

Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|----------------------------------------|
| 3.4.4.1 | Borging van vaardigheden van personeel |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Om te voldoen aan de wettelijke eisen die gesteld worden aan het werken met proefdieren moeten medewerkers en stagiaires getraind worden in verschillende handelingen met proefdieren. Doelstelling van deze appendix is om personen te trainen in een aantal al dan niet (meervoudig invasieve) handelingen aan muis, rat en/of cavia in het kader van hun stage, opleiding, of onderzoeksproject. Hiertoe worden reeds bevoegde en bekwame en nog onbevoegde en/of onbekwame medewerkers aangeleerd handelingen aan muizen, ratten en/of cavia's uit te voeren die beschreven staan in hun opleidingsplan of project. Door onze medewerkers en stagiaires goed te trainen en getraind te houden zorgen wij ervoor dat de kwaliteit van de dierproef toeneemt. Dit zal leiden tot betrouwbare resultaten en een zo laag mogelijk ongerief voor de proefdieren.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

In de onderstaande tabellen staan de handelingen en technieken waarin getraind kan worden omschreven. Eventueel kan er na overleg met de IvD ook getraind worden in hieronder niet genoemde handelingen. Voordat er getraind wordt in een niet in onderstaande tabel genoemde techniek zal eerst met de IvD overlegd worden wat de meerwaarde van deze nieuwe techniek is en een pilot worden uitgevoerd (bijlage 3). Nadat de techniek geaccepteerd wordt, zal in samenspraak met de IvD een trainingsplan voor deze techniek opgesteld worden. Keuze voor onderstaande handelingen en technieken is gebaseerd op lopende onderzoeken. Voor alle handelingen zijn SOPs (Standard Operating Procedures) geschreven. Tevens is er een SOP waarin een gedetailleerd opleidingsplan voor nieuwe medewerkers en stagiaires beschreven staat. Voor elke nieuwe medewerker wordt er een persoonlijk opleidingsplan gemaakt. Dit plan is afhankelijk van

de ervaring die deze persoon reeds heeft opgedaan. De handelingen die aangeleerd zijn worden afgetekend op een daarvoor bestemde trainingsrecord. Medewerkers updaten jaarlijks dit trainingsrecord.

De te trainen handelingen worden onderverdeeld in niet-invasieve, enkelvoudig invasieve en meervoudig invasieve handelingen. Voor de laatste twee categorieën zijn nadere kaders geschetst mbt het ongerief voor de dieren.

Enkelvoudig Invasieve handelingen zoals bv toediening en bloedafnames; Om het ongerief niet te ver op te laten lopen is de afspraak om een dier niet meer dan 20 handelingen te laten ondergaan.

De strategie die hierbij gehanteerd wordt is:

- Het dier moet na een handeling te hebben ondergaan een 'rustdag' hebben (dit komt neer op max. 3 handelingen per werkweek).
- Bloedafname mag maar 1x per week ook hierna moet het dier een "rustdag" hebben voordat er een andere handeling uitgevoerd mag worden. Het dier mag maximaal 8 weken aangehouden worden als oefendier. De leeftijd van het dier mag niet hoger worden dan 1 jaar. Het dier mag nooit alleen gehuisvest worden.
- Het totale ongerief voor een dier zal nooit meer dan matig worden

Om bij te houden wanneer de oefendieren welke handelingen ondergaan wordt er een registratieformulier bijgehouden.

Een uitzondering op deze strategie zijn de handelingen die vallen onder niet-invasieve handelingen. Bij deze handelingen worden vanzelfsprekend wel verschillende methodes /onderdelen gecombineerd uitgevoerd.

Meervoudig Invasieve handelingen; De methodes die in deze appendix genoemd worden onder meervoudig invasieve handelingen zullen eerst altijd in een terminaal experiment onder anesthesie uitgevoerd worden. Indien noodzakelijk zullen dieren pas in een volgende trainingssessie (op nog niet eerder geopereerde dieren) mogen bijkomen uit anesthesie, hierbij zal dan ook waar nodig rekening worden gehouden met pijnstilling.

Niet invasieve handelingen	duur	inschatting max ongerief
verzorging (bijv. hanteren, spenen, sexen)	variabel 1-5 min	licht
afnametechnieken (bijv. urine, faeces, swabs)	1 min	licht
toedieningstechnieken (bijv. huidsmersel, pipettoediening, intranasaal)	1 min	licht
speciale technieken (bijv.: bloeddrukmeting, echo MRI, diverse gedragstesten, huiddiktemeting)	variabel, 1-5 min	licht
overige niet invasieve handelingen (bijv. stiftmerken, scheren)	1 min	licht
Enkelvoudige invasieve handelingen		
bloedafname (bijv. staartsnede, wangprik)	<1 min	licht
injectietechnieken (bijv. subcutaan, intraperitoneaal, intraveneus, intramusculair, intradermaal)	<1 min	licht
overige toedieningstechnieken (bijv. gavage)	<1 min	licht
euthanasie* (bijv. CO ₂ gradual fill, cervicale dislocatie, decapitatie)	variabel, 1-5 min	licht
overige enkelvoudige handelingen (bijv. oorknip, tatoeage)	<1 min	licht

