

Inventaris Wob-verzoek W22-03		wordt verstrekt				weigeringsgronden				
nr.	document NTS202114908	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.1, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	aanvraag projectvergunning, d.d. 4 mei 2021				x		x		x	
2	projectvoorstel				x				x	
3	bijlage dierproeven 1				x				x	
4	bijlage dierproeven 2				x				x	
5	ontvangstbevestiging, d.d. 18 mei 2021				x		x		x	
6	e-mail van CCD aan DEC met verzoek advies, d.d. 18 mei 2021				x		x		x	
7	e-mail van CCD aan VGH met kennisgeving verzoek DEC-advies, d.d. 18 mei 2021				x		x		x	
8	DEC-advies, d.d. 29 juni 2021				x		x		x	
9	e-mail van CCD aan VGH met aanvullende vragen, d.d. 2 juli 2021				x		x		x	
10	conceptadviesnota aan CCD, d.d. 2 juli 2021				x		x		x	x
11	e-mail van VGH aan CCD bij antwoorden op aanvullende vragen, d.d. 8 juli 2021				x		x		x	
12	Antwoorden van VGH op vragen CCD, d.d. 7 juli 2021				x		x		x	
13	Bijlage bij antwoorden				x		x			
14	adviesnota aan CCD, d.d. 13 juli 2021				x		x		x	x
15	beschikking, d.d. 13 juli 2021				x		x		x	
16	terugkoppeling aan DEC				x		x		x	





## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl), of in de toelichting op de website.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1

### Gegevens aanvrager

1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

- Ja > Vul uw deelnemernummer in **5.1 lid2h**
- Nee > U kunt geen aanvraag doen

1.2 Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 1.3
- Wijziging > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.1
- Melding > Vul hiernaast het AVD nummer van uw vergunde project in en ga verder met vraag 2.2

1.3 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam instelling of organisatie  
Titel, voorletters en achternaam van de portefeuillehouder

**5.1 lid2h**

Titel Voorletters Achternaam  Dhr.  Mw

E-mailadres contactpersoon

**5.1 lid2e**

Titel, voorletters en achternaam van de diens gemachtigde (indien van toepassing)

Titel Voorletters Achternaam  Dhr.  Mw

E-mailadres gemachtigde

Vul de gegevens van het postadres in.

Straat en huisnummer

**5.1 lid2h**

Postcode en plaats

Postbus, postcode en plaats

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters

**5.1 lid2e**

Dhr.  Mw.

Functie

Afdeling

**5.1 lid2h**

Telefoonnummer



- 1.5 *(Indien van toepassing)* Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.
- E-mailadres **5.1 lid2e**
- (Titel) Naam en voorletters  Dhr.  Mw.
- Functie
- Afdeling
- Telefoonnummer
- 1.6 *(Indien van toepassing)* Vul hier de gegevens in van de persoon aan wie de portefeuillehouder de verantwoordelijkheid inzake de algemene uitvoering van het project en de overeenstemming daarvan met de projectvergunning heeft gedelegeerd.
- E-mailadres  Dhr.  Mw.
- (Titel) Naam en voorletters
- Functie
- Afdeling
- Telefoonnummer
- E-mailadres
- 1.7 *(Optioneel)* Vul hier de gegevens in van de Instantie voor Dierenwelzijn
- Telefoonnummer **5.1 lid2h**
- E-mailadres **5.1 lid2h**
- 1.8 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > *Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag*
- Nee

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Gaat uw aanvraag over een *wijziging* op een vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder kort de wijziging en de onderbouwing daarvan weer. Geef in de originele formulieren (niet-technische samenvatting, projectvoorstel en bijlage dierproeven) duidelijk aan (bij voorbeeld in een andere kleur) waar de projectaanvraag wijzigt. Ga daarna verder met vraag 6.
- 2.2 Gaat uw aanvraag over een *melding* op een vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder weer wat deze melding inhoudt en ga verder met vraag 6

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 01 - 07 - 2021
- Einddatum (t/m) 30 - 06 - 2026
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) van voorkeur?
- Naam DEC **5.1 lid2h**
- Postadres **5.1 lid2h**
- E-mailadres **5.1 lid2h**



## 4 Factuurgegevens

- 4.1 (indien factuuradres afwijkt van de gegevens uit vraag 1.3) Vul de gegevens van het factuuradres in.
- Naam: \_\_\_\_\_ Afdeling: \_\_\_\_\_  
 Straat: \_\_\_\_\_ Huisnummer: \_\_\_\_\_  
 Postcode: \_\_\_\_\_ Plaats: \_\_\_\_\_  
 Postbus: \_\_\_\_\_ Postcode: \_\_\_\_\_ Plaats: \_\_\_\_\_  
 E-mail: \_\_\_\_\_
- 4.2 (optioneel) Vul hier het ordernummer van de instelling in.
- Ordernummer: \_\_\_\_\_

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel      Aantal bijlage(n) dierproeven 2
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- 

## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD en per post naar de Centrale Commissie Dierproeven (voor adresgegevens zie website)
- Ondertekening door de portefeuillehouder namens de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.8). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel C van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 5.1 lid2e  
 Functie  
 Plaats 5.1 lid2h  
 Datum 04 - 05 - 2021  
 Handtekening 5.1 lid2e





## Formulier Projectvoorstel dierproeven

- Dit formulier gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit formulier hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 5.1 lid2h
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. 5.1 lid2h
- 1.3 Vul de titel van het project in. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project?
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2.1 aangekruiste categorieën.

Onze instelling verzorgt contractonderzoek om farmaceutische bedrijven en academische instellingen inzicht te geven in de farmacologische eigenschappen van potentiële nieuwe geneesmiddelen. Met behulp van verschillende methodes kunnen wij werkingsmechanisme, effectiviteit en biodistributie van kandidaatstoffen testen. Een belangrijke pijler daarbij is de in vivo



microdialysetechniek in ratten en muizen, eventueel in combinatie met monsterafname van bloed en CSF, gevolgd door farmacokinetische (PK) en farmacodynamische (PD) analyse van de genomen monsters, voornamelijk met high-performance liquid chromatography (HPLC) gevolgd door tandem-massaspectrometrie.

Op basis van de Wod is het van belang dat medewerkers die met proefdieren werken bevoegd en bekwaam zijn en dat deze bekwaamheid op peil wordt gehouden. Om aan deze eis te voldoen is training noodzakelijk. Deze aanvraag is dan ook gericht op het trainen en onderhouden van bestaande technieken en het ontwikkelen van nieuwe technieken. Voor training betreft dit voornamelijk onze standaardtechnieken aan (nieuwe) medewerkers, zoals het toedienen van teststoffen via verschillende routes, het implanteren van canules in de hersenen, ander weefsel en bloedvaten. Hier hoort ook het verifiëren van de techniek bij, inclusief monsterafname door de geïmplanteerde canules/katheters. Binnen onze instelling worden ook studenten van HBO en WO opleidingen ondersteund bij het behalen van hun vaardigheden die nodig zijn om dierproeven te mogen uitvoeren. Daarnaast wordt er binnen onze instelling nieuwe technieken ontwikkeld of geïmplementeerd. Dit kunnen afgeleiden zijn van bestaande technieken, zoals het plaatsen van een canule in een nieuw doelgebied. Ook kunnen dit volledig nieuwe technieken zijn, waarvoor eerst naar de haalbaarheid en de kennis en kunde wordt gekeken voordat besloten wordt deze te ontwikkelen.

Het hier aangevraagde project betreft het vervolg op een bestaand project binnen onze instelling. Onder projectvergunning 5.1 lid2h zijn de afgelopen vijf jaar door medewerkers en stagiaires verschillende biotechnische vaardigheden en gevestigde operatietechnieken getraind. Deze technieken zijn door onze biotechnici vervolgens toegepast bij onderzoeken binnen onze andere projectvergunningen. Ook zijn er onder A5.1 lid2h meerdere methodes ontwikkeld, zoals om in vrij bewegende dieren door een canule vloeistofmonsters uit het ruggenmerg te kunnen nemen. Een ander voorbeeld van een methode die is opgezet is het verkrijgen van monsters uit een tumor, door middel van een canule, over meerdere dagen. Deze specialistische technieken zijn vervolgens gebruikt in routine-experimenten.

### 3.2 Doel

3.2.1 Beschrijf het directe en het uiteindelijke doel van het project. Beschrijf de bijdrage van het behalen van het directe doel aan het uiteindelijke doel.

- Indien het directe doel bestaat uit verschillende subdoelstellingen, benoem deze dan hier.

De directe doelen van het voorgestelde project zijn:

- 1) Het aanleren en onderhouden van gevalideerde technieken
- 2) Het ontwikkelen van nieuwe technieken

De uiteindelijke doelen van het voorgestelde project zijn:

- Zorgen dat de bevoegde proefdiermedewerkers bekwaam zijn m.b.t. uitvoeren van algemene biotechnische vaardigheden en de specifieke operatietechnieken (eis Wod).
- Zorgen dat studenten zich kunnen bekwamen in technieken in voorbereiding op het afronden van de opleiding en het bevoegd worden.
- Zorgen dat de dieren door goed getraind personeel behandeld en geopereerd worden. Hierdoor wordt uitval van dieren in de routine-experimenten verminderd, wat leidt tot een reductie in het aantal dieren voor het routineonderzoek.
- Zorgen dat technieken goed getraind zijn, en daardoor zo verfijnd mogelijk uitgevoerd worden.
- Zorgen voor het verzamelen van kwalitatief goede monsters, wat resulteert in goede data. Hierdoor kan er uiteindelijk met zo min mogelijk dieren en zo min mogelijk ongerief onderzoek met hoge kwaliteit uitgevoerd worden.
- Ontwikkelen van operatietechnieken voor routine-experimenten om via canules/katheters herhaaldelijk weinig-invasief te kunnen bemonsteren uit "nieuwe doelweefsels" of voor langere periodes. Hierdoor hoeft niet voor ieder monster een nieuw dier ingezet te worden, wat leidt tot een reductie in het aantal dieren voor het routineonderzoek.



Door het onderhouden en aanleren van bestaande technieken, en door het ontwikkelen van nieuwe technieken, kunnen deze doelen worden behaald.

### 3.2.2 Hoe wordt de haalbaarheid van het directe doel gewaarborgd?

De vergunninghouder is een Nederlandse dochteronderneming van een in de 5.1 lid2h Als internationaal opererende heeft het bedrijf in Nederland een breed scala aan expertises van belang voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen voor klanten. De faciliteiten zijn AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care) geaccrediteerd. Binnen onze instelling is zeer ruime ervaring aanwezig (>10 jaar) met de technieken, het trainen van nieuwe medewerkers en het ontwikkelen van nieuwe technieken.

Bij doel 1 gaat het om technieken die door onze ervaren medewerkers routinematig uitgevoerd worden en waarvoor dus zowel de kennis en kunde als de benodigde infrastructuur in onze instelling aanwezig zijn. De te trainen technieken worden aan nieuwe medewerkers geleerd door ervaren biotechnici. Technieken moeten ook onderhouden worden als deze een lange periode niet routinematig worden uitgevoerd. Het onderhouden is dan essentieel voor de verfijning en vermindering tijdens het routineonderzoek waarin groepen dieren tegelijk worden geopereerd.

Bij doel 2 worden nieuwe technieken door onze ervaren medewerkers ontwikkeld. De ontwikkeling van technieken is altijd met het oog op uiteindelijke vermindering (en verfijning). Ontwikkeling van nieuwe technieken gebeurt altijd in overleg met de dierenarts. De eerste stap van het ontwikkelen van een nieuwe techniek, is de haalbaarheid te bepalen in een dood dier. De overstap naar verdere ontwikkeling in het levende dier (en dus deze projectaanvraag) wordt pas gemaakt op het moment dat technische complicaties en obstakels uitgesloten zijn en de technische handelingen voldoende verfijnd en geoptimaliseerd zijn.

### 3.2.3 Is voor de uitvoering van dit project andere wet- en regelgeving van toepassing die een invloed zou kunnen hebben op het welzijn van de dieren en/of de haalbaarheid van het directe doel?

Nee

Ja > Geef aan welke wet- en regelgeving van toepassing is en beschrijf de effecten daarvan op het welzijn van de dieren en de haalbaarheid van het project.

Om de experimenten die in dit projectvoorstel zijn beschreven uit te kunnen voeren, is het van belang dat de instelling niet alleen aan de *Wet op de dierproeven* voldoet, maar ook aan de *Opiumwet*. De bijbehorende vergunningen zijn aanwezig, waardoor optimale anesthesie en analgesie toegediend kunnen worden en de haalbaarheid geborgd is.

## 3.3 Belang

### 3.3.1 Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelen.

#### Wetenschappelijk belang:

Om met onze specialistische technieken als hersen- of tumormicrodialyse uit zo weinig mogelijk dieren met zo weinig mogelijk ongerief betrouwbare resultaten te genereren, is het essentieel dat alle betrokken medewerkers de technieken beheersen en deze ieder op dezelfde wijze uitvoeren. Om dit doel te bereiken is het van belang dat technieken goed worden aangeleerd en regelmatig worden getraind. Dit levert een belangrijke bijdrage aan de vermindering van het aantal proefdieren (minder variatie in de uitkomsten en minder experimenten die voortijdig moeten worden afgebroken) en verminderd ongerief.

#### Maatschappelijk belang:

Op grond van de Wod is het van belang dat medewerkers die met proefdieren werken bevoegd en bekwaam zijn en hun competenties op peil houden.

Ook heeft deze aanvraag een maatschappelijk educatief belang, onze instelling biedt namelijk stageplaatsen aan voor studenten biotechniek. Het aanleren van toedieningen en microchirurgische technieken vindt plaats op basis van deze vergunningsaanvraag.



3.3.2 Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden wat hun belang is.

- Instelling: voldoen aan Wod, hoogkwalitatief onderzoek doen en aan klanten aan kunnen bieden.
- Biotechnische medewerkers (al bevoegd): bekwaam worden en blijven in de technieken die uitgevoerd worden.
- Studenten: zich bekwamen in technieken in voorbereiding op het afronden van de opleiding en het bevoegd worden.
- Proefdieren in onze andere projectvergunningen worden geopereerd door goed getraind personeel. Grotere groepen dieren worden pas geopereerd op het moment dat de techniek goed aangeleerd is. Minder dieren nodig "door ontwikkeling van nieuwe mogelijkheden herhaaldelijk bemonsteren" en door minder variatie.
- Onderzoekers in onze andere projectvergunningen: goed getrainde medewerkers, hoogkwalitatief experiment voor klanten.
- Klanten kunnen we met goed getrainde medewerkers een hoogkwalitatief experiment bieden, waardoor zij betrouwbare resultaten over hun potentiële toekomstige geneesmiddel(en) krijgen.

