkty końcowe zostaną osiągnięte.</p> <p>Wiadomo, że młode homozygotyczne z linii x są szczególnie małe, w związku z czym odsadzenie od matki nie nastąpi przed 28. dniem.</p>
f)	określenie, czy i kiedy projekt powinien być oceniany retrospektywnie	Zazwyczaj nie będzie to konieczne w przypadku tego rodzaju projektów. Jeżeli niezbędny jest protokół hodowlany o znacznym stopniu dotkliwości, ocena retrospektywna będzie wymagana.	<p>W przypadku projektu naukowego: Ocena retrospektywna jest wymagana ze względu na dotkliwą procedurę y.</p> <p>W przypadku projektu usługowego: Ocena retrospektywna nie jest wymagana. [Pod warunkiem że – co ma zwykle miejsce – nie przewidziano dotkliwych procedur.]</p>

Dodatek III: Bibliografia

Odesłania do pozycji literatury, które mogą okazać się pomocne przy rozważaniu aspektów niniejszego dokumentu.

- Benavides F, Rüllicke T, Prins JB, Bussell J, Scavizzi F, Cinelli P, Herault Y, Wedekind D; [Genetic quality assurance and genetic monitoring of laboratory mice and rats: FELASA Working Group Report](#); *Lab Anim* 54(2) 135–148 (2020 r.).
- Bonaparte D., Cinelli P., Douni E., Héroult Y., Maas M., Pakarinen P., Poutanen M., Santos Lafuente M., Scavizzi F., grupa robocza Federacji Europejskich Stowarzyszeń Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych; [Wytuczne FELASA dotyczące udoskonalenia metod genotypowania gryzoni zmodyfikowanych genetycznie: sprawozdanie grupy roboczej Federacji Europejskich Stowarzyszeń Nauk o Zwierzętach Laboratoryjnych](#) *Lab Anim* Jul 47(3):134-45 (2013 r.).
- Bussell J., Wells S.E.; [Talking welfare: the importance of a common language](#); *Mamm Genome* 26: 482–485 (2015 r.).
- Cui Y., Xu J., Cheng M., Liao X. i Peng S.; [Review of CRISPR/Cas9 sgRNA Design Tools](#); *Interdisciplinary Sciences*, wyd. 10, s. 455–465 (2018).
- Eggel M. i Walker R.; [Replacement or Reduction of Gene-Edited Animals in Biomedical Research: A Comparative Ethics and Policy Analysis](#); *North Carolina Law Review*, t. 97, wyd. 1241 (2019).
- Komisja Europejska; [Sprawozdanie z 2019 r. dotyczące informacji statystycznych na temat wykorzystania zwierząt do celów naukowych w państwach członkowskich Unii Europejskiej w latach 2015–2017](#); (2020 r.).
- Komisja Europejska; [Dokument roboczy służb Komisji SWD\(2017\) 353 final/2](#); (2017 r.).
- Komisja Europejska; [Sprawozdanie dotyczące wdrażania dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych w państwach członkowskich Unii Europejskiej](#); (2020 r.).
- Komisja Europejska; [Przykłady mające na celu objaśnienie procesu klasyfikacji dotkliwości, bieżącej oceny i rzeczywistej oceny dotkliwości](#); (2013).
- Komisja Europejska; [Working document on genetically altered animals \[Dokument roboczy dotyczący genetycznie zmienionych zwierząt\]](#); (2013 r.).
- Komisja Europejska; [decyzja wykonawcza Komisji 2012/707/UE zmieniona przez 2014/11/UE](#); (2012 r.).
- Federalny Instytut Oceny Ryzyka; [Severity Assessment of genetically altered mice and rats - Version 2: Recommendation no. 002/2016 by the National Committee \(TierSchG\)](#); (2016 r.).
- Federalny Instytut Oceny Ryzyka; [Severity assessment of genetically altered fish \(bony fish, teleost fish\): Recommendation No. 001/2015 by the National Committee \(TierSchG\)](#); (2015 r.).
- Fentener van Vlissingen J. M., Borrens M., Girod A., Lelovas P., Morrison F. i Torres Y. S.; [The reporting of clinical signs in laboratory animals, FELASA Working Group Report](#); *Lab Anim* 49: 267-283 (2015 r.).
- Grune B., Hensel A., Schönfelder G.; [Rules for assessing pain in lab animals](#); *Nature*, t. 512, s. 28 (2014).