Meervoudig invasieve handelingen, allen onder anesthesie**		
toedieningstechnieken (bijv: intratracheaal, oropharyngeaal, intrarectaal)	1-5 min	licht
implantaties (bijv. transponder/osmotische pomp)	15 min	matig
canulatie (bijv. vene, galgang, cerebraal)	15 min	matig
ectomieen (bijv nefrectomie, partiële hepatectomie, testikelverwijdering)	15 min	matig
plaatsing van leads (bijv EEG, ECG, EMG)	15 min	matig
overige technieken (bijv. vettransplantatie, unilaterale ureterobstructie)	15 min	matig
Meervoudig invasieve handelingen, allen onder terminale anesthesie		
bloedafname (bijv. hartpunctie)	5 min	terminaal
perfusie (bijv transcardiaal)	5 min	terminaal

* *alleen in Dir 2010/63/EU appendix IV toegestane methoden worden geoefend*

** *bij training van deze handelingen wordt conform de genoemde strategie in eerste instantie geoefend onder terminale anesthesie*

Aangezien het moeilijk te voorspellen is welke ontwikkelingen er in de komende 5 jaar zullen plaatsvinden is het mogelijk nodig dat er technieken aangeleerd moeten worden die niet beschreven staan in bovenstaande tabellen. Dit kunnen nieuwe innovatieve technieken zijn of reeds bestaande die wij in onze instelling op dit moment nog niet uitvoeren. In dat geval wordt aan de IvD een uitgebreid trainingsplan inclusief onderbouwing met de meerwaarde van de betreffende techniek is voor de kwaliteit van studies voorgelegd. De initiële test zal vallen onder bijlage 3. Op het moment van acceptatie van de techniek zal in overleg met de IvD besloten worden hoe deze nieuwe techniek aangeleerd zal worden en waar deze in de tabel onder valt.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Het doel is het bereiken van de juiste bekwaamheid van de medewerkers. Het is vooraf niet exact aan te geven hoeveel dieren er per trainingsvraag en per medewerker nodig zijn. Statistische methoden en technieken zijn niet van toepassing. Per trainingsvraag wordt gekeken hoeveel muizen, ratten of cavia's gebruikt moeten worden. Hierbij zal er, indien mogelijk, gebruik worden gemaakt van surplus muizen, ratten en of cavia's.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Muis (*Mus musculus*), rat (*Rattus norvegicus*) en cavia (*Cavia aperea porcellus*). Ratten en cavia's komen van een geregistreerde leverancier uit EU of USA. Muizen, zowel wildtype als genetische gemodificeerde dieren, meestal uit eigen fok. In het merendeel van de trainingen zal gebruik gemaakt worden van surplus dieren. Zoals duidelijk wordt uit bovenstaande tabel betreft handelingen die getraind moeten worden met dieren in verschillende levensstadia. In principe is er geen voorkeur voor mannen of vrouwen tenzij de handelingen gekoppeld is aan het geslacht. Bijv. verwijderen van testikels.

Het te gebruiken aantal muizen, ratten en cavia's wordt op basis van voorgaande jaren als volgt geschat: De afgelopen 3 jaren zijn er 430 muizen, 100 ratten en 60 cavia's gebruikt. Dit zou betekenen dat er voor 5 jaar afgerond 720 717 muizen, 167 170 ratten en 100 cavia's nodig zullen zijn.

De hier berekende en aangevraagde aantallen dieren betreffen een maximaal aantal dieren, het is zeer goed mogelijk dat het werkelijke aantal dieren dat per jaar gebruikt gaat worden lager zal uitvallen.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

De afgelopen jaren bleek het mogelijk het merendeel van de trainingen uit te voeren met surplus dieren. Zie hiervoor ook vraag D. Wanneer het een niet-invasieve handeling betreft, in de tabel zijn dat handelingen die onder 1) verzorging en 14) de gedragstesten en 15) imaging of echoscopie vallen, kunnen in kader van vermindering de (surplus) dieren hergebruikt worden voor bijv. een terminale meervoudig invasieve handeling. Hergebruik van dieren zal altijd gaan volgens de in 2A genoemde strategie regels. Tevens is het mogelijk dat de oefendieren na euthanasie gebruikt kunnen worden om weefsels uit te verzamelen.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Verfijning:

Binnen TNO is er een SOP geschreven mbt het opleiden van nieuwe medewerkers en stagiaires. In het kort komt het trainingsprogramma hierop neer. Afhankelijk van de complexiteit van de techniek wordt training voorafgegaan door een theoretische scholing, al dan niet intern, gevolgd door uitleg van de te leren handeling aan de hand van een filmpje, SOP en/of demonstratie op dood dier of een PVC rat. De training wordt gegeven door ervaren trainer. De medewerkers worden zoveel mogelijk individueel begeleid zodat er optimaal rendement uit training gehaald kan worden.