### 3.4 Strategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project. Besteed aandacht aan de eventuele fasering in de uitvoering en de samenhang. Vermeld eventuele mijlpalen, keuzemomenten en beslisriteria.

De algemene opzet verschilt voor de directe doelen:

- 1) Het aanleren en onderhouden van gevalideerde technieken
- 2) Het ontwikkelen van nieuwe technieken

1) Bij het aanleren van technieken aan (nieuwe) medewerkers en studenten wordt aan de hand van de actuele en verwachte vraag vanuit de routine-experimenten, samen met de individuele ervaring en vaardigheden bekeken/besloten welke techniek(en) aangeleerd worden, dit wordt bijgehouden in een individueel trainingsdocument. Het aanleren van nieuwe vaardigheden en (operatie)technieken gebeurt altijd onder begeleiding van een ervaren medewerker.

- Er wordt begonnen met de algemene biotechnische vaardigheden, zoals toedienen, bloedafname en termineren.

- Vervolgens worden er veelvoorkomende operatietechnieken getraind, zoals het plaatsen van een canule/katheter (o.a. in de hersenen, in een perifere orgaan of bij de rat in de vena jugularis). Hierbij worden alle operatie-aspecten betrokken.

- Als laatste komen de complexere operaties aan bod (niet voor studenten), zoals combinaties van de implantaties en het plaatsen van een katheter in de vena jugularis/femoralis of een canule in de cisterna magna bij de muis. Recent ontwikkelde technieken en het implementeren van gevestigde technieken van elders vallen hier ook onder.

Technieken die niet regelmatig (gedurende het jaar) uitgevoerd worden, kunnen door te trainen op één of enkele dieren worden onderhouden. Ook bij het onderhouden van de bestaande vaardigheden wordt het trainingsdocument gebruikt.

2) Ontwikkelen van nieuwe technieken: Het ontwikkelen van nieuwe technieken wordt altijd door ervaren medewerkers gedaan in overleg met de dierenarts. Vaak gaat het hierbij om de implantatie van een katheter of canule in een voor ons nieuw doelweefsel of doelorgaan.

Nieuwe technieken worden volgens een stappenplan ontwikkeld:

- 1) Theoretisch ontwerp en voorbespreking.
- 2) Bepalen van haalbaarheid door uitvoeren van het ontwerp in een dood dier.
- 3) Uitvoeren van de operatie onder terminale anesthesie.
- 4) Indien de operatie technisch voldoende verfijnd is en het te verwachten postoperatieve ongerief niet hoger dan matig is, kan het dier bijkomen na de operatie. Dit voor observatie van postoperatief herstel en het valideren van de techniek.



- 5) Wanneer technische handelingen (en eventueel bijkomen) na de operatie voldoende zijn ontwikkeld, kan de ontwikkelde techniek voor de routinematige experimenten toegepast worden en wordt een standaardprocedure opgesteld door de biotechnici in samenspraak met de dierenarts en de onderzoeker.

Mijlpalen, keuzemomenten en besliscriteria:

- Bij het trainen van gevalideerde technieken wordt door een ervaren medewerker geëvalueerd wanneer de techniek voldoende beheerst wordt en vervolgens als "getraind" afgetekend in het individuele trainingsdocument door deze ervaren medewerker.
- Bij het ontwikkelen van nieuwe technieken wordt door de ervaren medewerker in samenspraak met de dierenarts en eventueel de onderzoeker ieder stap geëvalueerd. Een volgende stap wordt pas genomen als alle betrokkenen daar mee akkoord zijn.
- Voor beide doelen geldt: bij experimenten waar gepland is om het dier te laten bijkomen uit de anesthesie, wordt eerst door een ervaren medewerker en/of de dierenarts bepaald of dit verantwoord is en of het te verwachten ongerief niet hoger dan matig is.

#### 3.4.2 Onderbouw de gekozen strategie.

Het aanleren, onderhouden en ontwikkelen van de technieken is van belang voor het goed kunnen uitvoeren van de toekomstige experimenten die essentiële informatie moeten leveren waarop onze klanten beslissingen nemen over de verdere ontwikkeling van hun potentiële geneesmiddelen. Goede bekwaamheid levert:

- betrouwbare en reproduceerbare experimentele gegevens
- een minimaal gebruik van het aantal benodigde proefdieren voor deze gegevens
- een verfijning van de toegepaste technieken in de routine-experimenten

Door het trainingsprogramma per medewerker individueel te bepalen aan de hand van ervaring en vaardigheden, door individuele begeleiding door ervaren medewerkers, en door evaluatie na elke trainings-/ontwikkelingsoperatie, wordt gewaarborgd dat zo min mogelijk dieren met zo min mogelijk ongerief gebruikt worden om de vaardigheden aan te leren en te onderhouden en nieuwe technieken te ontwikkelen.

#### 3.4.3 Benoem de type dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Titel bijlage Beschrijving dierproef
1	Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden
2	Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	





## 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)
- Of neem telefonisch contact op (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1 lid2h

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

5.1 lid2h

1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.

Volgnummer	Titel dierproef
------------	-----------------

1	Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden
---	--

*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.



**Aanpak:**

Binnen onze instelling voeren wij experimenten uit met als doel potentiële geneesmiddelen te onderzoeken die bedoeld zijn voor verschillende ziekten. De experimenten bestaan over het algemeen uit microchirurgische implantatie van canules of katheters, gevolgd door toediening van een potentieel geneesmiddel en het verzamelen van monsters en/of experimentele gegevens. Deze technieken vereisen specialistische kennis en vooral vaardigheden van de proefdiermedewerkers.

Bij het aanleren van technieken aan (nieuwe) medewerkers en stagiaires wordt aan de hand van de actuele en verwachte vraag vanuit de routine-experimenten, samen met de individuele ervaring en vaardigheden bekeken/besloten welke techniek(en) aangeleerd worden, dit wordt gedocumenteerd in een individueel trainingsdocument. Bij het aanleren van nieuwe vaardigheden en (operatie)technieken is altijd ervaren begeleiding aanwezig. Na afloop beoordeelt deze ook of de techniek goed is aangeleerd en uitgevoerd.

- Er wordt begonnen met de algemene biotechnische vaardigheden, zoals injecteren, bloedafname en termineren.

- Bij goede beheersing wordt begonnen met het trainen van in onze instelling veelvoorkomende operatietechnieken, zoals het plaatsen van een canule/katheter in een rat (o.a. in de hersenen, in een perifere orgaan of in de vena jugularis/femoralis). Hierbij worden alle operatie-aspecten betrokken. Ook worden operaties bij de muis getraind in deze fase (canule in de hersenen, en perifere).

- Vervolgens komen de complexere operaties aan bod (niet voor studenten), zoals combinaties van de implantaties en het plaatsen van een katheter in de vena jugularis/femoralis of een canule in de cisterna magna bij de muis. Ook recent ontwikkelde technieken en het implementeren van gevestigde technieken van elders vallen hieronder.

Technieken die niet regelmatig (gedurende het jaar) uitgevoerd worden, kunnen door te trainen op een of enkele dieren worden onderhouden. Ook bij het onderhouden en verfijnen van de al bestaande vaardigheden wordt het trainingsdocument gebruikt.

De **primaire uitkomstparameter** van de voorgestelde experimenten is dat een medewerker zich bekwaamd heeft in de uitvoering van een bepaalde techniek met inachtneming van een minimalisering van het ongerief voor het dier.

---

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.

---



Na aankomst in het vivarium volgt een acclimatisatiefase van minimaal 7 dagen, waarin de dieren de tijd krijgen om te wennen aan hun nieuwe kooi, voeding en andere omgevingsfactoren. Voor aanvang van de training wordt besloten welke handelingen getraind zullen worden. Alle gebruikte methoden voor implantatie, toediening, monsterafname, anesthesie, euthanasie, verzamelen van bloed en CSF, uitname van hersen- en ander weefsel zijn gedocumenteerd in standaardprocedures. Voor niet-terminale operaties geldt dat ze pas gepland kunnen worden als de techniek terminaal al goed getraind is.

Tijdens het onderzoek **kunnen** de volgende handelingen worden uitgevoerd/getraind:

- **Algemene biotechnische vaardigheden:**

De volgende toedieningstechnieken worden in het wakkere dier getraind, bijvoorbeeld subcutaan, intraperitoneaal, oraal (per gavage), intraveneus, intramusculair. Daarnaast worden intrathecale toedieningen onder lichte isofluraanesthesie (roesje) getraind. Bij neonatale dieren worden toedieningen zoals intracerebroventriculair en intraveneus, altijd terminaal onder cryo-anesthesie getraind.

- **Operatie:**

Het dier wordt eenmalig onder diepe anesthesie gebracht door middel van isofluraaninhalatie. Tevens worden een systemisch analgeticum en topicale analgesie toegepast en het dier wordt subcutaan met 0.9% zoutoplossing verzorgd (om dehydratie te voorkomen). De operatie vindt plaats op een verwarmde ondergrond en indien de te verwachten operatieduur meer dan 30 minuten is met individuele temperatuurcontrole. In de training worden alle operatie-aspecten betrokken, inclusief de uitvoering onder aseptische condities.

1. Voorbereidende fase: Het doelgebied wordt vrijgeprepareerd en een lokaal analgeticum toegepast. Voor bijvoorbeeld de hersenen, wordt het dier in een stereotactisch frame geplaatst, waarna er een zo klein mogelijke incisie gemaakt wordt in de hoofdhuid, dit wordt lokaal verdoofd met een analgeticum. Het periost wordt verwijderd en met een trepaanboor wordt een gaatje geboord in de schedel boven het hersengebied en de meninges worden voorzichtig met de tip van een naald geopend.
2. Implantatiefase: Vervolgens worden canules en/of katheters geplaatst. Voor bijvoorbeeld de hersenen gebeurt dit met behulp van het stereotactisch frame. De canule wordt exact boven het hersengebied gepositioneerd en langzaam de hersenen binnengebracht. De canule wordt met speciaal biocompatibele polymeer vastgezet. De binding tussen de schedel en canule wordt versterkt door het bevestigen van een of meerdere schroefjes in de schedel.
3. Afrondende fase: Na het plaatsen van de canule wordt de huidopening gesloten. Voor bijvoorbeeld de hersenen, gebeurt dit in de rat met hecht draad en in de muis met biocompatibel polymeer.
4. Einde operatie, het dier wordt getermineerd (zie onder bij "Termineren"), tenzij verdere handelingen vooraf gepland zijn:
  - a. Monsterafname onder anesthesie: Als de te trainen techniek vereist dat het dier onder anesthesie blijft tijdens de monsterafname zal het bemonsteren direct aansluitend aan de operatie plaatsvinden. De ingrepen samen duren minder dan een werkdag, waarna het dier getermineerd wordt (zie onder bij "Termineren").
  - b. Als het doel van de training ook is om het postoperatieve herstel en de functionaliteit van de geïmplanteerde canules te monitoren, wordt hier door de ervaren medewerker beoordeeld of het dier mag bijkomen uit de anesthesie (zie bij "Bijkomen uit anesthesie"). Een operatie waarna het dier mag bijkomen duurt maximaal 2 uur.

- **Bijkomen uit anesthesie, monitoren van postoperatief herstel en functionaliteit canules/katheters:**

Bij sommige technieken is het essentieel om dieren te laten bijkomen uit anesthesie om de operatietechniek te valideren (bijvoorbeeld bij het plaatsen van intrathecale canules, alleen bij het bijkomen kan een complicatie als verlamming worden ontdekt) of de functionaliteit van canules/katheters in het wakkere dier te valideren.



Dit zal alleen gebeuren in overleg met de dierenarts. Het laten bijkomen en monsterafname/validatie gebeurt volgens de volgende stappen:

1. Recovery. Tijdens het bijkomen uit de anesthesie worden de dieren warm gehouden door middel van een warmtemat en geobserveerd op tekenen van ongerief. Wanneer de dieren volledig wakker zijn, en geen tekenen van ongerief vertonen worden zij in een experimentele kooi gehuisvest. Herstel is minstens tot de volgende ochtend.
2. Monsterafname. Om de functionaliteit van de geïmplanteerde canules/katheters te valideren, kunnen enkele monsters genomen worden op de dag/dagen na de operatie. Hierbij moet vooral worden gelet op het welzijn van de dieren (aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP *Animal discomfort and humane endpoints*) en de monstersamenstelling. Als het nodig is om te valideren dat de canules/katheters ook gedurende langere tijd functioneel blijven ten behoeve van langere routine-experimenten, wordt er voor een maximum van 5 dagen (aansluitend aan de operatie onder anesthesie plus 4 dagen daarna in het wakkere dier) bemonsterd.

• **Termineren:**

Aan het eind van het experiment wordt het dier onder anesthesie getermineerd, meestal met barbituraat, in sommige gevallen door middel van intracardiale perfusie, door of onder begeleiding van een ervaren proefdiermedewerker. De relevante organen kunnen worden verwijderd om de plaatsing van de canules/katheters te verifiëren. Ook kan terminaal het verzamelen van bloed, CSF, en terminale weefselmonsters getraind worden.

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

Aangezien het in deze projectaanvraag niet gaat om het beantwoorden van een wetenschappelijke vraag, maar om het trainen van individuele medewerkers, zal elk "experiment" bestaan uit één dier. Een ervaren biotechnicus of de dierenarts zal na elke trainingssessie (experiment) bepalen of de medewerker die het experiment uitvoert competent is om de techniek in routineonderzoek toe te passen. Wanneer de uitvoerende competent wordt bevonden, wordt dit in een trainingsdocument bijgehouden. Op basis van dit document kan de noodzaak voor verdere training of uitvoering van de techniek worden bepaald. Bij operaties die terminaal gepland zijn, worden indien mogelijk verschillende technieken achtereenvolgens door meerdere medewerkers op één geanestheesd dier getraind.

**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	1	volwassen	400	M/V	nee	
			neonataal	100			
2	rat	volwassen	500				
		neonataal	100				

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Muis en rat zijn de diersoorten die gebruikt worden in de experimenten waarvoor hier de technieken aangeleerd/onderhouden worden. Daarom zullen deze soorten ook in deze projectvergunning voor het aanleren/onderhouden van de technieken ingezet worden.
Herkomst	Alle dieren zullen worden verkregen van erkende instellingen voor het fokken van proefdieren.
Levensstadia	Voor het aanleren/onderhouden van de technieken zullen we dieren uit hetzelfde levensstadium gebruiken als waarin de techniek later in routine-experimenten toegepast zal worden. Veelal zijn dat (jong)volwassen dieren, maar ook neonatale dieren. Eenmalige toedieningen in neonatale dieren worden specifiek getraind met dieren van hetzelfde ontwikkelingsstadium.