- Hawkins P., Morton D. B., Burman O., Dennison N., Honess P., Jennings M., Lane S., Middleton V., Roughan J. V., Wells S., Westwood K., wspólna grupa robocza BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Zjednoczonego Królestwa ds. udoskonalenia; [*A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: eleventh report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement*](#); Lab Anim 45(1): 1-13 (2011 r.).
- Międzynarodowy Komitet ds. Standaryzowanej Nomenklatury Genetycznej Myszy oraz Komitet ds. Genomu i Nomenklatury Szczura; [*Guidelines for nomenclature of mouse and rat strains*](#); (2018 r.).
- Międzynarodowe Towarzystwo Technologii Transgenicznych (ISTT); [*Advanced Protokoły for Animal Transgen*](#); Springer-Verlag (2011).
- Międzynarodowe Towarzystwo Technologii Transgenicznych (ISTT); [*Statement of Principles - Achieving the 3Rs through responsible work with animals*](#); (2018).
- Naranjo A, Pintado B y el grupo de trabajo SECAL; [*Guía práctica para la implementación de la Directiva 2010/63 aplicada a los animales genéticamente alterados*](#); Animales de Laboratorio (2017).
- Właściwe organy krajowe odpowiedzialne za wdrażanie dyrektywy 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych; [*Dokument roboczy dotyczący ram oceny dotkliwości*](#); (2012).
- Niderlandzki krajowy komitet ds. ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych (NCad); [*Genetically modified animals killed in stock*](#); (2015).
- Departament RSPCA ds. Zwierząt Wykorzystywanych w Badaniach Naukowych; [*Implementing the 3Rs*](#); (2014).
- Rose M., Everitt J., Hedrich H., Schofield J., Dennis M., Scott E., Griffin G., Grupa Robocza ICLAS ds. Harmonizacji; [*ICLAS Working Group on Harmonization: international guidance concerning the production care and use of genetically-altered animals*](#); Lab Anim Jul 47(3):146-52 (2013 r.).
- Tröder S., Ebert L., Butt L., Assenmacher S., Schermer B., Zevnik B.; [*An optimized electroporation approach for efficient CRISPR/Cas9 genome editing in murine zygotes*](#); Plos One (2018).
- Ministerstwo Spraw Wewnętrznych Zjednoczonego Królestwa; [*Efficient Breeding of Genetically Altered Animals Assessment Framework*](#); (2018).
- Wells D. J., Playle L. C., Enser W. E. J., Flecknell P. A., Gardiner M. A., Holland J., Howard B. R., Hubrecht R., Humphreys K. R., Jackson I. J., Lane N., Maconochie M., Mason G., Morton R., Raymond V., Robinson V., Smith J. A., Watt N.; [*Assessing the welfare of genetically altered mice*](#); Lab. Anim. 40: 111-114 (2006 r.).
- Zintzsch A., Noe E, Reißmann M., Ullmann K., Krämer S., Jerchow B., Kluge R., Gösele C., Nickles H., Puppe A., Rüllicke T.; [*Guidelines on severity assessment and classification of genetically altered mouse and rat lines*](#); Lab. Anim. 51: 573-582 (2017 r.).
- Zintzsch A.; Noe E.; Grimm H.; [*Navigating Uncertainties: How to Assess Welfare and Harm in Genetically Altered Animals Responsibly-A Practical Guideline*](#); Animals, 2020, t. 10, wyd. 5, s. 857.

