



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. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 van het format Projectvoorstel.</i>	Volgnummer	Titel dierproef
		2	Verzamelen van weefsels en lichaamsvloeistoffen t.b.v. kwaliteitsverbetering en- bewaking

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 het verzamelen van diverse weefsels uit gezonde 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. Daarnaast is serum, plasma of weefsels nodig voor het opzetten en valideren van nieuwe biochemische of histologische analysemethoden.

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

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 methoden. Hierna zullen er verschillende weefsels verzameld worden.

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

Er zullen 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.

We zullen zoveel mogelijk surplus dieren uit eigen fok gebruiken voor het verzamelen van weefsels. Mocht het niet mogelijk zijn om deze uit eigen fok te verkrijgen zullen er dieren aangekocht worden bij een erkende leverancier.

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	350	175 mannen 175 vrouwen	Ja	LDLRKO (CETP) E3L C57 Bl6
2	Muis (<i>Mus musculus</i>)	geregistreerde leverancier uit EU of UK	volwassen	50	25 mannen 25 vrouwen	nee	C57Bl6
3	rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	geregistreerde leverancier uit EU of UK	volwassen	10	5 mannen 5 vrouwen	nee	Diverse; Hsd:Sprague Dawley SD/ HsdCpb:WU
4	cavia (<i>Cavia aperea porcellus</i>)	geregistreerde leverancier uit EU of UK	volwassen	10	5 mannen 5 vrouwen	nee	HsdDhl:DH

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	De keuze van diersoort is afhankelijk van welk weefsel dat nodig is om de kwaliteitscontrole of proef mee uit te voeren.
Herkomst	De herkomst is afhankelijk van de diersoort en stam waarvan weefsel nodig is voor de kwaliteitscontrole. De dieren die aangekocht worden bij erkende fokkers zullen van dezelfde fokkers komen als waar de dieren waar de overige studies mee uitgevoerd worden vandaan komen.
Levensstadia	In het geval van de muizen wordt zoveel mogelijk gebruik gemaakt van surplus dieren vanuit onze eigen fok. Deze surplus dieren zijn vaak te oud geworden om nog deel te kunnen nemen aan een groot experiment. De experimenten die wij uitvoeren, worden gedaan in het volwassen leven van de rat of cavia. Daarom zal er ook van dit levensstadia controle weefsel nodig zijn.
Aantal	Tussen 2017 en 2021 zijn er in totaal 258 dieren gebruikt om weefsels uit te verzamelen. Wij hebben gezien dat we in de jaren 2020 en 2021 aanmerkelijk minder experimenten hebben uitgevoerd als gevolg van de COVID pandemie. Wij verwachten, nu de pandemie over zijn hoogtepunt heen lijkt te zijn, we weer terug zullen gaan naar het aantal experimenten van voor de COVID pandemie. 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.
Geslacht	Er is geen voorkeur voor geslacht, tenzij er weefsels nodig zijn die sexe specifiek zijn (bijv. uterus)

Genetisch gewijzigd	Afhankelijk van welk weefsel en nodig is voor de kwaliteitscontrole zal er een keuze gemaakt worden welke stam en diersoort, en dus of deze genetisch gewijzigd is, er nodig is.
Stam	Afhankelijk van welk weefsel en nodig is voor de kwaliteitscontrole zal er een keuze gemaakt worden welke stam en diersoort er nodig is.

C. Huisvesting en verzorging

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

X 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.

D. Pijn en welzijnsaantasting

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

X Nee > De dieren ondergaan voorafgaand aan het doden geen handelingen.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

De dieren ondergaan, buiten het doden, geen verdere handelingen, tenzij ze eerder gebruikt worden op bijlage 1 van deze aanvraag

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

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De dieren ondergaan, behalve het doden volgens een van de in de richtlijnen (bijlage IV directive 2010/63/EU), geen handelingen. Om deze reden verwachten wij geen andere vormen van welzijnsaantasting.

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?

X Nee > Ga verder met vraag F.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

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.

Het ongerief van deze dieren wordt ingeschat als licht. De dieren ondergaan, behalve doden volgens een van de in de richtlijnen (bijlage IV directive 2010/63/EU), geen handelingen. Dit zal het geval zijn voor alle **400 muizen, 10 ratten, 10 cavia's (100%)**.

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	In het weefsel kan bekeken worden of het target of interest aanwezig is in onze muismodellen. Hierdoor kan vooraf in vitro bekeken worden of ons diermodel mogelijk geschikt is voor een specifieke onderzoeksvraag.
Vermindering	Er is geen volledige vervanging mogelijk, omdat wij (in huis) unieke muizen in fok hebben (staan) waarvan sera, plasma of weefsel niet commercieel 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. Ook worden een aantal dieren uit bijlage 1 van deze aanvraag, naar schatting n=20 muizen per jaar, gebruikt om weefsels van te verzamelen nadat deze dieren als oefendier gebruikt zijn. Hierdoor hebben we in 5 jaar tijd n=100 muizen minder nodig op speciaal te offeren om weefsels te verzamelen.
Verfijning	De dieren ondergaan, behalve doden, geen verdere handelingen. De dieren worden geëuthanaseerd volgens de in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegestane methodes.

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

X 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?

X 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?

X 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.

x Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

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

Indien 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.

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

Nee > Beschrijf de dodingsmethode

De muizen worden mbv O₂/CO₂ vergast.

De ratten en cavia's worden middels overdosis pentobarbital (>100 mg/kg) geëuthanaseerd.

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.

NVT