Aantal	<p>Per techniek verwachten we verschillende aantallen dieren nodig te hebben tot de vaardigheid voldoende beheerst wordt. Bij technisch uitdagendere operaties zullen meer dieren nodig zijn. Meerdere medewerkers kunnen verschillende technieken op één dier trainen, bijvoorbeeld het plaatsen van een vena jugularis-katheter door één medewerker, gevolgd door het plaatsen van een canule in de hersenen door een andere medewerker. Momenteel worden rond 15 operatietechnieken routinematig uitgevoerd door 10 medewerkers die deze technieken beheersen of moeten aanleren.</p> <p>Uitgaande van gemiddeld op jaarbasis 1 nieuwe medewerker en 2 studenten die 6 van de technieken zullen aanleren, met gemiddeld 8 trainingssessies voor het aanleren van een nieuwe techniek (3 personen * 6 technieken * 8 sessies * 5 jaar = 720 procedures) en 10 medewerkers die met ongeveer 2 trainingssessies ongeveer 3 operatietechnieken onderhouden die niet regelmatig in het routineonderzoek uitgevoerd zijn (10 personen * 3 technieken * 2 sessies * 5 jaar = 300 procedures), en het trainen van 2 à 3 procedures op één dier, komen we op 400 à 500 volwassen dieren per soort over een periode van 5 jaar. De meeste technieken worden eerst op ratten getraind voordat ze op muizen getraind worden en bovendien zijn niet alle technieken van toepassing op muizen, daarom vragen we voor dit project meer ratten dan muizen aan.</p> <p>Bij neonatale dieren worden toedieningen altijd terminaal getraind op steeds 1-3 pups tegelijk uit een nest (zodat de moeder niet te vaak gestoord wordt). Bij 2 trainingssessies voor 2 medewerkers per jaar die een van de twee technieken aanleren (2 personen * 6 pups * 1 techniek * 5 jaar = 60 pups) en 3 trainingssessies per jaar voor ervaren medewerkers die ze onderhouden (3 sessies * 3 pups * 5 jaar = 45 pups), komen we op rond de 100 pups per soort over een periode van 5 jaar.</p>
Geslacht	Er zal in zowel mannelijke als vrouwelijke dieren getraind worden, afhankelijk van de beschikbaarheid van de dieren. In gevallen waarbij de techniek later specifiek toegepast zal worden in dieren van een bepaald geslacht, zoals tumormodellen in vrouwelijke dieren, worden dieren van het relevante geslacht voor de training gebruikt.
Genetisch gewijzigd	Niet van toepassing
Stam	Veelgebruikte stammen zijn C57Bl/6 bij de muis en Wistar en Sprague-Dawley bij de rat. Als dat relevant is voor de techniek, en/of er andere dieren beschikbaar zijn, kunnen ook andere stammen gebruikt worden.

### 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.

Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal getraind en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact. Daarnaast wordt altijd kooiverrijking aangeboden aan de dieren.



#### 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.

Operaties vinden altijd onder diepe algehele anesthesie plaats. Vooral het verwijderen van de periost en de incisie van de (hoofd)huid veroorzaken pijn bij de dieren. Pijnbestrijding vindt plaats door toediening van een langwerkend systemisch analgeticum voor aanvang van de operatieve ingreep en topicale anestheticum op de plaats van de operatieve ingreep.

In het geval dat we het dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen bij al voldoende getrainde technieken en indien het postoperatieve herstel geëvalueerd dan wel monsterafname getraind dient te worden) wordt optimale pijnbestrijding na de operatie gecontroleerd op basis van uiterlijk en gedrag van de dieren, en eventueel aangevuld als nodig.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Bijkomen uit anesthesie is een bekende oorzaak van stress voor de dieren.
2. Na ontwaken uit de anesthesie worden de dieren individueel gehuisvest om te voorkomen dat zij elkaars implantaten of chirurgische wonden beschadigen bij sociale interacties. Individuele huisvesting is een bekende vorm van verminderd dierenwelzijn en moet zo beperkt mogelijk worden ingezet.
3. Het trainen van toedieningsroutes of monsterafname via de geïmplanteerde canules of katheters door de medewerkers in opleiding zou het welzijn kunnen verminderen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Oorzaken voor ongerief bij bijkomen uit anesthesie zijn gerelateerd aan de tijdelijk veranderde fysiologie van het lichaam, het lichaam heeft een aantal uren nodig om de homeostase te herstellen.
2. Het knagen aan implantaten en onderling vechten hebben te maken met normaal sociaal gedrag van de dieren, dit is moeilijk anders tegen te gaan dan door individuele huisvesting.
3. Medewerkers in opleiding kunnen meer stress, angst en/of pijn veroorzaken bij het dier dan al ervaren medewerkers bij toedieningen of monsterafname via de geïmplanteerde canules of katheters.

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

1. Om het ongerief bij het bijkomen uit anesthesie te minimaliseren komen de dieren bij in een rustige en verwarmde omgeving waar ze toegang hebben tot voedsel en water. De dieren krijgen voor de operatie pijnstilling toegediend. De dieren worden regelmatig gecontroleerd tot ze fit genoeg zijn om in een experimentele kooi te worden geplaatst.
2. Na de operatie duren de experimenten meestal nog hoogstens een dag om herstel te observeren en/of monsterafname te trainen of te testen. Daardoor blijft de duur van individuele huisvesting beperkt. Indien de monsterafname in het wakkere dier langer duurt (maximaal 4 dagen) worden de dieren per paar (met een buddy) gehuisvest in een kooi met een geperforeerde perspex scheidingswand voor beperkt fysiek contact met behoud van olfactorische, auditieve en visuele interactie tussen de dieren, zodat de implantaten niet kunnen worden beschadigd.
3. Goede begeleiding bij toedieningen en monsterafname.

#### 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 dieren worden beoordeeld aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP *Animal discomfort and humane endpoints*.

Tijdens de operaties: vroegtijdig bijkomen uit de diepe inhalatie-anesthesie, het niet meer zelfstandig ademen na een periode van ademhalingsondersteuning, convulsies of sterke bloedingen zijn redenen voor het toepassen van een humaan eindpunt.

In het geval dat we het dier laten bijkomen na de operatie, wordt een humaan eindpunt toegepast bij:

- het loskomen van canules of katheters;
- het loskomen van hechtingen gepaard gaand met grote verwondingen;
- convulsies;
- verlamming;
- algehele slechte conditie van het dier na operatie (op basis van parameters zoals gewicht (meer dan 15% gewichtsverlies), vacht, oogkleur, huidskleur, lichaamstemperatuur en gedrag).

---

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

0-5%, bij deze operaties zijn altijd meerdere medewerkers betrokken die tijdig kunnen ingrijpen om een kritieke situatie te vermijden.

In het geval dat we dieren laten bijkomen na de operatie wordt het dier geobserveerd tot de ervaren medewerker zeker is dat het dier stabiel is, of het dier wordt getermineerd. De borging van apparatuur, protocollen, veiligheid en kennis van de ervaren medewerkers maken dat het risico op dergelijke eindpunten klein is, maar ze kunnen niet volledig worden uitgesloten.

---

#### **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.

De volgende aspecten van deze experimenten zijn meegenomen in de overweging voor de ongerief classificatie:

In het geval van terminale procedures: terminaal.

Bij de dieren die we laten bijkomen uit de anesthesie is het cumulatieve ongerief voor alle dieren als matig in te schatten:

Injectietechnieken (licht)

Onder anesthesie brengen (licht)

Bijkomen uit anesthesie (matig)

Postoperatieve individuele huisvesting (licht)

Handling ten behoeve van monsterafname (licht)

Toedienen van een barbituraat onder anesthesie (terminaal)

Volwassen dieren (rat/muis):

Terminaal 85%

Matig 15%

Neonatale dieren (rat/muis): 100% terminaal

---

#### **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	<p>Volledige vervanging voor deze experimenten is niet mogelijk omdat het gaat om het aanleren en onderhouden van <i>in vivo</i> technieken. De vaardigheden worden waar mogelijk zonder dierproeven aangeleerd:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- hechten oefenen op bijvoorbeeld een spons;</li> <li>- toedienen oefenen op kunstratten of plastic modellen;</li> <li>- computersimulaties of instructievideo's voor anatomische lessen en kennismaken met technieken;</li> <li>- meekijken bij de uitvoering van de techniek door een ervaren medewerker.</li> <li>- operaties en hechten oefenen op een recent getermineerd dier.</li> </ul> <p>Uiteindelijk worden de technieken aangeleerd zodat ze in een levend dier kunnen worden toegepast. Trainen en beoordelen of iemand bekwaam is in het uitvoeren van een techniek kan daarom alleen gebeuren wanneer gebruik wordt gemaakt van een levend dier.</p>
Vermindering	<p>Doordat na iedere training wordt geëvalueerd, wordt veiliggesteld dat zo min mogelijk dieren voor het trainen van iedere techniek gebruikt worden.</p> <p>Meerdere medewerkers kunnen verschillende technieken op één dier trainen, bijvoorbeeld het plaatsen van een vena jugularis-katheter door één medewerker, gevolgd door het plaatsen van een canule in de hersenen door een andere medewerker.</p> <p>Tenslotte zal verdere vermindering van dierproeven en proefdieren vooral merkbaar zijn bij het uitvoeren van de routine-experimenten (onder andere projectvergunningen). Doordat alle medewerkers goed getraind zijn volgens de standaardprocedures, worden uitval en variatie in de routine-experimenten verlaagd.</p>
Verfijning	<p>Bij het aanleren van nieuwe (operatie)technieken is altijd ervaren begeleiding aanwezig. Om negatieve gevolgen voor de dieren na de operatie te vermijden, laten we ze alleen uit de narcose bijkomen als de operatietechniek al goed aangeleerd is, en altijd met pijnstilling en onder observatie.</p> <p>Door het trainen van medewerkers en het optimaliseren van technieken draagt deze aanvraag bij aan verfijning van experimenten in onze andere projecten: door het aanleren en onderhouden van de operatietechnieken is het mogelijk om in routine-experimenten operaties met kortere anesthesieduur en zo min mogelijk weefselschade uit te voeren waardoor er minder ongerief voor de dieren ontstaat.</p>

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.

Het is soms mogelijk om voor deze experimenten dieren in te zetten die in eerdere experimenten zijn ingezet. Hergebruik is mogelijk omdat het verfijnen van vaardigheden het hoofddoel is van de experimenten en niet het verzamelen van experimentele gegevens.

Alleen als de te trainen/onderhouden techniek minimaal uitgevoerd wordt, kunnen dieren uit eerdere experimenten ingezet worden. Dit wordt alleen gedaan wanneer het ongerief in de voorgaande proef hooguit "matig" was en vooraf is vastgesteld dat de dieren geen resterend ongerief hebben overgehouden.

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.

Niet van toepassing.

### 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.

Post-mortem onderzoek aan de dieren levert belangrijke informatie over de bekwaamheid van de medewerker: is het juiste doelgebied bereikt, is de canule of katheter juist geplaatst met minimale schade aan het omringende weefsel?

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.

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

Nee > Beschrijf de dodingsmethode

Volwassen dieren worden onder isofluraan-anesthesie gedood door middel van een intracardiale barbituraat-overdosis of intracardiale perfusie. Neonatale dieren worden onder cryo-anesthesie gedecapiteerd.

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.





## 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)
- Of neem telefonisch contact op (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1 lid2h

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

5.1 lid2h

1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.

Volgnummer	Titel dierproef
------------	-----------------

2

Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

*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.



**Aanpak:**

Binnen onze instelling voeren wij experimenten uit met als doel potentiële geneesmiddelen te onderzoeken die bedoeld zijn voor verschillende ziekten. De experimenten bestaan over het algemeen uit microchirurgische implantatie van canules of katheters, gevolgd door toediening van een potentieel geneesmiddel en het verzamelen van monsters en/of experimentele gegevens. Door gebruik te maken van deze technieken, worden meerder monsters uit 1 dier verzameld worden en hiermee wordt het totaal aantal benodigde dieren gereduceerd.

Op basis van onze ervaringen en kennis van deze technieken, hebben we in het verleden al op meerdere gebieden dit toegepast (initieel in hersenen, vervolgens ook perifeer). De meeste nieuwe technieken worden ontwikkeld met het oog op vermindering, zoals het implanteren van een T13 canule en een tumorcanule (beide ontwikkeld in AV 5.1 lid 2h). Met deze technieken kunnen we uit een dier meerdere monsters verzamelen en hoeven er niet voor ieder tijdstip dieren getermineerd te worden. Op deze wijze is het mogelijk om dezelfde informatie te verkrijgen met significant minder benodigde dieren.

Op vergelijkbare wijze als in het verleden, willen we nieuwe technieken ontwikkelen in andere organen en/of geschikt maken voor bemonsteren over een langere periode. Bijvoorbeeld een canule plaatsen in de nier en daarmee gedurende langere tijd in een vrij bewegend dier monsters afnemen om test stof (effecten) te evalueren. De algemene opzet van het ontwikkelen van een nieuwe techniek volgt de volgende stappen.

- In een recent getermineerd dier de route van implantatie bepalen
- Als de optimale route is vastgesteld, wordt deze in een dier onder anesthesie toegepast. Eventueel inclusief monster afname onder anesthesie om de werkzaamheid van de canule te bevestigen.
- Daarna wordt in overleg met de dierenarts besloten of we een dier laten bijkomen. In eerste instantie wordt dan het welzijn van het dier geëvalueerd en vervolgens ook de technische aspecten.

De **primaire uitkomstparameter** van de voorgestelde experimenten is dat een nieuwe techniek zodanig ontwikkeld en verfijnd wordt, zodat deze gebruikt kan worden in routine-experimenten. Daarbij wordt deze aan meerdere medewerkers aangeleerd (onder bijlage 1 van deze aanvraag). Door met de nieuwe techniek meerdere monsters te verzamelen uit 1 dier, kunnen er in de routine-experimenten dieren bespaard worden.

---

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.



Na aankomst in het vivarium volgt een acclimatisatiefase van minimaal 7 dagen, waarin de dieren de tijd krijgen om te wennen aan hun nieuwe kooi, voeding en andere omgevingsfactoren. Voor niet-terminale operaties geldt dat ze pas gepland kunnen worden als de techniek terminaal al goed ontwikkeld is. Tijdens het onderzoek kunnen de volgende handelingen worden uitgevoerd:

#### **Operatie:**

Het dier wordt eenmalig onder diepe anesthesie gebracht door middel van isofluraaninhalatie. Tevens worden een systemisch analgeticum en topicale analgesie toegepast en het dier wordt subcutaan met 0.9% zoutoplossing verzorgd. De operatie vindt plaats op een verwarmde ondergrond met individuele temperatuurcontrole.

Bij nog te ontwikkelen operatietechnieken is het exacte verloop moeilijk aan te geven, maar meestal zal het gaan om het implanteren van canules of katheters in voor onze instelling "nieuwe" doelweefsels of doellocaties. Veelal zal daardoor een soortgelijk stappenplan van toepassing zijn zoals we in het verleden gevolgd hebben bij de ontwikkeling voor de implantatie van de T13- en de tumor canule:

1. Voorbereidende fase: Het doelgebied wordt vrijgeprepareerd en een lokaal analgeticum toegepast. Voor bijvoorbeeld het subcutaan plaatsen van de canule: een zo klein mogelijke incisie wordt gemaakt in de huid achter de schouder.
2. Implantatiefase: Vervolgens wordt de canule of katheter geplaatst. Voor subcutaan: De canule wordt gepositioneerd in het doelgebied achter de schouder. Vervolgens wordt de canule onderhuids getunneld naar de kop, waar deze met speciaal biocompatibele polymeer wordt vastgezet. De binding tussen de schedel en canule wordt versterkt door het bevestigen van een of meerdere schroefjes in de schedel.
3. Afrondende fase: Na het plaatsen van de canule wordt deze gefixeerd in het doelgebied en worden de incisie(s) gesloten, met hecht draad of weefsellijm.
4. Einde operatie, het dier wordt getermineerd (zie onder bij "Termineren"), tenzij verdere handelingen vooraf gepland zijn:
  - a. Monsterafname onder anesthesie: Als de te ontwikkelen techniek vereist dat het dier onder anesthesie blijft tijdens de monsterafname zal het bemonsteren direct aansluitend aan de operatie plaatsvinden. De ingrepen samen duren maximaal één werkdag, waarna het dier getermineerd wordt (zie onder bij "Termineren").
  - b. Als het doel van het experiment ook is om het postoperatieve herstel en de functionaliteit van de geïmplanteerde canules te monitoren, wordt hier beoordeeld of het dier mag bijkomen uit de anesthesie (zie bij "Bijkomen uit anesthesie"). Een operatie waarna het dier mag bijkomen duurt maximaal 2 uur.

#### **Bijkomen uit anesthesie, monitoren van postoperatief herstel en functionaliteit canules:**

Bij sommige technieken is het essentieel om dieren te laten bijkomen uit anesthesie om de operatietechniek te valideren (alleen bij het bijkomen kunnen eventuele complicaties worden ontdekt) of de functionaliteit van canules te valideren. Dit zal alleen gebeuren in overleg met de dierenarts. Het laten bijkomen en monsterafname/validatie gebeurt volgens de volgende stappen:

1. Recovery. Tijdens het bijkomen uit de anesthesie worden de dieren warm gehouden door middel van een warmtemat en geobserveerd op tekenen van ongerief. Wanneer de dieren volledig wakker zijn, en geen tekenen van ongerief vertonen worden zij in een experimentele kooi gehuisvest. Herstel is minstens tot de volgende ochtend.
2. Monsterafname. Om de functionaliteit van de geïmplanteerde canules te valideren, kunnen enkele monsters genomen worden op de dag na de operatie. Hierbij moet vooral worden gelet op het welzijn van de dieren (aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP *Animal discomfort and humane endpoints*) en de monstersamenstelling.

#### **Termineren:**

Aan het eind van het experiment wordt het dier onder anesthesie getermineerd met een barbituraat, zodat de relevante organen kunnen worden verwijderd om de plaatsing van de canules/katheters te verifiëren.

---

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



Aangezien het in deze projectaanvraag niet gaat om het beantwoorden van een wetenschappelijke vraag, maar om het ontwikkelen van nieuwe technieken, zal elk "experiment" bestaan uit één dier.

Pas nadat eerst bij dode dieren technische complicaties/obstakels uitgesloten zijn en de technische handelingen voldoende verfijnd en geoptimaliseerd zijn, zullen technieken op levende dieren verder ontwikkeld worden. Na iedere operatie wordt in overleg met de dierenarts bepaald wat de volgende ontwikkelingsstap is, dan wel of ontwikkeling afgerond is. Als besloten wordt dat de ontwikkeling positief is afgerond, zal de nieuwe techniek toegevoegd worden aan onze standaardprocedures.

## 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	1	volwassen	25	M/V	nee	
2	rat		volwassen	50			

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Muis en rat zijn de diersoorten die gebruikt worden in de experimenten waarvoor hier de technieken ontwikkeld worden. Daarom zullen deze soorten ook in deze projectvergunning voor het ontwikkelen van de technieken ingezet worden.
Herkomst	Alle dieren zullen worden verkregen van erkende instellingen voor het fokken van proefdieren.
Levensstadia	Voor het ontwikkelen van de technieken zullen we dieren uit hetzelfde levensstadium gebruiken als waarin de techniek later in routine-experimenten toegepast zal worden. Veelal zijn dat (jong)volwassen dieren.
Aantal	Per techniek verwachten we verschillende aantallen dieren nodig te hebben tot deze voldoende ontwikkeld is. Technieken worden op steeds 1 dier tegelijk ontwikkeld. Uitgaande van het ontwikkelen van ongeveer twee nieuwe methodes per jaar met gemiddeld 5 dieren per methode komen we op 50 ratten over een periode van 5 jaar. Meestal begint methode-ontwikkeling in de rat, ook omdat niet alle technieken geschikt zijn om in muizen toe te passen. Bij het ontwikkelen van één methode per jaar in gemiddeld 5 muizen komen we op 25 muizen over een periode van 5 jaar.
Geslacht	Er zal in zowel mannelijke als vrouwelijke dieren ontwikkeld worden, afhankelijk van de beschikbaarheid van de dieren. In gevallen waarbij de techniek later specifiek toegepast zal worden in dieren van een bepaald geslacht, zoals tumormodellen in vrouwelijke dieren, worden dieren van het relevante geslacht voor de training gebruikt.
Genetisch gewijzigd	Niet van toepassing
Stam	Veelgebruikte stammen zijn C57Bl/6 bij de muis en Wistar en Sprague-Dawley bij de rat. Als dat relevant is voor de techniek en/of er andere dieren beschikbaar zijn, kunnen ook andere stammen gebruikt worden.

## 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.



Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal ontwikkeld en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. Het testen van de monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur.

#### 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.

Operaties vinden altijd onder diepe algehele anesthesie plaats. Vooral het verwijderen van de periost en de incisie van de (hoofd)huid veroorzaken pijn bij de dieren. Pijnbestrijding vindt plaats door toediening van een langwerkend systemisch analgeticum voor aanvang van de operatieve ingreep en topicale anestheticum op de plaats van de operatieve ingreep.

In het geval dat we het dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen bij al voldoende ontwikkelde technieken en indien het postoperatieve herstel geëvalueerd dan wel toediening en/of monsterafname getest dienen te worden) wordt optimale pijnbestrijding na de operatie gecontroleerd op basis van uiterlijk en gedrag van de dieren, en eventueel aangevuld als nodig.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

In het geval dat we het dier laten bijkomen uit de anesthesie:

1. Bijkomen uit anesthesie is een bekende oorzaak van stress voor de dieren, de uitgevoerde operatie kan ook een rol spelen.
2. Na ontwaken uit de anesthesie worden de dieren individueel gehuisvest om te voorkomen dat zij elkaars implantaten of chirurgische wonden beschadigen bij sociale interacties. Individuele huisvesting is een bekende vorm van verminderd dierenwelzijn en moet zo beperkt mogelijk worden ingezet.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Oorzaken voor ongerief bij bijkomen uit anesthesie zijn gerelateerd aan de tijdelijk veranderde fysiologie van het lichaam, het lichaam heeft minimaal een aantal uren nodig om de homeostase te herstellen.
2. Het knagen aan implantaten en onderling vechten hebben te maken met normaal sociaal gedrag van de dieren, dit is moeilijk anders tegen te gaan dan door individuele huisvesting.

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

1. Om het ongerief bij het bijkomen uit anesthesie te minimaliseren komen de dieren bij in een rustige en verwarmde omgeving waar ze toegang hebben tot voedsel en water. De dieren krijgen voor de operatie pijnstilling toegediend. De dieren worden regelmatig gecontroleerd tot ze fit genoeg zijn om in een experimentele kooi te worden geplaatst. Eventuele additionele pijnstilling wordt gegeven op geleide van uiterlijk en gedrag van de dieren.
2. Na de operatie duren de experimenten meestal nog hoogstens een dag om herstel te observeren en/of monsterafname te testen. Daardoor blijft de duur van individuele huisvesting beperkt (maximaal 36 uur).

#### 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 dieren worden beoordeeld aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP *Animal discomfort and humane endpoints*.

Tijdens de operaties: vroegtijdig bijkomen uit de diepe inhalatie-anesthesie, het niet meer zelfstandig ademen na een periode van ademhalingsondersteuning, convulsies of sterke bloedingen zijn redenen voor het toepassen van een humaan eindpunt.

In het geval dat we het dier laten bijkomen na de operatie, wordt een humaan eindpunt toegepast bij:

- het loskomen van canules of katheters;
- het loskomen van hechtingen gepaard gaand met grote verwondingen;
- convulsies;
- verlamming;
- algehele slechte conditie van het dier na operatie (op basis van parameters zoals gewicht (meer dan 15% gewichtsverlies), vacht, oogkleur, huidskleur, lichaamstemperatuur en gedrag).

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

5-10%.

In het geval dat we dieren laten bijkomen na de operatie wordt het dier geobserveerd tot de ervaren medewerker zeker is dat het dier stabiel is. De borging van apparatuur, protocollen, veiligheid en kennis van de ervaren medewerkers maken dat het risico op dergelijke eindpunten klein is, maar ze kunnen niet volledig worden uitgesloten.

## 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.

De volgende aspecten van deze experimenten zijn meegenomen in de overweging voor de ongerief classificatie:

In het geval van terminale procedures: terminaal.

Bij de dieren die we laten bijkomen uit de anesthesie is het cumulatieve ongerief voor alle dieren als matig in te schatten:

Onder anesthesie brengen (licht)

Bijkomen uit anesthesie (matig)

Postoperatieve individuele huisvesting (licht)

Handling ten behoeve van monsterafname (licht)

Toedienen van een barbituraat onder anesthesie (terminaal)

Terminaal 75%

Matig 25%

## 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	Volledige vervanging voor deze experimenten is niet mogelijk omdat het gaat om het ontwikkelen van <i>in vivo</i> technieken. Bij de initiële ontwikkeling van een nieuwe techniek wordt deze eerst op recent getermineerde dieren uitgevoerd om de haalbaarheid te kunnen bepalen en eventuele complicaties te identificeren.
------------	--



Vermindering	<p>Om voor dit project het aantal dieren tot het minimum te beperken worden technieken eerst zonder het gebruik van levende dieren getest. Bij iedere stap in het ontwikkelproces zal er overleg zijn tussen de biotechnici en de dierenarts.</p> <p>De verdere vermindering van dierproeven en proefdieren zijn vooral merkbaar bij het uitvoeren van de routine-experimenten (onder andere projectvergunningen). De te ontwikkelen technieken zijn er meestal op gericht om door geïmplanteerde canules meerdere monsters uit vrij bewegende dieren te kunnen nemen. Zonder deze operatietechnieken zou de onderzoeksvraag naar meerdere monsters over de tijd alleen beantwoord kunnen worden door op ieder tijdstip een groep dieren te termineren en het relevante orgaan/weefsel uit te nemen. Door cannulatie van de dieren kan een hele tijdserie van deze monsters uit één vrij bewegend dier genomen worden. Bij een studie met 8 tijdstippen scheelt dit dus een factor 8 in benodigde dieren voor dezelfde meetpunten.</p>
Verfijning	<p>Om negatieve gevolgen voor de dieren na de operatie te vermijden, laten we de dieren alleen uit de narcose bijkomen als de operatietechniek al goed ontwikkeld is, en altijd met ruime pijnstilling en onder observatie.</p> <p>Goed ontwikkelde methodes dragen bij aan verfijning in onze routine-experimenten en dus minder ongerief voor de dieren (korte anesthesieduur en minimale weefselschade).</p>

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.

Niet van toepassing.

#### 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.

Post-mortem onderzoek aan de dieren levert belangrijke informatie over de ontwikkeling van de techniek: is het juiste doelgebied bereikt, is de canule of katheter juist geplaatst met minimale schade aan het omringende weefsel?

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.

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

Nee > Beschrijf de dodingsmethode

Alle dieren worden onder isofluraanesthesie gedood met een intracardiale barbituraat-overdosis (pentobarbital).

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.





> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

5.1 lid2h  
5.1 lid2e  
5.1 lid2h



**Centrale Commissie  
Dierproeven**  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD **5.1 lid2h** 202114908  
**Bijlagen**  
2

**Datum** 18 mei 2021  
**Betreft** Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte **5.1 lid2e**,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 5 mei 2021. Het gaat om uw project "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD **5.1 lid2h** 202114908. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

#### **Wacht met de uitvoering van uw project**

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

#### **Factuur**

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.



**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl), stuur een e-mail naar [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl) of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

**Datum:**

18 mei 2021

**Aanvraagnummer:**

AVC51102102114908

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

**Bijlagen:**

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur





### Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 5.1 lid2h

Naam instelling of organisatie: 5.1 lid2h

Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: 5.1 lid2e

Straat en huisnummer: 5.1 lid2h

Postcode en plaats: 5.1 lid2h

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 5.1 lid2e

Functie: 5.1 lid2e

Afdeling: 5.1 lid2h

Telefoonnummer: 5.1 lid2h

E-mailadres: 5.1 lid2e

### Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?  Nieuwe aanvraag  
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

### Over uw project

Geplande startdatum: 1 juli 2021

Geplande einddatum: 30 juni 2026

Titel project: Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

Titel niet-technische samenvatting: Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

Naam DEC:

Postadres DEC:

E-mailadres DEC:

5.1 lid2h

### Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.673,-

De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur



### **Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
- Beschrijving Dierproeven
- Niet-technische samenvatting

### **Ondertekening**

Naam:

5.1 lid2e

Functie:

5.1 lid2e

Plaats:

5.1 lid5

Datum:

4 mei 2021





> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

5.1 lid2h  
5.1 lid2e  
5.1 lid2h



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD 5.1 lid2h 02114908

**Bijlagen**

2

Datum 18 mei 2021  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 18 mei 2021  
Vervaldatum: 17 juni 2021  
Factuurnummer: 2114908

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD 5.1 lid2h 202114908	€ 1.673,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven te 's Gravenhage.



## 5.1 lid2e

6

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** dinsdag 18 mei 2021 09:55  
**Aan:** 5.1 lid2h  
**Onderwerp:** Verzoek om advies over projectvergunningaanvraag AVD 5.1 lid2h 02114908  
**Bijlagen:** Aanvraag\_Projectvergunning\_ training\_ signed.pdf; Formulier\_Projectvoorstel\_ training\_ .pdf; Bijlage 1\_ training\_ .pdf; Bijlage 2\_ training\_ .pdf; NTS\_ training\_ .xlsx

**Categorieën:** Nieuwe aanvragen (of nummer)

Geachte leden van 5.1 lid2h

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening advies te geven over het project met als titel: "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes " en aanvraagnummer: AVD 5.1 lid2h 202114908.

Uw commissie wordt verzocht op grond van artikel 10.a.2 van de Wet op de dierproeven de aanvraag te beoordelen en een ethische toetsing uit te voeren waarbij wordt afgewogen of de doelstelling van het project, de verwachte voordelen voor mens, dier of milieu en de haalbaarheid van de doelstellingen, het gebruik van dieren en de schade die zal worden toegebracht aan de dieren in de vorm van lijden, pijn en angst kan rechtvaardigen.

Graag ontvangen wij van u bericht dat deze e-mail goed is ontvangen en wanneer u dit advies in de vergadering gaat bespreken.

Voor het in te dienen advies dient de DEC gebruik te maken van de meest actuele versie van het op de website van de CCD gepubliceerde Format DEC-advies en de toelichting daarbij. U dient deze aanvraag vertrouwelijk te behandelen. Voor de communicatie met de CCD dient u gebruik te maken van FileSecure.

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 18-05-2021, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommegaande per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager wordt de termijn opgeschort en geeft u in uw advies aan wanneer dit is geweest. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt. Mocht u verwachten door een andere reden dan opschorting uw advies later dan 20 werkdagen na 18-05-2021 bij de CCD in te dienen, dan verzoeken wij u dit direct aan de CCD te melden.

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,  
Centrale Commissie Dierproeven

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

T: 0900 2800028  
E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)



5.1 lid2e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** dinsdag 18 mei 2021 09:56  
**Aan:** 5.1 lid2e  
**Onderwerp:** Verzoek om advies AVD 5.1 lid2h 202114908 verstuurd aan DEC

7

Geachte meneer, mevrouw,

Op 05-05-2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes " met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 202114908.

Uw aanvraag is naar 5.1 lid2h gestuurd. Zij zal hierover advies aan de CCD uitbrengen. Als de DEC vragen heeft, zal zij contact met u opnemen.

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
www.centralecommissiedierproeven.nl

.....  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag  
.....

T: 0900 2800028  
E: info@zbo-ccd.nl



## Format DEC-advies

---

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.*

*Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.*

### A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD **5.1 lid2h** 2021 14908
2. Titel van het project: Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes
3. Titel van de NTS: Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC: **5.1 lid2h**
  - telefoonnummer contactpersoon: **5.1 lid2e**
  - e-mailadres contactpersoon: **5.1 lid2h**
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC: 18-5-2021
  - aanvraag compleet: 18-5-2021
  - in vergadering besproken
  - anderszins behandeld: in online overleg 31-5-2021
  - termijnonderbreking(en) van 6-6-2021 tot 15-6-2021
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
  - aanpassing aanvraag: 15-6-2021
  - advies aan CCD: 29-6-2021
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.  
De aanvraag is afgestemd met de IvD en heeft instemming van de IvD.

*Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest. Bij vragen die gericht zijn op het compleet maken van de aanvraag (aanvullingen achtergrondinformatie etc.) kan bij punten 8 en 9 worden volstaan met de vermelding van het type vragen en de vermelding dat de aanvraag op de desbetreffende onderdelen is aangepast of dat de antwoorden in de aanvraag zijn verwerkt. Bij vragen die gericht zijn op het verkrijgen van verklaringen voor keuzes die door de aanvrager gemaakt worden, kan niet worden volstaan met het weergeven van de strekking van de antwoorden tenzij de antwoorden volledig in de aanvraag zijn opgenomen. Als dat het geval is, moet dat in het DEC advies worden benoemd en in de aanvraag inzichtelijk worden gemaakt.*



8. Eventueel horen van aanvrager: N.v.t.
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager
  - Gestelde vraag / vragen
  - Verstrek(e) antwoord(en)
  - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager
  - Datum: 6-6-2021
  - Gestelde vraag/vragen: zie hieronder
  - Datum antwoord: 15-6-2021
  - Verstrek(e) antwoord(en): zie hieronder
  - De antwoorden hebben wel geleid tot aanpassing van de aanvraag
10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): N.v.t.
  - Aard expertise
  - Deskundigheid expert
  - Datum verzoek
  - Strekking van het verzoek
  - Datum expert advies
  - Advies expert

#### **Onze vragen**

##### Projectbeschrijving

1. Bij 3.2.2: Bij de belanghebbenden ontbreken de proefdieren in dit project. Bij deze vraag worden ook degenen bedoeld die nádele hebben. Wij begrijpen dat deze vraagstelling nieuw is voor u.  
De proefdieren in dit projectvoorstel zijn nu als belanghebbenden bij 3.3.2. toegevoegd, blz. 4 (in blauw in de projectbeschrijving): *Proefdieren in dit projectvoorstel zullen worden geopereerd door medewerkers/studenten die in de specifieke techniek nog minder ervaren zijn. Pas wanneer de operatietechniek voldoende getraind dan wel ontwikkeld is, kunnen we kiezen de dieren te laten bijkomen uit de anesthesie. Daardoor blijft het ongerief voor deze dieren beperkt tot maximaal matig (en meestal terminaal).*
  2. Bij 3.4.1: Kunt u specificeren en onderbouwen wanneer dieren na een ingreep in leven moeten blijven en wakker moet worden uit anesthesie? Graag ontvangt de DEC daarbij informatie over:  
Bij het overzicht van de algemene opzet van het project voert het wat ver om deze informatie voor alle mogelijke situaties in te voegen. Vandaar dat in 3.4.1. nu enkel een voorbeeld ingevoegd is en we verder hier en in de bijlagen een en ander verduidelijken, blz. 5: *Voor sommige operatietechnieken is het om te bepalen of de operatie goed is uitgevoerd van belang dat het dier na de operatie bijkomt uit de anesthesie. Dit is bijvoorbeeld van toepassing bij het plaatsen van intrathecale canules: alleen na het bijkomen kunnen eventuele complicaties als verlamming worden ontdekt. Een dier bij te laten komen na de operatie kan alleen gepland worden als de techniek al eerder terminaal getraind en goed uitgevoerd is.*
- a) Voor welke ingre(e)p(en) is dit aan de orde?



In principe kan het laten bijkomen voor elke operatietechniek aan de orde zijn. In de praktijk wordt dit vooral gedaan als het slagen van de operatie alleen vastgesteld kan worden na het bijkomen (bijv. bij het plaatsen van intrathecale canules, alleen bij het bijkomen kan een complicatie als verlamming worden ontdekt) of als de functionaliteit van de canule/katheter vooral in het wakkere dier getest moet worden (bijv. canule in knie, dan is het belangrijk om te zien of de canule heel blijft als het dier loopt en beweegt).

Zoals aan de percentages terminaal vs. matig in beide bijlagen te zien is, zal na de meeste trainingsoperaties het dier nog onder anesthesie getermineerd worden. Voor het ontwikkelen van nieuwe technieken (bijlage 2) is het van belang dat wordt vastgesteld hoe de haalbaarheid in de uiteindelijke situatie is. Meestal is dat het bemonsteren in vrij bewegende dieren en zal dus voor het succesvol afsluiten van de ontwikkeling het bemonsteren in vrij bewegende dieren gevalideerd worden.

- b) Met welke handelingen na het herstel van de operatie en met welk bijbehorend ongerief? Zie ook de bijlagen. Afhankelijk van de operatietechniek en het beoogde doel kunnen de **handelingen** na het bijkomen uit de anesthesie variëren, bijvoorbeeld:

- het kort controleren op eventuele verlamningsverschijnselen na het plaatsen van een intrathecale canule (kort **observeren** gevolgd door termineren);
- de dag na de operatie het dier kort **hanteren** om een slangetje aan de microdialysecanule aan te sluiten en vervolgens in het vrij bewegende dier te testen of door de canule bemonsterd kan worden. Na maximaal enkele uren weer kort **hanteren** om het slangetje weer te verwijderen, gevolgd door termineren;
- bepalen of een geïmplanteerde canule in de *cisterna magna* ook gedurende meerdere dagen na de operatie te gebruiken blijft om te bemonsteren (een à twee keer per dag kort **hanteren** om een slangetje aan de canule aan te sluiten en CSF te tappen d.m.v. zwaartekracht, gedurende maximaal 4 dagen na de operatie).

Het ongerief van bijkomen uit de anesthesie is matig. De handelingen na het bijkomen veroorzaken hoogstens licht ongerief. Het totale ongerief voor de dieren die bijkomen blijft matig.

- c) Hoe verhoudt zich een succesvolle training ten opzichte van het succespercentage van de functionaliteit van een canule/katheter?

Met de "functionaliteit van canules/katheters" wordt bedoeld of de canule/katheter zodanig is geïmplantéerd, dat deze voor voldoende lange tijd voor monsterafname gebruikt kan worden. Doordat de canules in-house (en de canules voor de in bijlage 1 getrainde standaardoperaties volgens standaardprocedures) met kwaliteitscontrole geproduceerd worden, zijn alle ingezette canules bij aanvang van de operatie functioneel. Een operatie is niet succesvol verlopen als de canule na de implantatie niet gebruikt kan worden voor bemonstering. Afhankelijk van de vaardigheid van de medewerker die wordt getraind is dat ~5% (voor startende medewerker/student) tot ~0.1% (voor de getrainde medewerker). De leercurve is zeer steil.

- d) Heeft u ook overwogen om dit 'wakker worden' en het beoordelen van postoperatief herstel en functionaliteit direct als onderdeel van het experiment op te nemen en indien nodig daar meer dieren in te zetten i.v.m. eventuele onervarenheid van de uitvoerder?

Dit is inderdaad overwogen. Omdat bij onze routine-experimenten meerdere dieren door verschillende medewerkers geopereerd worden en het voor de experimenten van belang is dat dit op een gestandaardiseerde wijze gebeurt (de operatie is in de routine-experimenten geen afhankelijke variabele maar een factor die in alle dieren gelijk behoort te zijn), is het



van belang dat (zoals vermeld bij 3.4.2.) de operatietechnieken voor experimenten standaardmatig en daardoor reproduceerbaar uitgevoerd worden. Zodra de medewerker zich bekwaamd heeft in de specifieke operatietechniek, zal hij/zij mee gaan opereren voor de routine-experimenten.

In het geval van het ontwikkelen van nieuwe technieken (bijlage 2), wordt na het valideren van de techniek wat betreft ongerief na het bijkomen en de mogelijkheid uit de canule/katheter te bemonsteren, de verdere ontwikkeling (met nieuwe dieren) zoveel mogelijk in het kader van een experiment gedaan (en dus niet meer onder deze projectaanvraag).

- e) Dezelfde vraag geldt voor monsterafname. Kunt u uitleggen waaruit blijkt dat een training geslaagd is, waarom dat tot 5 dagen kan duren en waarom ook dit niet als onderdeel van een experiment kan worden gedaan?

Zoals in de bijlagen beschreven: Om de functionaliteit van de geïmplanteerde canules/katheters te valideren, kunnen enkele monsters genomen worden op de dag/dagen na de operatie.

- De training van een *operatietechniek* is goed verlopen als uit de geïmplanteerde canule door een ervaren medewerker bemonsterd kan worden (zie ook bij vraag 2c). Indien (ook) de *monsterafname* zelf getraind wordt, is de training daarvan geslaagd als de monsters het gevraagde volume en te verwachten samenstelling (bijv. geen bloed in CSF-monster) hebben en het dier er geen zichtbaar ongerief van heeft ondervonden.
- Voor sommige routine-experimenten is het nodig dat bijvoorbeeld een *cisterna magna* canule gedurende meerdere dagen functioneel blijft. Hiervoor willen we de mogelijkheid hebben om na een trainingsoperatie te valideren of dat bij de medewerkers haalbaar is. Hier duurt dus niet de training 5 dagen, maar de validatie.
- Het *testen* van monsterafname na een operatie om succesvolle implantatie te valideren kan niet als onderdeel van een experiment worden gedaan. Immers, blijkt monsterafname niet mogelijk, dan is het dier nodeloos met een experimentele stof behandeld en missen monsters van dit dier voor het experiment. Zoals al opgemerkt, zodra een medewerker zich bekwaamd heeft in de specifieke operatietechniek, zal hij/zij mee gaan opereren voor de routine-experimenten.
- Het *trainen* van monsterafname kan soms ook als onderdeel van een experiment worden gedaan (en valt dan niet onder dit projectvoorstel). Dit is afhankelijk van de soorten experimenten die op dat moment plaatsvinden, en of daarbinnen nog ruimte is om additionele (bloed, CSF) monsters van de dieren te nemen. Vooral bij de microdialysetechnieken met verschillende soorten canules is het van belang om het bemonsteren onafhankelijk van een experiment aan te leren. Binnen een microdialyse-experiment, waar immers continu bemonsterd wordt en een missend monster niet zomaar achteraf door een meer ervaren medewerker nog genomen kan worden, kan dit niet getraind worden zonder risico's voor het experiment. Daarom vragen we voor dit project de mogelijkheid aan monsterafname ook te trainen.

- f) In hoeverre zal het wakker worden van dieren ook voor het werk van studenten gelden? Juist bij studenten geven de opleidingsrichtlijnen aan dat training zoveel mogelijk samen moet gaan met een experiment.

Net als bij andere medewerkers (zie bij vraag a-e) geldt dat eerst terminaal getraind wordt voordat dieren mogen bijkomen. En net als bij andere medewerkers: als een student zich



voldoende bekwaamd heeft in de specifieke operatietechniek, kan hij/zij mee opereren voor de experimenten (dus onder andere projectvergunningen).

- g) We zien ook dat monstername een trainingsdoel op zichzelf is. Waarom kan dat niet bij dieren in experiment of als extra monstername bij dieren die in experiment zitten? Zie bij vraag 2e. De methode van monsterafname verschilt tussen de verschillende soorten monsters (bloed door katheter, CSF door canule, microdialysaat door verschillende soorten microdialyse-canules. Waar mogelijk zullen we monsterafname trainen in het kader van een experiment. In deze aanvraag willen we voorzien in de training in gevallen waarbij dat niet mogelijk is. Het aansluiten en opstarten van de bemonstering verschilt voor de verschillende soorten canules (bijv. bloedkatheter, MetaQuant, push-pull) en vereist training om geen monsters te verliezen en om de dieren in het experiment niet te storen (wat bv. biomarkerwaarden in het experimentele monster zou kunnen veranderen).
- h) Hoe verhoudt zich het beoordelen van functionaliteit van een katheter i.v.m. training tot het beoordelen van functionaliteit i.v.m. bijvoorbeeld een nieuw materiaal van de katheter of andere validatie van de techniek? Zie ook onze vraag bij bijlage 2, 2.A. Onder deze projectvergunning willen we (bijlage 1) medewerkers en studenten trainen in technieken die in standaardprocedures zijn vastgelegd en (bijlage 2) operatietechnieken ontwikkelen, dus niet het testen van een nieuw materiaal voor een canule. Na de eerste validatie van een nieuwe techniek, wat betreft ongerief na het bijkomen en de mogelijkheid uit de canule/katheter te bemonsteren, wordt de verdere ontwikkeling en validatie (met nieuwe dieren) zoveel mogelijk in het kader van een experiment gedaan (en dus niet meer onder deze projectaanvraag. Het beoordelen van functionaliteit i.v.m. bijvoorbeeld een nieuw materiaal van de katheter zal niet in het kader van dit projectvoorstel gedaan worden, maar in eerste instantie in recent getermineerde dieren en vervolgens in een experiment onder een van onze andere vergunningen.
- i) Wat is de duur en frequentie van die extra handelingen per handeling en in de tijd? De duur en frequentie is afhankelijk van de te trainen operatietechniek en de daarbij te verwachten complicaties met betrekking tot gezondheid en/of functionaliteit van de canule/katheter (zie vraag 2b). Zoals in de bijlagen beschreven: Herstel is minstens tot de volgende ochtend. Monsterafname: Om de functionaliteit van de geïmplanteerde canules te valideren, kunnen enkele monsters genomen worden op de dag/dagen na de operatie (tot maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag). De duur per handeling is afhankelijk van de soort canule en het soort monsters. Veelvoorkomende monsters zijn:
- Microdialysemonster door een microdialysecanule in de hersenen: handeling is kort aansluiten (en naderhand afsluiten) van de canule aan slangetjes. Hierna beweegt het dier vrij tijdens het continue bemonsteren waarbij netto geen vloeistof aan het weefsel onttrokken wordt.
  - Bloed door een katheter: handeling is aansluiten van de katheter aan een slangetje aan een injectiespuit en glycerol uit de katheter verwijderen; slangetje en injectiespuit vervangen en bloedmonster aanzuigen. Duur: enkele minuten.
  - CSF door een canule in de *cisterna magna*: handeling is kort aansluiten van een slangetje aan de canule en CSF te tappen d.m.v. zwaartekracht. Duur: enkele minuten.

Over het algemeen zullen twee of drie monsters genomen worden om de functionaliteit van de canule/katheter te valideren dan wel monsterafname te trainen.



- j) Hoeveel dieren en in welke levensfase (ook neonataal?) ondergaan een ingreep onder terminale anesthesie, hoeveel dieren zullen kort bijkomen, hoeveel dieren blijven langere tijd gevolgd/behandeld?

Dit wordt in de bijlagen bij 2B en 2F gevraagd (neonatale dieren alleen van toepassing voor bijlage 1).

- Ingreep onder terminale anesthesie:
  - o Bijlage 1: volwassen dieren: 85% van 400 resp. 500 dieren: 340 muizen, 425 ratten
  - o Bijlage 1: neonatale dieren (rat/muis): 100% van 100 resp. 100 dieren: 100 muizen, 100 ratten
  - o Bijlage 2: volwassen dieren (rat/muis): 76% van 25 resp. 50 dieren: 19 muizen, 38 ratten
- Kort bijkomen tot langere tijd gevolgd/behandeld: de exacte verdeling tussen deze twee mogelijkheden is lastig te voorspellen en afhankelijk van welke operatietechnieken voor onze routine-experimenten nodig zullen zijn. Het controleren op verlamningsverschijnselen na het plaatsen van een intrathecale canule kan op de dag van de operatie plaatsvinden, terwijl voor het valideren van een CSF-canule tot enkele dagen nodig kan zijn. Bij beiden is het cumulatieve ongerief in te schatten als matig (door het bijkomen uit de anesthesie):
  - o Bijlage 1: volwassen dieren: maximaal 15%, van 400 resp. 500 dieren: 60 muizen, 75 ratten
  - o Bijlage 2: volwassen dieren: maximaal 24% van 25 resp. 50 dieren: 6 muizen, 12 ratten

- k) Wat is het cumulatieve ongerief voor al deze groepen dieren?

Laatste zin van 3.4.1: *“Voor beide doelen geldt: bij experimenten waar gepland is om het dier te laten bijkomen uit de anesthesie, wordt eerst door een ervaren medewerker en/of de dierenarts bepaald of dit verantwoord is en of het te verwachten ongerief niet hoger dan matig is.”*

Het ongerief door de eventuele handelingen na het bijkomen (zie antwoord op vraag 2b) is hooguit licht. Het cumulatieve ongerief voor alle dieren die we bij laten komen uit de anesthesie is dus matig.

### Bijlage 1

3. Bij 2A: We begrijpen dat hbo-studenten getraind moeten worden in invasieve handelingen (hbo-opleidingseisen functie biotechnicus, pag. 3: *twee invasieve ingrepen, inclusief anesthesie en hechttechnieken, waarbij er één beheerst wordt.*) Kunt u beargumenteren welke typen handelingen u hiervoor kiest en naar welk bekwaamheidsniveau u daarbij streeft? Dit in verband met het aantal dieren dat hiervoor maximaal gebruikt kan worden per student. Is er ook een andere oplossing denkbaar, namelijk dat ze bepaalde specialistische ingrepen later alsnog trainen wanneer hun werkomgeving dit van hen vraagt? Of het combineren van de training voor een student met een daadwerkelijk experiment? Waarop baseert u uw keuzes in dezen?
- Type handelingen: Zoals in 3.4.1. van het projectvoorstel en bij 2A in bijlage 1 vermeld, worden de complexere operaties uitgesloten voor (WO- en HBO-) studenten. In de praktijk wordt binnen onze instelling door HBO-studenten meestal het plaatsen van een microdialysecanule in de hersenen van de rat aangeleerd (een andere invasieve ingreep komt elders tijdens de studie aan bod). Bij de aantallen in 2B zijn ook de algemene



- toedieningen als technieken voor studenten meegerekend (geschat 6 technieken, kan per student verschillen, bijvoorbeeld toedieningen subcutaan, intraperitoneaal, per oraal bij rat, subcutaan en intraperitoneaal bij muis, implantatie canule in hersengebied bij rat).
- Bekwaamheidsniveau: Voor studenten wordt een operatietechniek afgetekend als ze deze binnen 45 minuten (voor medewerkers is het uiteindelijke doel voor routine-experimenten de helft daarvan) kunnen uitvoeren. Zie ook bij vraag 6.
  - Zoals u opmerkt, moeten HBO-studenten getraind worden in twee invasieve ingrepen, waarbij er één beheerst wordt. Daarbij lijkt het logisch om die ingrepen te trainen die tijdens de stage relevant zijn voor het routinewerk. Verdere specialistische ingrepen kunnen inderdaad later getraind worden wanneer hun werkomgeving dit van hen vraagt.
  - Voor het combineren van de training voor een student met een daadwerkelijk experiment, zie ook het antwoord op de vragen 2d-g. Na de initiële training wordt zoveel mogelijk de verdere opleiding tijdens de stage met een experiment gecombineerd.
4. Bij 2A: Voor welke handelingen moeten vaste medewerkers getraind worden om competent te blijven, en waarvan hangt dit af?
- Het gaat hier om de passage: *Technieken die niet regelmatig (gedurende het jaar) uitgevoerd worden, kunnen door te trainen op een of enkele dieren worden onderhouden.* Hierbij gaat het alleen om operatietechnieken (nu aangepast in de tekst); de toedienings- en monsterafname-technieken komen regelmatig in de routine-experimenten aan bod en behoeven over het algemeen geen onderhoudstraining. Welke operatietechnieken het specifiek betreft, hangt af van de frequentie van voorkomen van de technieken in de routine-experimenten. Dit is weer afhankelijk van de vragen en bijpassende methodes die door onze klanten in onze routine-experimenten gevraagd worden. De soorten klantvragen die we krijgen hangen af van de doelziekte en het doelorgaan van het kandidaatgeneesmiddel dat de klant wil laten testen, en is moeilijk/niet te voorspellen. Als voorbeeld: canulatie van de vena femoralis is in tegenstelling tot canulatie van de vena jugularis de afgelopen periode niet in routine-experimenten gebeurd en moet door verschillende medewerkers nog eens getraind worden voordat het in een volgend routine-experimenten ingezet kan worden.
5. Bij 2A: Kunt u meer informatie geven over het herhalen van technieken? Hoeveel technieken worden er per dier uitgevoerd in welke tijdsperiode en met welke frequentie?
- Het herhalen van technieken is niet gepland. Als hiermee het trainen van *“verschillende technieken achtereenvolgens door meerdere medewerkers op één geanestheesd dier”* bedoeld wordt, kunnen tijdens dezelfde anesthesie (dus op één dag) verschillende operatietechnieken door meerdere medewerkers getraind worden. Zoals bij 2B (aantal): *“bijvoorbeeld het plaatsen van een vena jugularis-katheter door één medewerker, gevolgd door het plaatsen van een canule in de hersenen door een andere medewerker.”* Dit geldt voor operaties die terminaal gepland zijn. Het aantal implantaten (en dus te trainen technieken) per dier wordt gelimiteerd door de ruimte op de schedel om de verschillende implantaten vast te maken: 2 bij muizen en 4 bij ratten, zoals ook bij de vergunningen voor onze routine-experimenten. Dit duurt samen enkele uren. Een operatie waarna het dier mag bijkomen duurt maximaal 2 uur.
- De dieren worden één keer onder anesthesie gebracht, frequentie is dus niet van toepassing.
6. Bij 2A: Hoe wordt bekwaamheid vastgesteld?
- Tijdens de operatie: ervaren begeleidende medewerker(s) beoordeelt of de techniek goed is aangeleerd en uitgevoerd.



- Na de operatie (in het geval van bijkomen): goed herstel van het dier en/of functioneren van de canule/katheter.
  - Na de operatie: Post-mortem onderzoek aan de dieren levert belangrijke informatie over de bekwaamheid van de medewerker: is het juiste doelgebied bereikt, is de canule of katheter juist geplaatst met minimale schade aan het omringende weefsel?
  - De functionaris artikel 13f3c is verantwoordelijk voor de beoordeling van de bekwaamheid en heeft dit voor bestaande standaardtechnieken gedelegeerd aan de ervaren biotechnisch medewerkers. Dit is nu ook ingevoegd bij 2A.
  - Bekwaamheid voor een bepaalde techniek wordt gedocumenteerd in een individueel trainingsdocument.
7. Bij 2B: Waarom wordt er tot maximaal 10 sessies geoefend? Is het mogelijk dat al eerder ingeschat kan worden of de student geschikt is voor het uitvoeren van microchirurgische handelingen?
- We hebben in de bijlage niet specifiek vastgelegd tot hoeveel sessies maximaal getraind kan worden. Dit omdat de nodige training per persoon en ook per techniek kan verschillen. Daarom zijn we uitgegaan van "gemiddeld 8 trainingssessies voor het aanleren van een nieuwe techniek". Aan de hand van de individuele ervaring en vaardigheden wordt per medewerker (en student) besloten welke techniek(en) aangeleerd worden. Na vier tot vijf sessies is vaak wel ongeveer in te schatten hoe geschikt de (ervaren of onervaren) medewerker of (nog onervaren) student is om deze bepaalde techniek uit te voeren. Is dat helemaal niet het geval, dan wordt niet doorgetraind tot het maximaal aantal dieren (dit wilden we duidelijk maken door "gemiddeld 8 trainingssessies" aan te geven en "aan de hand van de individuele ervaring en vaardigheden wordt besloten....").
- Eventuele verdere training wordt vooral ingezet bij veelbelovende studenten die we graag verder op willen leiden om ze in meerdere technieken te kunnen beoordelen, ook met het oog op een eventuele dienstbetrekking na afloop van hun studie.
8. Bij 2B: U noemt het inbrengen van een canule voor bijvoorbeeld een tumormodel. Is er daadwerkelijk sprake van het gebruik van een tumormodel of wordt dit op andere wijze nagebootst? Kunt u dit toelichten?
- Bedoeld werd het gebruik van dieren van een specifiek geslacht voor gevallen waarbij de techniek later specifiek toegepast zal worden in dieren van hetzelfde geslacht, zoals bijvoorbeeld routine-experimenten met vrouwelijke muizen met een tumor. In deze projectaanvraag willen we geen dieren met tumoren gebruiken (bij 2B nu verduidelijkt). In het geval dat het inbrengen van een canule in een tumor getraind moet worden, zal dit getraind worden in gezonde muizen op de plek waar bij de experimentele dieren de tumor zit, namelijk subcutaan in de flank van het dier. Na een succesvolle training in de flank van een dier zonder tumor, kan voor een lopend experiment besloten worden om de trainee de eerste dieren voor een experiment onder toezicht te laten opereren (dus buiten deze projectaanvraag). In deze projectaanvraag worden dus geen dieren met tumor geopereerd.
9. Bij 2G: Is het zo dat u de barbituraat-injectie verfijnt met isofluraan-anesthesie?
- Zoals bij 2K beschreven, is de barbituraat-injectie intracardiaal. Dit gebeurt volgens AVMA-richtlijnen onder (isofluraan)anesthesie.



10. Bij 2A: Hier lijkt het eerder te gaan om validatie van een type ingreep of toepassing van andere materialen. Kunt u dit toelichten? Zie ook vraag 2.h van de DEC. (Mogelijk is deze vraag daar al door u beantwoord.)  
In bijlage 2 gaat het om het ontwikkelen van operatietechnieken om bemonstercanules te implanteren in nieuwe weefsels voor het gebruik in vrij bewegende dieren. Voor verschillende typen weefsels komen we daar verschillende uitdagingen tegen (bijv. hoe de canule in het weefsel te fixeren, hoe te beschermen tegen schade door beweging). Vaak gaat de ontwikkeling van de operatietechniek parallel met de ontwikkeling van de in-huis ontwikkelde canule. Zie ook het antwoord bij vraag 2h. Het toepassen van andere materialen wordt in eerste instantie in recent getermineerde dieren getest en vervolgens in een experiment onder een van onze andere vergunningen, en valt dus niet onder ontwikkeling in dit projectvoorstel.
11. Bij 2A: Hier wordt als voorbeeld een canule in de nier vermeld. Kunt u specificeren waar precies de canule zal worden aangelegd?  
Binnen **5.1 lid2h** wordt/werd gewerkt aan de ontwikkeling van een operatietechniek en canule voor microdialyse in de nier. Door tunnelen met een injectienaald lijkt een canule in zowel de nierschors als het niermerg in principe mogelijk. Het eerste doel is het bemonsteren in de nierschors. In terminale operaties zijn we al in staat gebleken om een microdialysecanule in de nierschors aan te brengen. De ontwikkeling is erop gericht om deze operatietechniek en canule zodanig te verfijnen dat we deze techniek zouden kunnen toepassen om in vrij bewegende dieren uit de nier te kunnen bemonsteren.
12. Bij 2B: Worden er ook genetisch gemanipuleerde dieren gebruikt?  
Zoals in de tabel bij 2B is aangegeven, is er geen gebruik van genetisch gemanipuleerde dieren gepland: Genetisch gewijzigd: nee
13. Bij 2H: Kunt u toelichten waarom hier, i.t.t. in bijlage 1, geen hergebruik mogelijk is? Doet u moeite om te werken met surplus-dieren? Heeft u de mogelijkheid overwogen om expliciet surplus-dieren te bestellen?  
Voor toelichting op het antwoord "nee" is in het huidige formulier geen ruimte voorzien, maar dat willen we graag hier toelichten.
- In bijlage 2 hebben we specifiek gekozen geen gebruik te willen maken van "hergebruikdieren". Omdat het er bij operaties in deze bijlage mede om gaat om de inschatting te kunnen maken hoe de impact van de techniek op het welzijn van het dier is, willen we expliciet ontwikkelen met naïeve dieren. Zodra de techniek ontwikkeld is en aan meerdere medewerkers aangeleerd kan worden, vindt die training onder bijlage 1 plaats en kunnen wel hergebruikte dieren ingezet worden.
  - In beide bijlagen wordt zoveel mogelijk gebruik gemaakt van eventuele surplus-dieren uit andere experimenten (nu bij 2B aangegeven).

NTS

14. Tussen de aantallen dieren in de bijlagen en de NTS bestaat een discrepantie, wilt u deze aantallen met elkaar in overeenstemming brengen?  
De aantallen in de NTS zijn als volgt tot stand gekomen:

**Bijlage 1:**

Muis	volwassen	400	terminaal 85%:	340
			matig 15%:	60
Muis	neonataal	100	terminaal 100%:	100



Rat	volwassen	500	terminaal 85%:	425
			matig 15%:	75
Rat	neonataal	100	terminaal 100%	100

**Bijlage 2\*:**

Muis	volwassen	25	terminaal 75%, nu 76%:	19
			matig 25%, nu 24%:	6
Rat	volwassen	50	terminaal 75%, nu 76%:	38
			matig 25%, nu 24%:	12

\*Voor bijlage 2 waren ronde percentages gebruikt en de aantallen afgerond op hele dieren, deze percentages zijn nu aangepast.

**Totaal voor NTS:**

Muis	terminaal	340 + 100 + 19	459
	matig	60 + 6	66
Rat	terminaal	425 + 100 + 38	563
	matig	75 + 12	87

## B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.  
*Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.  
Het project is vergunningplichtig.*
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? Ja.
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Er waren geen leden uitgesloten van de beoordeling/opstellen advies.

## C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. (Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld).  
*De aanvraag is beoordeelbaar en heeft voldoende samenhang. Hij beschrijft het trainen van eigen medewerkers en studenten en het aanleren van nieuwe technieken door eigen medewerkers. Er is een stappenplan voor hoe de vaardigheden worden aangeleerd. Het gaat enerzijds om technieken die routinematig worden uitgevoerd maar waarvoor nieuwe medewerkers en studenten worden opgeleid. Daarnaast worden nieuwe technieken ontwikkeld, waarvan de ontwikkeling altijd is gericht op uiteindelijke vermindering en/of verfijning. De aanvraag volgt voorbeeld 4B (en deels voorbeeld 5 voor de studenten) uit de handreiking definitie project.*
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de



gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). *Er is geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierproef in de weg kan staan.*

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.  
*De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) sluit(en) aan bij de hoofddoelstelling(en). Het gaat hoofdzakelijk om training. Daarnaast om ontwikkeling van technieken.*

#### *Belangen en waarden*

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.  
*Het directe doel is het aanleren van op gestandaardiseerde wijze van uitvoeren van biotechnische handelingen die routinematig bij de vergunninghouder worden uitgevoerd, en het aanleren van nieuwe technieken die aan dezelfde kwaliteitseisen moeten voldoen. Het uiteindelijke doel is dat eigen medewerkers en stagiairs een aantal handelingen (die in meer of mindere mate routinematig worden uitgevoerd bij de instelling) zodanig aanleert dat de uitvoering voldoet aan de kwaliteitseisen van de vergunninghouder. Door het uitvoeren van deze handelingen volgens bepaalde kwaliteitseisen is de te verwachten variatie zo klein mogelijk, hetgeen een effect heeft op de groepsgrootte.*
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld)  
*De belanghebbenden zijn:*
  - *De proefdieren voor onderwijs worden fysiek en gedragsmatig aangetast. Zij ondergaan niet-medisch-noodzakelijke ingrepen.*
  - *Proefdieren voor toekomstige experimenten worden dankzij het behalen van de doelen geopereerd door goed getraind personeel. Grotere groepen dieren worden pas geopereerd op het moment dat de techniek goed aangeleerd is. Door een goede training wordt de ingreep gestandaardiseerd uitgevoerd, waardoor er minder variatie is en er dus minder dieren per proefgroep nodig zullen zijn.*
  - *Biotechnische medewerkers (al bevoegd) hebben er belang bij dat zij bekwaam worden en blijven in de technieken die uitgevoerd worden.*
  - *Studenten kunnen zich bekwamen in technieken in voorbereiding op het afronden van de opleiding en het bevoegd worden.*
  - *Onderzoekers kunnen onderzoek doen met goed getrainde medewerkers.*
  - *De instelling kan voldoen aan Wod (een leven lang leren) en hoogkwalitatief onderzoek uitvoeren en dit aan klanten aanbieden.*
6. Er is geen aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken.

#### *Proefopzet en haalbaarheid*

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5).  
De kennis en kunde van de aanvrager is voldoende gewaarborgd, er is een duidelijk stappenplan hoe de eigen medewerkers en de studenten worden getraind en hoe bij



een nieuwe techniek eerst overleg met dierenarts zal plaatsvinden. Studenten zullen geen erg complexe handelingen leren uitvoeren.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. *Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*). Het project is goed opgezet en de experimentele opzet (via de verschillende stappen) sluiten goed aan bij de aangegeven doelstellingen. Er is wel uitgebreide aandacht geweest over de toegevoegde waarde in het leerproces om dieren na de ingreep bij de laten komen uit de narcose. Zie E3. Ook op een groot aantal andere punten heeft de DEC vragen gesteld om meer duidelijkheid te verschaffen. Na het beantwoorden van de vragen is die duidelijkheid er.

*Welzijn dieren*

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*). *N.v.t.*

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. *Dieren worden in principe gehuisvest volgens de gestelde eisen, maar deels solitair, als de dieren moeten bijkomen uit de anesthesie om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact.*
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). *Het cumulatieve ongerief van de dieren is realistisch ingeschat. Een deel van de dieren ondergaat een chirurgische ingreep onder anesthesie en zal na de ingreep onder anesthesie worden gedood (terminaal). Een deel van de dieren zal licht ongerief ondergaan. Het deel van de dieren dat na een*



*operatieve ingreep zal bijkomen in verband met verdere follow-up zal maximaal matig ongerief ondergaan door het bijkomen uit de anesthesie. De verdere handelingen voor bijvoorbeeld katheteronderhoud zal ook cumulatief niet boven matig ongerief uitstijgen.*

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2). (zie bijlage I voor voorbeeld).  
*De dieren worden gebruikt als proefdieren en ondergaan een niet-medisch-noodzakelijke operatieve ingreep of monsterafnamen die veterinair niet noodzakelijk zijn.*
13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3).  
*De dieren worden beoordeeld aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP 'Animal discomfort and humane endpoints'. De onderzoekers beschrijven verder de criteria tijdens en na operaties en algemene criteria voor het toepassen van humane eindpunten.*

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3).  
*Volledige vervanging voor deze experimenten is niet mogelijk omdat het gaat om het aanleren en onderhouden van in-vivo-technieken. De vaardigheden worden waar mogelijk zonder dierproeven aangeleerd zoals*
- *hechten oefenen op bijvoorbeeld een spons;*
  - *toedienen oefenen op kunstratten of plastic modellen;*
  - *computersimulaties of instructievideo's voor anatomische lessen en kennismaken met technieken;*
  - *meekijken bij de uitvoering van de techniek door een ervaren medewerker.*
  - *operaties en hechten oefenen op een recent getermineerd dier.*

*Uiteindelijk worden de technieken aangeleerd zodat ze in een levend dier kunnen worden toegepast. Trainen en beoordelen of iemand bekwaam is in het uitvoeren van een techniek kan daarom alleen gebeuren wanneer gebruik wordt gemaakt van een levend dier.*

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3).  
*Doordat na iedere training wordt geëvalueerd, wordt veiliggesteld dat zo min mogelijk dieren voor het trainen van iedere techniek gebruikt worden. Meerdere medewerkers kunnen verschillende technieken op één dier trainen, bijvoorbeeld het plaatsen van een vena-jugularis-katheter door één medewerker, gevolgd door het plaatsen van een canule in de hersenen door een andere medewerker. Tenslotte zal verdere vermindering van dierproeven en proefdieren vooral merkbaar zijn bij het uitvoeren van de routine-experimenten (onder andere projectvergunningen). Doordat alle medewerkers goed getraind zijn volgens de standaardprocedures, worden uitval en variatie in de routine-experimenten verlaagd.*
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk



kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

*Bij het aanleren van nieuwe (operatie)technieken is altijd ervaren begeleiding aanwezig. Om negatieve gevolgen voor de dieren na de operatie te vermijden, laat men ze alleen uit de narcose bijkomen als de operatietechniek al goed aangeleerd is, en altijd met pijnstilling en onder observatie. Door het trainen van medewerkers en het optimaliseren van technieken draagt deze aanvraag bij aan verfijning van experimenten in andere projecten: door het aanleren en onderhouden van de operatietechnieken is het mogelijk om in routine-experimenten operaties met kortere anesthesieduur en zo min mogelijk weefselschade uit te voeren waardoor er minder ongerief voor de dieren ontstaat.*

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.  
*Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef  
Er is geen sprake van wettelijk verplicht onderzoek.*
18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).  
*Dieren zullen zoveel mogelijk van beide geslachten worden ingezet.*
19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).  
*Dieren worden na afloop van de experimenten gedood, omdat dan kan worden beoordeeld of de handeling correct is uitgevoerd en ook het leren uitvoeren van postmortaal onderzoek en het verzamelen van biologische weefsels tot de training behoort.*
20. Indien dieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. *N.v.t.*  
  
*NTS*
21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd? *De NTS is een evenwichtige weergave van het project en is begrijpelijk geformuleerd.*

## **D. Ethische afweging**

1. *Benoem de centrale morele vraag (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A). De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van het trainen van medewerkers en studenten en het aanleren van nieuwe technieken de aantasting van het welzijn (terminaal en matig) en de inbreuk op de integriteit van de gebruikte 1.175 proefdieren kan rechtvaardigen.*



2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoetgekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

*Er vindt een beperkte aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met terminaal tot matig ongerief. Indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, zal dit project ertoe bijdragen dat de medewerkers en studenten adequaat getraind worden en competent en bekwaam zijn voor het uitvoeren van de benodigde handelingen voor experimenten die bij de aanvrager worden uitgevoerd. Ook nieuwe technieken kunnen daardoor zo verfijnd mogelijk worden toegepast. Dit is een groot belang, ook voor de vele toekomstige proefdieren die in de toekomst zullen worden ingezet in bij deze vergunninghouder en deels daarbuiten. Het belang van de proefdieren die in dit project gebruikt worden is daarmee kleiner.*

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*). *De centrale morele vraag die beantwoord moet worden is: rechtvaardigt het grotendeels terminale ongerief en deels matige ongerief van de proefdieren het doel om medewerkers en studenten die stage lopen bij de onderzoekers adequaat te trainen en getraind te houden voor biotechnische handelingen die bij de vergunninghouder worden uitgevoerd? De DEC is van oordeel dat de training van medewerkers en studenten voor het uitvoeren van biotechnische handelingen in knaagdieren, zodat experimenten kwalitatief hoogwaardig kunnen worden uitgevoerd, een reëel belang vertegenwoordigt en dat dit reële belang opweegt tegen de beperkte aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.*

## E. Advies

1. Advies aan de CCD
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
  - De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
    - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
    - Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist
    - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...



- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
  - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
  - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
  - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...
  
