

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.	50100				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	TNO				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>3.4.4.2</td><td>Verzamelen van weefsels tbv borging van de kwaliteit van technische meetapparatuur</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.2	Verzamelen van weefsels tbv borging van de kwaliteit van technische meetapparatuur
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.2	Verzamelen van weefsels tbv borging van de kwaliteit van technische meetapparatuur				

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Doelstelling van deze appendix is om diverse weefsels te verzamelen uit gezonde (surplus) dieren. Bij het uitvoeren van *in vitro* analyses in serum of plasma verzameld tijdens een dierstudie worden vaak controles meegenomen als kwaliteitsbewaking van de analyse. Om deze kwaliteitsbewaking juist uit te voeren wordt dat bij voorkeur gedaan met materiaal van dezelfde stam als waar de dierstudie mee uitgevoerd wordt. Daarnaast is serum, plasma of weefsels nodig voor het opzetten en valideren van nieuwe biochemische of histologische analyse methodes.

Tevens is er een behoefte om weefsels/organen te isoleren uit surplus muizen, ratten en/of cavia's enerzijds om *in vitro* celkweken op te zetten met primaire cellen en anderzijds om oefenmateriaal te verkrijgen voor het opzetten van analyses (bijv. histologie) alvorens deze analyses uitgevoerd moeten worden op weefselmateriaal verzameld in de daadwerkelijke dierstudie.

Een goede uitvoeringspraktijk bevordert de betrouwbaarheid van uitkomsten van wetenschappelijk onderzoek.

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.

De dieren zullen eerst gedood worden volgens een van de in de richtlijnen (bijlage IV directive 2010/63/EU) genoemde euthanasie methoden. Hierna zullen er verschillende weefsels verzameld worden. Voorafgaand aan de euthanasie kunnen de dieren handelingen hebben ondergaan zoals vermeld onder bijlage 1 of reserve dieren uit een studie.

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

Er zal per dier zoveel mogelijk verschillende weefsels verzameld worden. Op deze manier kan 1 dier voor meerdere doeleinden gebruikt worden. Zo kan het verzamelde plasma gebruikt worden voor bijvoorbeeld een (negatieve) controle bij ELISA's en kan bijv. het hart verzameld worden als oefenmateriaal voor histologische doeleinden.

Voor ons type onderzoek is er vrijwel nooit behoefte aan vers weefsel. Hierdoor hoeven er geen dieren gefokt te worden t.b.v. het verzamelen van weefsels. Mochten er surplus dieren zijn, die niet geschikt zijn voor studies vanwege, geslacht, leeftijd of fenotype, worden er weefsels van deze dieren verzameld en opgeslagen.

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 situaties (naar verwachting zal 95% van de muizen waar weefsels uit verzameld wordt afkomstig zijn uit eigen fok) zal gebruik gemaakt worden van surplus dieren. In principe is er geen voorkeur voor mannen of vrouwen tenzij de handelingen gekoppeld is aan het geslacht.

Wanneer serum of plasma gebruikt wordt als kwaliteitscontrole sample bij een dierproef, zal de voorkeur uitgaan naar serum of plasma van dezelfde stam als de dierproef. Dit kan mogelijk ook gelden voor het geslacht.

Er zullen hoofdzakelijk overschot muizen gebruikt worden uit eigen fok. Het is over het algemeen mogelijk surplus weefsel te gebruiken omdat zelden verse weefsels van dieren in een bepaalde levensfase nodig zijn. Daarnaast zullen reservedieren (dit zal voornamelijk het geval zijn bij cavia's en ratten) uit andere studies waar mogelijk ook worden ingezet om weefsel te verzamelen.

Het te gebruiken aantal muizen, ratten en cavia's wordt op basis van voorgaande jaren als volgt geschat: De afgelopen 3 jaren zijn er 200 muizen, 20 ratten en 10 cavia's gebruikt. Op basis hiervan verwachten we dat we voor 5 jaar afgerond 350 muizen, 35 ratten en 15 cavia's nodig zullen zijn. Dieren die reeds gebruikt zijn als oefendier kunnen soms ook gebruikt worden om weefsels uit te verzamelen.

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.

Waar mogelijk zijn de dieren waaruit weefsels verzameld worden eerst gebruikt als oefendier of om nieuwe technieken op uit te testen (Bijlage 3)

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.

Vermindering

Er is geen volledige vervanging mogelijk, omdat wij (in huis) unieke muizen in fok hebben (staan) waarvan sera, plasma of weefsel niet verkrijgbaar zijn. Wel zullen er zoveel mogelijk weefsels van 1 muis verzameld worden, om zo het aantal benodigde dieren zo laag mogelijk te houden.

Daarnaast zullen weefsels van speciale transgene lijnen gedeeld worden met collega instituten. De betrokken onderzoekers hebben hiervoor een uitgebreid netwerk.

Vervanging

Door weefsels te verzamelen kunnen bepaalde technieken (bijv. "organ on a chip") verder geoptimaliseerd en ontwikkeld worden. Hierdoor is het mogelijk dat in de toekomst kandidaat geneesmiddelen eerst in vitro getest kunnen worden voordat ze in vivo getest worden. Dit zal mogelijk leiden tot een vervanging en vermindering van proefdieren. Tevens kan er in de weefsel bekeken worden of het target of interest aanwezig is in onze muismodellen. Hierdoor kan vooraf in vitro bekeken worden of ons muismodel geschikt is voor een specifieke onderzoeksvraag.

Verfijning

De dieren ondergaan, behalve euthanasie, geen verdere handelingen. De dieren worden geëuthanaseerd volgens de in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegestane methodes.

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.

NVT

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 valt?

X 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.

De dieren ondergaan, behalve euthanasie, geen verdere handelingen.

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

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.

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?

X Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

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.

Dieren worden gedood zonder voorafgaande handelingen, ongerief is licht

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.

De hoeveelheid benodigde plasma, sera en weefsels kunnen alleen verzameld worden als de dieren geëuthanaseerd zijn.

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