Binnen TNO is er een duidelijk fokbeleid voor de transgene muizenlijnen die in huis worden gefokt. Hierin staat per stam beschreven hoe er zo gefokt dient te worden dat er zo min mogelijk surplus dieren geboren zullen worden. Dit bereiken wij door de aantallen aanwezige fokparen aan te passen op de vraag in studies. Ondanks dit fokbeleid zijn er soms muizen aanwezig die afgevoerd moeten worden vanwege leeftijd, onjuist fenotype of geslacht. De trainingen worden zoveel mogelijk uitgevoerd met deze surplus dieren die anders zonder bestemming afgevoerd zouden worden. Er kunnen wel verschillende handelingen op 1 dier geoefend worden om het aantal dieren zo laag mogelijk te houden, zie 2A. Dit kan dus betekenen dat een dier dat op deze bijlage wordt gebruikt om handelingen te oefenen vervolgens ook nog voor het verzamelen van weefsel (bijlage 2) gebruikt kan worden of om een innovatieve nieuwe techniek (bijlage 3) te proberen. Door een duidelijke instructie en het herhalen van de training wordt de handelingen stapsgewijs geleerd en wordt onnodig lijden voorkomen. Hierdoor zullen er minder dieren uitvallen en kunnen de onderzoeken met minder dieren uitgevoerd worden.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Voor enkelvoudig invasieve handelingen wordt een strategie gevolgd (zie A) waardoor het ongerief voor dieren maximaal matig zal zijn. Voor meervoudige invasieve handelingen geldt dat er gebruik gemaakt van

een adequaat anesthesie/analgesie protocol, dat in principe terminaal is. Indien het noodzakelijk is de dieren bij te laten komen uit anesthesie, zal een adequaat postoperatief analgesieregime worden toegepast en zal het ongerief niet meer dan matig zijn. In deze gevallen zal altijd vooraf afstemming plaatsvinden met de IvD.

De dieren worden gehuisvest onder DMI condities en zullen geen gevaar opleveren voor het milieu.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

NVT

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Indien noodzakelijk worden de dieren op adequate wijze geanestheseerd en wordt indien noodzakelijk ook analgesie toegepast. Tijdens de anesthesie worden de dieren continu gemonitord en wordt ademhaling gecontroleerd. In het merendeel van de experimenten zal het een training onder terminale anesthesie betreffen. Als de dieren na een chirurgische ingreep bijkomen uit anesthesie worden ze dagelijks gemonitord op hun gewicht, gedrag, uiterlijk en reacties op prikkels. Slechts een klein percentage van de oefendieren

zal bijkomen na een invasieve ingreep, naar schatting zal dit ongeveer 1-5% zijn (van de dieren die een meervoudige invasieve handeling (ongeveer 20% van de totale aantal dieren in deze aanvraag) ondergaan).

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Er worden geen andere vormen van welzijnsaantasting voorzien.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Omdat de aanvraag als doel heeft mensen te trainen, bestaat er is een mogelijkheid, dat als een minder ervaren medewerker een (meervoudig invasieve) handeling voor de eerste keren uitvoert de handeling niet perfect verloopt. Mocht er hierdoor sprake zijn van een ongerief, hoger dan vooraf ingeschat, wordt het dier geëuthanaseerd en wordt de training gestopt. Indien nodig wordt er terug gegaan naar een vervangende methode, zoals nogmaals een filmpje bekijken over de betreffende handeling.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

✓ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

De hier beschreven handelingen worden deels door onervaren medewerkers uitgevoerd. Dit is immers de scope van de aanvraag. Ondanks zorgvuldige begeleiding kan het daardoor voorkomen dat een handeling niet juist wordt uitgevoerd en het dier hierdoor onnodig lijdt. In deze gevallen zal direct HEP worden toegepast.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

<<1%

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Licht ongerief voor de niet-invasieve en enkelvoudig invasieve handelingen en terminaal voor de meeste invasieve handelingen. Voor de dieren die wakker worden na een meervoudig invasieve handeling is het ongerief maximaal matig, anders zal HEP worden toegepast.

Geschatte percentages ongerief

Licht ongerief: Muizen 80%, Ratten 50%, Cavia's 50%

Matig ongerief: Muizen 5%, Ratten 25%, Cavia's 25%

Terminaal: Muizen 15%, Ratten 25%, Cavia's 25%

De hierboven genoemde percentages zijn schattingen gebaseerd op historische gegevens. Afhankelijk van de vereiste trainingen kunnen deze percentages anders uitvallen.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee,

✓ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Het doden van het dier kan onderdeel of einddoel van de training zijn (bijv. training van euthanasie of een meervoudig invasieve techniek onder terminale anesthesie). Tevens kan er sprake van zijn dat een van de in de strategie genoemde punten (bijv.: maximaal aantal handelingen, leeftijd of individuele huisvesting) voor een dier is bereikt en om die reden euthanasie wordt toegepast. Waar mogelijk worden de dieren hergebruikt om weefsels te verzamelen (bijlage 2) of het uittesten van nieuwe apparatuur (bijlage 3).

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja