



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 in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' 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 de titel van de dierproef in.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Titel dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Borging van vaardigheden van personeel</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Titel dierproef	1	Borging van vaardigheden van personeel
Volgnummer	Titel dierproef					
1	Borging van vaardigheden van personeel					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 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 HBO-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. **In het geval van (nieuwe) medewerkers worden alleen technieken getraind die deze (nieuwe) medewerkers daadwerkelijk binnen afzienbare tijd gaan uitvoeren. Voor de complexe handelingen is ervoor gekozen om een beperkt aantal medewerkers te trainen. Dit om ervoor te zorgen dat de operaties door ervaren medewerkers worden uitgevoerd en zo het risico op complicaties zo klein mogelijk te houden. HBO-studenten moeten voor hun artikel 13f2 aantekening een complexe handeling uitvoeren, zoals een meervoudig-invasieve handeling. Deze studenten krijgen de enkelvoudige invasieve handelingen aangeleerd die nodig zijn voor hun stage en een meervoudig invasieve handeling. Deze meervoudig invasieve handeling is een handeling die reeds binnen TNO uitgevoerd wordt.**

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. Deze technieken zijn verschillende afname en toedieningstechnieken, zoals orale gavage, niet invasieve handelingen, zoals fixeren, en complexere operaties, zoals een nefrectomie. Eventueel kan er na overleg

met de IvD ook getraind worden nieuwe technieken die noodzakelijk zijn voor de uitvoering van experimenten. Dit zijn technieken met een vergelijkbaar ongerief als de hieronder in de tabel omschreven handelingen bijv. een nieuwe operatietechniek.

Voordat er getraind wordt in een niet in onderstaande tabel genoemde techniek of handeling zal eerst met de IvD overlegd worden wat de meerwaarde van deze nieuwe techniek is. 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 binnen TNO goedgekeurde SOPs (Standard Operating Procedures) aanwezig. 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 m.b.t. het ongerief voor de dieren.

Enkelvoudig Invasieve handelingen zoals bv toediening en bloedafnames; Om het cumulatieve ongerief niet te ver op te laten lopen is de afspraak om een dier in het totaal niet meer dan **5 enkelvoudige invasieve** 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 16 weken aangehouden worden als oefendier.
- De leeftijd van het dier mag niet hoger worden dan **40 weken**. 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.

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 altijd rekening worden gehouden met adequate pijnstilling.

Omdat alle trainers voldoende gekwalificeerd en bekwaam zijn, zal er altijd tijdig actie ondernomen worden indien er iets verkeerd gaat tijdens de training. **De duur van de handelingen zal wat langer zijn dan wanneer een ervaren persoon de handeling uitvoert. Door tijdig ingrijpen van de trainer zal ook hier het cumulatief ongerief maximaal matig zijn.**

Niet-invasieve handelingen	duur	inschattin g 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
Enkelvoudig-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
doden* (bijv. CO ₂ gradual fill, cervicale dislocatie, (alleen muis))	variabel, 1-5 min	licht
overige enkelvoudige handelingen (bijv oorknip, tatoeage)	<1 min	licht
Meervoudig-invasieve handelingen, allen onder anesthesie/terminale anesthesie**		
toedieningstechnieken (bijv: intratracheaal, oropharyngeaal, intrarectaal)	1-5 min	licht
implantaties (bijv. transponder/osmotische pomp/ Vasculair Access Button)	15-30 min	matig
canulatie (bijv. vene, arterie, galgang, cerebraal)	15-30 min	matig
ectomieen (bijv nefrectomie, partiele hepatectomie, testikelverwijdering)	15-30 min	matig
plaatsing van leads (bijv EEG, ECG, EMG)	15-30 min	matig
plaatsing connector (bijv. EEG, ECG, EMG)	15-30 min	matig
plaatsing hechtingen (enkel, doorlopend)	15-30 min	licht
overige technieken (bijv. vettransplantatie, unilaterale ureterobstructie)	15-30 min	matig
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, daarna pas onder anesthesie (na overleg met IvD)

Aangezien het op voorhand niet 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. Als er een techniek gewenst is die niet in deze tabel voorkomt wordt met de IvD een uitgebreid trainingsplan opgesteld. De medewerkers die als eerste getraind worden door externe trainer zullen een IvD-aanvraag doen op de projectaanvraag waar de te leren techniek voor nodig is. Zodra de medewerkers getraind zijn door een externe partij en deze bevoegd en bekwaam zijn worden medewerkers getraind door deze collega's onder deze projectaanvraag.