Dodatek IV: Glosariusz terminów

Termin	Znaczenie
Wiek zapadalności	Wiek, w którym u danej jednostki po raz pierwszy pojawiają się objawy choroby lub zaburzenia.
Allel	Jedna z kilku alternatywnych form genu występująca w określonym locus na chromosomie.
CDDZ	Ciało doradcze ds. dobrostanu zwierząt
Szczep podstawowy	Szczep myszy typu dzikiego wykorzystywany do tworzenia gamet/zarodków na potrzeby modyfikacji genetycznych i krzyżowania wstecznego.
WO	Właściwy organ
Drobnoustrój komensualny	Organizm, który żyje na lub w innym organizmie i czerpie z tego korzyści, nie szkodząc ani nie przynosząc korzyści temu drugiemu.
Linia warunkowa	Zmodyfikowana genetycznie linia zwierząt zawierająca mutacje, które można wprowadzić lub aktywować w sposób ograniczony przestrzennie (np. stosując technologię Cre-lox, zob. poniżej).
Konwencjonalny	Zależy od kontekstu. W przypadku pomieszczeń dla zwierząt będą to klatki niezamykane od góry, charakteryzujące się niższym poziomem kontroli higieny pod względem występowania chorób i badania stanu zdrowia, z wyłączeniem np. klatek z wentylacją indywidualną, rederywacji.
Tworzenie nowych genetycznie zmienionych zwierząt	Rozwój nowej zmodyfikowanej genetycznie linii zwierząt poprzez celową lub zamierzoną modyfikację genetyczną (np. wstawianie, usunięcie lub edycja genu, mutageneza chemiczna lub inne manipulacje gametą lub zarodkiem lub krzyżowanie dwóch wcześniej istniejących linii).
Cre-lox	Technika biologii molekularnej stosowana do przeprowadzania delekcji, insercji, translokacji i inwersji w określonych miejscach w genomie. Umożliwia edycję specyficzną dla danej tkanki lub czasu, czego nie umożliwia CRISPR-Cas9. Wymaga skrzyżowania dwóch zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt w celu aktywacji zmiany genetycznej.

CRISPR-Cas9	Technika biologii molekularnej umożliwiająca edycję genomu specyficzną dla danego miejsca u praktycznie każdego organizmu.
Krioprezervacja	Strategia konserwacji próbek zwierzęcego materiału genetycznego (zwykle nasienia, oocytów lub zarodków) w bardzo niskich temperaturach.
Dpz	Dni po zapłodnieniu
DNA	Kwas deoksyrybonukleinowy – substancja, z której zbudowane są geny.
Biopsja paliczka dalszego	Usunięcie jednego paliczka dalszego palca u nogi, stosowane w ograniczonych, uzasadnionych okolicznościach do genotypowania i identyfikacji niedojrzałych zwierząt.
Dystocja	„Trudny lub utrudniony poród”: sytuacja, w której płód nie wychodzi z miednicy podczas porodu z powodu czynników fizycznych pomimo skurczów macicy.
Biopsja ucha	Pobranie tkanki ucha.
Nacięcie/przebicie ucha	Technika identyfikacji/genotypowania gryzoni wykorzystująca specjalny dziurkacz do wykonania małego (0,5–2 mm) nacięcia w pobliżu krawędzi ucha albo otworu w środku ucha. Pozycja znaku określa numer identyfikacyjny według wcześniej ustalonego schematu (np. schemat opisany przez Hogana i in. w „Manipulating the Mouse Embryo – A Laboratory Manual, CSH laboratory Press 1994” pozwala na identyfikację do 99 różnych zwierząt).
Komórki ES	Zarodkowe komórki macierzyste (komórki ES lub ESC) to pluripotencjalne komórki macierzyste pochodzące z wewnętrznej masy komórkowej blastocysty, wczesnego stadium embrionu przed implantacją.
GRE	Grupa robocza ekspertów
Stabilna linia	Nowy szczep lub linię zwierząt zmienionych genetycznie uznaje się za „stabilne”, gdy przekazywanie zmiany genetycznej jest stabilne (proces ten trwa co najmniej dwa pokolenia) i gdy dokonano wstępnej oceny dobrostanu

	zwierząt oraz określono, czy jest to linia upośledzająca czy nieupośledzająca.
GENETYCZNIE ZMIENIONE ZWIERZĘ	Zwierzęta zmienione genetycznie – w tym genetycznie zmodyfikowane (takie jak zwierzęta transgeniczne, zwierzęta typu <i>knock-out</i> i poddane innym formom modyfikacji genetycznej) i zwierzęta, u których mutacja wystąpiła naturalnie lub była indukowana.
Gamety	Gamety to dojrzałe komórki rozrodcze organizmu (plemniki, komórki jajowe).
Charakterystyka genetyczna	Wykrywanie i opisywanie obecności pewnych cech genetycznych (np. alleli) w organizmie.
Integralność genetyczna	Jakość przypisywana populacji modelu zwierzęcego, gdy jego genotyp jest wierny linii oryginalnej. Zachowanie integralności genetycznej zwierzęcego modelu badawczego ma zasadnicze znaczenie dla poprawy powtarzalności eksperymentów badawczych. Integralność może być zagrożona z powodu skażenia genetycznego, rearanżacji genomowej, niezamierzonej selekcji i błędnego etykietowania. Integralność można zapewnić dzięki monitorowaniu genetycznemu (metody obejmują markery biochemiczne, analizę fenotypową, a ostatnio także analizę mikrosatelitarnego DNA i polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP)) oraz właściwemu zarządzaniu koloniami.
Panel integralności genetycznej	Zestaw określonych i niepowtarzalnych punktów w całym genomie wymaganego szczepu podstawowego, które mają być kontrolowane poprzez monitorowanie genetyczne w celu oceny integralności genetycznej. Bazy i sekwencje będą równomiernie rozmieszczone w chromosomach autosomalnych.
Genotypowanie	Proces określania różnic w genotypie danego osobnika polegający na badaniu sekwencji DNA przy użyciu testów biologicznych i porównywanie jej z sekwencją wzorcową. Genotypowanie nie jest metodą identyfikacji.
GFP	Białko zielonej fluorescencji (ang. green fluorescent protein): często wykorzystywane jako reporter ekspresji (np. w określonym typie

	komórek, ponieważ GFP można uwidocznic za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego).
Linia upośledzająca	Linia zwierząt charakteryzująca się upośledzającym fenotypem.
Upośledzający fenotyp	Zwierzę lub linia, które w wyniku zmiany genetycznej prawdopodobnie doświadczy bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym, zgodnie z dobrą praktyką weterynaryjną.
Heterozygota	Osobnik posiadający różne allele w określonym locus.
Homozygota	Osobnik posiadający ten sam allel w odpowiadającym sobie locus na chromosomach homologicznych.
Wodogłowie	Stan, w którym dochodzi do nagromadzenia pływu mózgowo-rdzeniowego w obrębie mózgu . Zazwyczaj powoduje ono wzrost ciśnienia śródczaszkowego .
Linia o obniżonej odporności	Linia zmieniona genetycznie w taki sposób, że nie jest w stanie rozwinąć normalnej odpowiedzi immunologicznej na obecność obcych antygenów.
Linia indukowalna	Linia zmieniona genetycznie w taki sposób, aby zawierała cichą informację genetyczną, którą naukowiec może indukować (tj. aktywować) w ograniczony czasowo sposób. Gen będący przedmiotem zainteresowania ulega ekspresji dopiero po aktywacji przez podanie zwierzęciu specyficznego czynnika indukującego (np. tetracykliny). Do czasu ekspresji genu w taki sposób nie wystąpią żadne szkodliwe skutki manipulacji genami.
IP	Zależy od kontekstu. „Własność intelektualna” lub „dootrzewnowo”.
Izogeniczny	Dwie linie są izogeniczne, jeśli mają dokładnie taki sam genotyp. Dotyczy to również przypadków o takim samym genotypie, które różnią się jednym genem (tym, który jest badany).
IVC	Klatki z wentylacją indywidualną.
IVF	Zapłodnienie <i>in vitro</i> .
Linia dziedziczenia	Starsza linia zwierząt, którą wyprodukowano w sposób niegwarantujący monoklonalności.

Badania obejmujące całe życie	Obserwacje naukowe i dotyczące dobrostanu prowadzone na zwierzętach zmienionych genetycznie oraz kontrolnych typu dzikiego przez cały okres życia przewidywany dla kontrolnych zwierząt typu dzikiego.
Linia	Następujące po sobie pokolenia osobników, które przekazują i dziedziczą serię czynników genetycznych determinujących cechy indywidualne.
Lepr	Myszy homozygotyczne pod względem spontanicznej mutacji prowadzącej do cukrzycy (Leprdb) wykazują chorobliwą otyłość, przewlekłą hiperglikemię, zanik komórek beta trzustki i hipoinsulinemię.
PCz	Państwo członkowskie
Proporcje Mendla	Stosunek występowania różnych fenotypów w dowolnej krzyżówce obejmującej cechy kontrolowane przez jeden marker genetyczny w pojedynczym locus (cecha Mendla). Przykład: gdy dwoje rodziców (pokolenie P) różniących się jedną cechą genetyczną, pod względem której oboje są homozygotami (posiadają ten sam allel na obu chromosomach), rozmnoży się ze sobą, to całe potomstwo w pierwszym pokoleniu (F1) będzie takie samo pod względem badanej cechy w kontekście genotypu (wszyscy będą heterozygotami) i fenotypu, który będzie wykazywał cechę dominującą. Po skrzyżowaniu ze sobą osobników pokolenia F1 ich potomstwo w pokoleniu F2 będzie miało różne genotypy i fenotypy. W dziedziczeniu dominująco-recesywnym średnio 25 % osobników jest homozygotami pod względem cechy dominującej, 50 % jest heterozygotami wykazującymi w fenotypie cechę dominującą (nosiciele genetyczni), a 25 % jest homozygotami pod względem cechy recesywnej i w związku z tym wykazuje cechę recesywną w fenotypie. Proporcje genotypów wynoszą 1: 2: 1, proporcje fenotypów wynoszą 3: 1.
Małocze	Zaburzenie rozwojowe, w którym jedno oko lub oboje oczu są nienormalnie małe.

Mozaikowatość	Obecność co najmniej dwóch linii komórkowych o różnych genotypach u tego samego osobnika. Mozaikowatość może powstać u jednego osobnika w wyniku mutacji postzygotycznej. Mozaikowatość może też powstać w wyniku wprowadzenia komórek ES do blastocysty, co prowadzi do rozwoju osobnika złożonego z komórek różnych linii.
Typowy projekt obejmujący wiele procedur	Zgodnie z dokumentem roboczym Komisji dotyczącym konkretnych artykułów dyrektywy 2010/63/UE, art. 40: „niektóre klasy projektów obejmują serię standardowych procedur stosowanych w określonym celu. Niekiedy określa się je mianem »wielokrotnych typowych projektów«. Procedury są na ogół dobrze ugruntowane, a ich prawdopodobne konsekwencje dla zwierząt są dobrze znane i można je odpowiednio zminimalizować. Jest mało prawdopodobne, aby podczas oceny projektu pojawiły się jakieś nowe lub kontrowersyjne kwestie. Podobnie jak w przypadku uproszczonej procedury administracyjnej zgodnie z art. 42 procedury rozpatrywane w ramach typowych projektów obejmujących wiele procedur są wymagane do spełnienia wymogów regulacyjnych LUB potrzebne do celów produkcyjnych LUB diagnostycznych przy użyciu ustalonych metod”.
Zwierzęta naiwne	Zwierzęta wykorzystywane w warunkach doświadczalnych po raz pierwszy.
KPK	Krajowy punkt kontaktowy
NSET	Niechirurgiczny transfer zarodków. Technika polegająca na wprowadzeniu miękkiej, elastycznej rurki przez szyjkę macicy u myszy w celu wszczepienia zarodków (blastocyst) do macicy.
NTS	Nietechniczne streszczenie projektu: aby zapewnić dotarcie informacji do ogółu społeczeństwa, obiektywne informacje dotyczące projektów z wykorzystaniem żywych zwierząt muszą być podawane do wiadomości publicznej w języku niefachowym. (Art. 43 dyrektywy 2010/63/UE)

Mysz z genetycznie wywołaną otyłością lub mysz otyła	Zmutowana mysz, która je nadmiernie z powodu mutacji genu odpowiedzialnego za produkcję leptyny i staje się chorobliwie otyła. Jest to zwierzęcy model cukrzycy typu II.
Skutki niedocelowe, OTE	Skutki niedocelowe: niespecyficzne i niezamierzone modyfikacje genetyczne, w tym aktywność genu w tkance innej niż docelowa lub zakłócenie działania zupełnie innego genu przez przypadkowe wprowadzenie do niego materiału genetycznego powodujące jego zakłócenie.
Fenotyp	Możliwe do zaobserwowania cechy fizyczne organizmu – obejmują one wygląd, rozwój i zachowanie.
Penetracja fenotypu	Odsetek osobników wykazujących określoną cechę (fenotyp) związaną z danym allelem.
Procedura	W art. 3 dyrektywy 2010/63/UE zdefiniowano <i>procedurę</i> jako „jakiegokolwiek inwazyjne lub nieinwazyjne wykorzystanie zwierzęcia do celów doświadczalnych lub innych naukowych [...], które może spowodować u zwierzęcia ból, cierpienie, dystres lub trwałe uszkodzenie w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym, zgodnie z dobrą praktyką weterynaryjną”. W dyrektywie stworzenie i utrzymanie genetycznie zmienionego zwierzęcia uznaje się za „ <i>procedurę</i> ” naukową, jeśli urodzenie się lub wylęg mogą spowodować u zwierzęcia ból, cierpienie, dystres lub trwałe uszkodzenie w stopniu równym ukłuciu igłą lub intensywniejszym, zgodnie z dobrą praktyką weterynaryjną.
Klasyfikacja dotkliwości procedury	Zgodnie ze sprawozdaniem końcowym (2009) grupy roboczej ekspertów ds. klasyfikacji dotkliwości procedur naukowych wykonywanych na zwierzętach: „Każdej procedurze należy przypisać kategorię dotkliwości. Pomoże to w przeprowadzeniu analizy szkód i korzyści projektu. Dotkliwość danej procedury określa się przez określenie intensywności bólu, cierpienia, dystresu lub trwałego uszkodzenia, na które dane zwierzę może być narażone podczas jej

	<p>wykonywania. Procedura obejmuje połączenie jednej lub kilku czynności technicznych wykonywanych na zwierzęciu, które mogą powodować u niego ból, cierpienie, dystres lub trwałe uszkodzenie. Przy przypisywaniu kategorii dotkliwości bierze się pod uwagę wszelkie interwencje lub manipulacje dokonywane na zwierzęciu w ramach określonej procedury. Kategorię dotkliwości przypisuje się w oparciu o najbardziej dotkliwe skutki, jakich może doświadczyć pojedyncze zwierzę po zastosowaniu wszystkich odpowiednich technik udoskonalania”.</p>
Rederywacja	<p>Usuwanie organizmów patogennych, takich jak wirusy, bakterie i pasożyty z linii zwierząt badawczych, zwykle obejmujące superowulację zakażonych zwierząt i reimplantację zarodków matkom zastępczym o wysokim statusie zdrowotnym.</p>
Gen reporterowy	<p>Geny reporterowe to geny, które umożliwiają wykrywanie lub pomiar ekspresji genów. Można je łączyć z sekwencjami regulacyjnymi lub interesującymi nas genami w celu raportowania miejsca lub poziomu ekspresji. Geny reporterowe obejmują geny kodujące białka fluorescencyjne i enzymy przekształcające niewidzialne substraty w produkty luminescencyjne lub barwne.</p>
Linia z genami reporterowymi	<p>Linia zwierząt, która jest nosicielem genu reporterowego, umożliwiającego śledzenie ekspresji genu <i>in vivo</i>.</p>
Ocena retrospektywna	<p>Ocena przeprowadzana przez instytucję zamawiającą po zakończeniu projektu, podczas której ocenia się:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) czy cele projektu zostały zrealizowane; b) szkody wyrządzone zwierzętom, łącznie z liczbami i gatunkami wykorzystanych zwierząt oraz dotkliwością procedur; oraz c) elementy, które mogą przyczynić się do dalszego wdrażania wymogu zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia. <p>Zob. art. 39 dyrektywy 2010/63/UE.</p>
Projekt usługowy	<p>Projekt dotyczący świadczenia usług dla innych użytkowników naukowych w zakresie tworzenia i charakteryzowania zmodyfikowanych</p>

	genetycznie linii zwierząt do momentu uzyskania przez nie stabilności lub w zakresie hodowania i utrzymywania stabilnych upośledzających zmodyfikowanych genetycznie linii zwierząt w celu zaopatrywania grup badawczych.
Szczep	Synonim „linii”.
Superowulacja	Proces polegający na indukowaniu uwolnienia przez samicę większej liczby komórek jajowych niż zwykle.
Linia wytłumiona	Linia, w której wyłączono aktywność jednego genu (w odróżnieniu od „linii indukowanej”).
Biopsja ogona/obcięcie końcówki ogona	Starsza procedura genotypowania zwierząt transgenicznych, polegająca na obcięciu dystalnej części ogona zwierzęcia.
TALEN	Nukleazy efektorowe przypominające aktywator transkrypcji (TALEN) to enzymy restrykcyjne, które można zaprojektować tak, aby przecinały określone sekwencje DNA.
Zasada 3R	Zastąpienie, ograniczenie i udoskonalenie (ang. <i>Replacement, Reduction, Refinement</i>).
Wykorzystanie, ponowne wykorzystanie i wykorzystanie ciągłe	<p>– „Wykorzystanie” zwierzęcia w ramach projektu trwa od momentu zastosowania wobec niego procedury (lub pierwszej procedury/techniki w serii) do momentu zakończenia obserwacji lub zbierania danych (lub innych produktów) w określonym celu naukowym (zazwyczaj pojedynczego doświadczenia lub badania).</p> <p>– „Ponowne wykorzystanie” jest terminem wskazującym na późniejsze wykorzystanie zwierzęcia, które przeszło już procedurę (lub serię procedur/technik) w określonym celu naukowym. W art. 16 dotyczącym ponownego wykorzystania termin ten zdefiniowano jako wykorzystanie zwierzęcia, które zostało już wykorzystane, jeżeli może zostać wykorzystane również inne zwierzę niepoddane dotychczas żadnej innej procedurze. W art. 16 określono również okoliczności, w których można ponownie wykorzystać zwierzę.</p> <p>– „Wykorzystanie ciągłe” to termin nieuwzględniony w dyrektywie, choć może być on stosowany do opisu sytuacji, w której pojedyncze „wykorzystanie” zwierzęcia</p>