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. 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 trainingvraag en per medewerker nodig zijn. Statistische methoden en technieken zijn niet van toepassing maar de aantallen zijn gebaseerd op voorgaande jaren (zie voor meer detail sectie B. De Dieren) Per trainingvraag 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, levensstadia, geschatte aantallen per levensstadium, geslacht, genetische wijzigingen en, indien van belang voor het behalen van de doelstelling, de te gebruiken stam.

Volgnr.	Diersoort	Herkomst	Levensstadium	Aantal	Geslacht	Genetisch gewijzigd	Stam
1	Muis (<i>Mus musculus</i>)	Eigen fok	volwassen	500	Geen voorkeur, behalve bij bepaalde operaties	ja	Diverse; C57Bl6/CETP/E3L/CETP E3L/LDLR
2	rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	Erkende leverancier	volwassen	50	Geen voorkeur	Nee	Diverse; Hsd:Sprague Dawley SD/HsdCpb:WU
3	cavia (<i>Cavia aperea porcellus</i>)	Erkende leverancier	volwassen	50	Geen voorkeur	Nee	HsdDhl:DH

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	De keuze van diersoort is afhankelijk van de te trainen techniek en de medewerker die getraind moet worden. Er wordt alleen getraind voor handelingen die daadwerkelijk uitgevoerd gaan worden in onze experimenten.
Herkomst	Wij fokken onze eigen muizen. Als gevolg hiervan zijn er vrijwel altijd muizen die om verschillende redenen, bijv. geslacht niet ingezet kunnen worden voor een experiment. Deze muizen worden dan eventueel gebruikt als oefendier, mocht het nodig zijn dat er geoefend wordt. De ratten en cavia's worden niet door ons zelf gefokt, maar aangekocht bij erkende leverancier. De oefendieren zullen dan ook aangekocht moeten worden.
Levensstadia	Onze experimenten worden uitgevoerd op volwassen dieren, daarom wordt er ook geoefend met dieren in dit levensstadium.

Aantal	<p>In de afgelopen jaren (2017 t/m 2021) zijn er in totaal 211 muizen en 12 cavia's als oefendier gebruikt.</p> <p>Gedurende de COVID-jaren was het niet mogelijk om stagiairs op te leiden, om deze reden zagen wij een afname in het aantal oefendieren. Wij verwachten, nu de COVID pandemie over zijn hoogste punt heen lijkt te zijn, er weer meer stagiairs opgeleid kunnen worden. Ook gaat binnen een aantal jaar een medewerker met pensioen. De werkzaamheden die deze medewerker uitvoert zijn zeer complex en zullen getraind moeten worden door andere medewerkers, zodat wij onze experimenten goed kunnen blijven uitvoeren. Tevens is er in deze aanvraag voor gekozen om de dieren maximaal 5 niet invasieve en enkelvoudige handelingen te laten ondergaan zodat deze groep dieren een cumulatief ongerief van licht hebben ipv de 20 handelingen die resulteerden in een matige ongerief score.</p> <p>De hierboven genoemde aantallen zijn gebaseerd op de aantallen zoals gebruikt in de jaren voor en gedurende de COVID pandemie. 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.</p>
Geslacht	Er is geen voorkeur voor geslacht, behalve als dit van belang is voor de ingreep bijvoorbeeld testikelverwijdering.
Genetisch gewijzigd	De muizen die als oefendier gebruikt worden zijn surplus dieren vanuit onze eigen fok. Het merendeel van deze dieren is genetisch gewijzigd. De ratten en cavia's zijn niet genetisch gewijzigd.
Stam	Voor het oefenen is de stam niet van belang.

C. Huisvesting en verzorging

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

Ja

Nee > 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.

Het kan na het plaatsen van een canule kan voorkomen dat dieren, voor maximaal 48 uur, individueel gehuisvest worden.

D. Pijn en welzijnsaantasting

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

Nee >

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 geanestheiseerd 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, dit zijn maximaal 25 muizen (n=5 per jaar)

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Er worden geen andere vormen van welzijnsaantasting voorzien.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

nvt

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

nvt

E. 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 F.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

De handelingen worden uitgevoerd door deels onervaren medewerkers. Gedurende de training van een medewerker is er te allen tijde een ervaren medewerker aanwezig. Mocht er tijdens het oefenen van een handeling onverhoopt iets mis gaan, zal het dier gelijk gedood worden. Hierdoor zal het ongerief niet hoger worden dan matig.

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

Minder dan 1%

F. Classificatie van ongerief

Benoem de experiment gebonden factoren die bijdragen aan het ongerief en geef voor elk van deze factoren aan hoe het ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig'. Geef per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aan in percentages van het totale aantal dieren.

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 60% (n=300), Ratten 50% (n=25), Cavia's 50% (n=25)

Matig ongerief: Muizen 5% (n=25), Ratten 26% (n=13), Cavia's 26% (n=13)

Terminaal: Muizen 35% (n=175), Ratten 24% (n=12), Cavia's 24% (n=12)

De hierboven genoemde percentages zijn schattingen gebaseerd op historische gegevens. Afhankelijk van de vereiste trainingen kunnen deze percentages anders uitvallen. Tov de vorige CCD aanvraag (AVD 20172931) is het aantal muizen met een terminaal geschat ongerief wat hoger (was 15%, is nu 35%). Dit vanwege een naderend pensioen van een van onze medewerkers waardoor we verwachten nieuwe mensen in de invasieve methodes te moeten trainen wat in eerste instantie onder terminale anesthesie zal plaatsvinden.

G. 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.

Vervanging	Binnen TNO is er een SOP geschreven m.b.t. 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.
Vermindering	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. 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. 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.
Verfijning	De training wordt gegeven door ervaren trainer. De medewerkers worden zoveel mogelijk individueel begeleid zodat er optimaal rendement uit training gehaald kan worden.

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

Nee

Ja > Benoem de te verwachten milieueffecten en geef aan welke maatregelen zijn genomen om deze tot een minimum te beperken.

H. Hergebruik

Worden er dieren ingezet die eerder in een andere dierproef zijn gebruikt?

Nee, ga verder met vraag I.

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

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

Nee

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

I. Herhaling

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

nvt

J. Plaats waar de dierproef wordt uitgevoerd

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 K.

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?

K. Bestemming van de dieren bij einde experiment

Worden de dieren gedood?

Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

Het doden van het dier kan onderdeel of einddoel van de training zijn (bijv. training van doden van dieren of een meervoudig invasieve techniek onder terminale anesthesie). Ook 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 het dier wordt gedood.

Als dieren worden gedood, wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van Richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja > Betreft het een dodingsmethode die alleen onder specifieke voorwaarden mag worden toegepast?

Nee > Beschrijf de dodingsmethode

De dieren kunnen op verschillende manieren gedood worden, worden met een combinatie van O₂/CO₂, cervicale dislocatie, verbloeding (onder volledige anesthesie).

Ja > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Indien dieren worden gedood, maar niet in het kader van de proef, geef aan of herplaatsing is overwogen en waarom hiervan is afgezien.

Het overgrote gedeelte van de muizen die als oefendieren gebruikt worden zijn surplus dieren van onze eigen fok. Deze dieren zijn transgeen en daarom niet geschikt voor herplaatsing. De ratten en cavia's worden vrijwel allemaal gebruikt om operaties aan te leren, daarom zijn deze dieren niet geschikt voor herplaatsing.