	<p>obejmuje więcej niż jeden projekt lub różne procedury w ramach tego samego projektu. Dodatkowe wyjaśnienia zawarto w części B pkt 2.2.3 załącznika III do decyzji 2020/569/UE. Taki układ może uprościć wnioski projektowe i umożliwić uniknięcie zbędnych powtórzeń. Wykorzystanie ciągłe stosuje się często w przypadku genetycznie zmienionych zwierząt, począwszy od procedury „hodowla” do procedury „wykorzystanie”.</p>
Wazektomia	<p>Zabieg chirurgiczny mający na celu sterylizację zwierzęcia, podczas którego przecina się powrózek nasienny, aby uniemożliwić przenikanie plemników, pozostawiając jądra.</p>
Ocena dobrostanu	<p>Kompleksowa ocena dobrostanu zwierząt umożliwia identyfikację problemów związanych z dobrostanem. Pozwala ona określić potrzebę specjalistycznej hodowli/opieki i może pomóc w odróżnieniu linii upośledzających od nieupośledzających. Bardziej szczegółową definicję można znaleźć w części 2 sekcja 5 niniejszych wytycznych. Szczegółowe informacje o tym, jak przeprowadzić ocenę dobrostanu, można znaleźć w części 3 niniejszych wytycznych.</p>
Typ dziki (w dokumentach naukowych może być oznaczany skrótem WT)	<p>Zwierzę, które nie zostało poddane żadnym zmianom genetycznym.</p>
ZFN	<p>Nukleazy z motywem palca cynkowego (ZFN) to syntetyczne białka wykorzystywane do celowania w gen.</p>

JAK SKONTAKTOWAĆ SIĘ Z UE

Osobiście

W całej Unii Europejskiej istnieje kilkaset centrów informacyjnych Europe Direct. Adres najbliższego centrum można znaleźć na stronie: https://europa.eu/european-union/contact_pl.

Telefonicznie lub drogą mailową

Europe Direct to serwis informacyjny, który udziela odpowiedzi na pytania na temat Unii Europejskiej. Można się z nim skontaktować:

- dzwoniąc pod bezpłatny numer telefonu: 00 800 6 7 8 9 10 11 (niektórzy operatorzy mogą naliczać opłaty za te połączenia),
- dzwoniąc pod standardowy numer telefonu: +32 22999696,
- drogą mailową: https://europa.eu/european-union/contact_pl.

WYSZUKIWANIE INFORMACJI O UE

Online

Informacje o Unii Europejskiej są dostępne we wszystkich językach urzędowych UE w portalu Europa: https://europa.eu/european-union/index_pl.

Publikacje UE

Bezpłatne i odpłatne publikacje UE można pobrać lub zamówić na stronie: <https://op.europa.eu/pl/publications>. Większą liczbę egzemplarzy bezpłatnych publikacji można otrzymać, kontaktując się z serwisem Europe Direct lub z lokalnym centrum informacyjnym (zob. https://europa.eu/european-union/contact_pl).

Prawo UE i powiązane dokumenty

Informacje prawne dotyczące UE, w tym wszystkie unijne akty prawne od 1952 r., są dostępne we wszystkich językach urzędowych UE w portalu EUR-Lex: <http://eur-lex.europa.eu>.

Portal Otwartych Danych UE

Unijny portal otwartych danych (<http://data.europa.eu/euodp/pl>) umożliwia dostęp do zbiorów danych pochodzących z instytucji i innych organów UE. Dane można pobierać i wykorzystywać bezpłatnie, zarówno do celów komercyjnych, jak i niekomercyjnych.



Urząd Publikacji
Unii Europejskiej