- 2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificieer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).  
*Het advies is een meerderheidsstandpunt. De DEC had aanvankelijk twijfels over een aantal aandachtspunten en heeft een groot aanvullende vragen gesteld. Die zijn naar het oordeel van de meerderheid van de leden helder en informatief beantwoord en voeden daarmee de rechtvaardiging.*  
*Eén lid heeft geen sluitende argumenten gezien die het bijkomen uit anesthesie in een trainingssituatie noodzakelijk zou kunnen maken. Dit lid beroept zich hierbij vooral op het zeer lage aantal operaties in training dat niet succesvol verloopt (zie antwoorden boven 0,1-5%) en de zeer steile leercurve, en adviseert de aanvrager om deze dieren direct in te zetten voor het onderzoek. Eventuele uitval door onervarenheid zou opgelost kunnen worden door meer dieren op te nemen, om te compenseren voor mislukte operaties of niet lopende canules. Voor studenten zonder concreet uitzicht op een werkrelatie met de opdrachtgever ziet dit lid überhaupt geen noodzaak voor het laten bijkomen uit de anesthesie van de dieren. Juist bij studenten geven de opleidingsrichtlijnen aan dat training zoveel mogelijk samen moet gaan met een experiment. Daarnaast is het onduidelijk hoe een complicatie bij het wakker worden van het dier (niet lopende canule, verlamming of anderszids) gerelateerd kan worden aan het verloop van de ingreep.*  
*De overige DEC-leden delen de visie niet dat dieren die gebruikt en voor het trainen van medewerkers en studenten niet hoeven bij de komen uit de anesthesie: immers bij het ontwaken uit de anesthesie (of post mortem) kunnen bepaalde complicaties zichtbaar worden die onder anesthesie niet tot uitdrukking komen waar de student van kan leren. Daarnaast dient ook het katheteronderhoud getraind te worden.*
  
- 3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

*Zie E2.*



## 5.1 lid2e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** vrijdag 2 juli 2021 15:50  
**Aan:** 5.1 lid2h  
5.1 lid2h  
**Onderwerp:** Aanhouden AVD 202114908

9

Geachte 5.1 lid2e

Op 05-05-2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes" met aanvraagnummer AVD 202114908. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

### Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

#### Niet technische samenvatting

- Onder "expected harms" benoemt u niet dat dieren mogelijk individueel gehuisvest worden. Kunt u dit nog toevoegen en hierbij ook benoemen welk effect dit heeft op de dieren.

#### Onduidelijkheden

- In bijlage 1 onder 2A, 2e sectie beschrijft u dat er algemene biotechnische vaardigheden worden getraind in het wakkere dier. Tot hoeveel handelingen kunnen er per dier plaatsvinden? Onder welke ongerief categorie horen deze dieren volgens sectie F?

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

#### Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van dit bericht op. U kunt dit aanleveren via NetFTP.

Indien uw antwoorden uiterlijk 8 juli binnen zijn zullen deze worden meegenomen naar de CCV vergadering van 9 juli.

Volgens onze administratie zijn de leges voor deze aanvraag nog niet betaald. Kunt u dit nagaan en deze alsnog voldoen of een betalingsbewijs overleggen indien al betaald is?

#### Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,  
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

5.1 lid2e

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag



.....  
T: 0900 2800028  
E: info@zbo-ccd.nl





## Advies aan CCD

Datum 02 juli 2021

Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD202114908

Instelling:

5.1 lid2h

Onderzoeker:

5.1 lid2h

Project:

Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

Aanvraagnummer:

AVD202114908

Betreft:

Nieuwe aanvraag

Categorieën:

Fundamenteel onderzoek  
Hoger onderwijs of opleiding

### 1 Inzicht in aanvraag en de eventuele knelpunten en risico's

Deze aanvraag is minder diepgaand getoetst vanwege een kwalitatief goed DEC-advies.

<b>Proces</b>	Het Secretariaat heeft de volgende vragen gesteld aan de aanvrager:  NTS:  <sup>1</sup>  - Onder "expected harms" benoemt u niet dat dieren mogelijk individueel gehuisvest worden. Kunt u dit nog toevoegen en hierbij ook benoemen welk effect dit heeft op de dieren.
---------------	---







Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
<b>3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	400 volwassen dieren, 100 neonatale dieren	500	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	500 volwassen dieren, 100 neonatale dieren	600	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn
<b>3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )		25	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )		50	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn

#### Huisvesting en verzorging anders dan Bijlage III Richtlijn

##### 3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden

Citaat: Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal getraind en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact. Daarnaast wordt altijd kooiverrijking aangeboden aan de dieren.

##### 3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

Citaat: Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal ontwikkeld en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. Het testen van de monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur.



### **Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren**

#### 3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden

- Muizen (*Mus musculus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.  
Ratten (*Rattus norvegicus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

#### 3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

- Muizen (*Mus musculus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.  
Ratten (*Rattus norvegicus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
--	--

### **2 DEC advies**

<b>DEC-advies</b>	<p>Citaten uit het DEC advies:</p> <p>C8 (proefopzet): Het project is goed opgezet en de experimentele opzet (via de verschillende stappen) sluiten goed aan bij de aangegeven doelstellingen. Er is wel uitgebreide aandacht geweest over de toegevoegde waarde in het leerproces om dieren na de ingreep bij de laten komen uit de narcose. Zie E3 (minderheidsstandpunt). Ook op een groot aantal andere punten heeft de DEC vragen gesteld om meer duidelijkheid te verschaffen. Na het beantwoorden van de vragen is die duidelijkheid er.</p> <p>C10 (huisvesting): Dieren worden in principe gehuisvest volgens de gestelde eisen, maar deels solitair, als de dieren moeten bijkomen uit de anesthesie om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact.</p> <p>Ethische afweging van de DEC:</p> <p>1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van het trainen van medewerkers en studenten en het aanleren van nieuwe technieken de aantasting van het welzijn (terminaal en matig) en</p>
-------------------	---



de inbreuk op de integriteit van de gebruikte 1.175 proefdieren kan rechtvaardigen.

2. Er vindt een beperkte aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met minimaal tot matig ongerief. Indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, zal dit project ertoe bijdragen dat de medewerkers en studenten adequaat getraind worden en competent en bekwaam zijn voor het uitvoeren van de benodigde handelingen voor experimenten die bij de aanvrager worden uitgevoerd. Ook nieuwe technieken kunnen daardoor zo verfijnd mogelijk worden toegepast. Dit is een groot belang, ook voor de vele toekomstige proefdieren die in de toekomst zullen worden ingezet in bij deze vergunninghouder en deels daarbuiten. Het belang van de proefdieren die in dit project gebruikt worden is daarmee kleiner.

3. De centrale morele vraag die beantwoord moet worden is: rechtvaardigt het grotendeels terminale ongerief en deels matige ongerief van de proefdieren het doel om medewerkers en studenten die stage lopen bij de onderzoekers adequaat te trainen en getraind te houden voor biotechnische handelingen die bij de vergunninghouder worden uitgevoerd? De DEC is van oordeel dat de training van medewerkers en studenten voor het uitvoeren van biotechnische handelingen in knaagdieren, zodat experimenten kwalitatief hoogwaardig kunnen worden uitgevoerd, een reëel belang vertegenwoordigt en dat dit reële belang opweegt tegen de beperkte aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

Het DEC advies is Positief.

Het uitgebrachte advies is niet gebaseerd op consensus.

Citaat **H**et advies is een meerderheidsstandpunt. De DEC had aanvankelijk twijfels over een aantal aandachtspunten en heeft een groot aantal aanvullende vragen gesteld. Die zijn naar het oordeel van de meerderheid van de leden helder en informatief beantwoord en voeren daarmee de rechtvaardiging.

Eén lid heeft geen sluitende argumenten gezien die het bijkomen uit anesthesie in een trainingssituatie noodzakelijk zou kunnen maken. Dit lid beroept zich hierbij vooral op het zeer lage aantal operaties in training dat niet succesvol verloopt (zie antwoorden boven 0,1-5%) en de zeer steile leercurve, en adviseert de aanvrager om deze dieren direct in te zetten voor het onderzoek. Eventuele uitval door onervarenheid zou







	<p>opgelost kunnen worden door meer dieren op te nemen, om te compenseren voor mislukte operaties of niet lopende canules. Voor studenten zonder concreet uitzicht op een werkrelatie met de opdrachtgever ziet dit lid überhaupt geen noodzaak voor het laten bijkomen uit de anesthesie van de dieren. Juist bij studenten geven de opleidingsrichtlijnen aan dat training zoveel mogelijk samen moet gaan met een experiment. Daarnaast is het onduidelijk hoe een complicatie bij het wakker worden van het dier (niet lopende canule, verlamming of anderszijds) gerelateerd kan worden aan het verloop van de ingreep. De overige DEC-leden delen de visie niet dat dieren die gebruikt en voor het trainen van medewerkers en studenten niet hoeven bij de komen uit de anesthesie: immers bij het ontwaken uit de anesthesie (of post mortem) kunnen bepaalde complicaties zichtbaar worden die onder anesthesie niet tot uitdrukking komen waar de student van kan leren. Daarnaast dient ook het katheteronderhoud getraind te worden.</p>
--	--

### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	
<p>Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelvingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.</p> <p>U heeft voldoende inzicht gegeven in het minderheidsstandpunt en waarom de DEC toch een positief advies geeft.</p>	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen-verstrengeling</b>	Een medewerker van het Secretariaat heeft een arbeidsverleden bij de vergunninghouder dat minder dan 5 jaar geleden is beëindigd.
<b>3V's</b>	
Er is in voldoende mate onderbouwd dat de doelstelling niet zonder dieren behaald kan worden en het project met zo min mogelijk dieren en zo verfijnd mogelijk wordt uitgevoerd.	
<b>Hergebruik</b>	Er is sprake van hergebruik van dieren.



3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden: Citaat: Het is soms mogelijk om voor deze experimenten dieren in te zetten die in eerdere experimenten zijn ingezet. Hergebruik is mogelijk omdat het verfijnen van vaardigheden het hoofddoel is van de experimenten en niet het verzamelen van experimentele gegevens.

Alleen als de te trainen/onderhouden techniek terminaal uitgevoerd wordt, kunnen dieren uit eerdere experimenten ingezet worden. Dit wordt alleen gedaan wanneer het ongerief in de voorgaande proef hooguit "matig" was en vooraf is vastgesteld dat de dieren geen resterend ongerief hebben overgehouden.

3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes: Geen sprake van hergebruik.

<b>Naam proef</b>	<b>Worden de dieren gedood?</b>	<b>Doden volgens richtlijn?</b>
3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes	Ja	volgens de richtlijn.



<b>Naam proef</b>		
<b>3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden</b>		
Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	Ongerief: 88,0% Terminaal 12,0% Matig	
Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Ongerief: 87,5% Terminaal 12,5% Matig	
<b>3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes</b>		
Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	Ongerief: 75,0% Terminaal 25,0% Matig	
Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Ongerief: 75,0% Terminaal 25,0% Matig	

### 5 Samevatting

Dieren die na de operatie zullen bijkomen kunnen gedurende korte periode individueel gehuisvest worden om beschadiging van catheters, canules of operatiewond te vermijden. Tot 36 uur wordt dit in standaard kooien gedaan. Bij langere individuele huisvesting (36 uur tot 5 dagen) worden dieren in speciale "individual-group-housing-cage" kooien geplaatst waarbij visueel, auditief en olfactorisch contact in grotere mate mogelijk is dan bij standaard individuele huisvesting, maar fysiek contact niet plaats kan vinden. De DEC vindt voldoende onderbouwd waarom dieren individueel gehuisvest worden. Het Secretariaat 5.2 lid 1

2

Voor bijlage 1 zullen in bepaalde gevallen wijzigingen worden uitgevoerd in dieren die al eerder zijn ingezet in een experiment, dit zal alleen gebeuren als het ongerief terminaal is voor het proefdier en het dier eerder maximaal matig ongerief ondervond. De DEC heeft gevraagd waarom dit in bijlage 2 niet mogelijk was en dit is door de aanvrager voldoende beantwoord in de ogen van de DEC. Het Secretariaat 5.2 lid 1



---

Nummer: 1 Auteur: 5.1 lid2e Onderwerp: Sticky Note Datum: 2-7-2021 14:58:12  
5.2 lid1

---

Nummer: 2 Auteur: 5.1 lid2e Onderwerp: Sticky Note Datum: 2-7-2021 15:04:40  
5.2 lid1

---




De DEC heeft veel vragen gesteld aan de aanvrager, met nadruk op de noodzaak om de dieren wakker te laten worden uit anesthesie en de noodzaak om de medewerkers te trainen met speciaal daarvoor bestemde dieren in plaats van de training te doen in een lopend experiment<sup>1</sup>. Voor de meeste DEC leden geldt dat zij na de beantwoording van de vragen voldoende overtuigd zijn van de noodzaak van deze vergunningsaanvraag.

Het DEC advies is gebaseerd op een meerderheidsstandpunt. Eén van de DEC leden was na de beantwoording van de vragen niet voldoende overtuigd van de noodzaak om de dieren te laten bijkomen uit de narcose en vond onvoldoende onderbouwd waarom de handelingen niet in een lopend experiment aangeleerd konden worden.

#### **6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning**

Het Secretariaat **5.2 lid 1**



De ingangsdatum van de vergunning kan niet voor de verzenddatum van de beschikking zijn en zal indien van toepassing aangepast worden. Dit is ook het geval bij een voorgenomen besluit.

#### **7 Concept beschikking voor akkoord CCD**



5.2 lid1

[Redacted content]



[REDACTED]

---

**Van:** [REDACTED]  
**Verzonden:** donderdag 8 juli 2021 14:20  
**Aan:** info@zbo-ccd.nl  
**CC:** IVD  
**Onderwerp:** AVD <sup>5.1 lid2h</sup> [REDACTED] 202114908 en AVD <sup>5.1 lid2h</sup> [REDACTED] 202114906

**Categorieën:** Dossier: <sup>5.1 lid2e</sup> [REDACTED] Dossier: <sup>5.1 lid2e</sup> [REDACTED]

11

Geachte heer/mevrouw,

Ik heb de antwoorden op de vragen aangaande de aanvragen AVD <sup>5.1 lid2h</sup> [REDACTED] 202114908 en AVD <sup>5.1 lid2h</sup> [REDACTED] 202114906 geupload op de NETFTP-server. Ik heb geen ontvangstbevestiging gekregen. Aangezien morgen de vergadering is waarin beide aanvragen worden besproken, vroeg ik mij af of alles in goede orde bij de juiste personen is terecht gekomen.

Mochten het niet in goede orde zijn ontvangen, kunt u mij dit dan laten weten? Alvast bedankt.

Met vriendelijke groet,

<sup>5.1 lid2e</sup> [REDACTED]

5.1 lid2e, 5.1 lid2h

Confidentiality Notice: The information contained in this email and any attachments are confidential and may contain privileged and/or proprietary information. This email is intended for the use of the addressee only. If you are not the intended recipient, you are strictly prohibited from copying, distributing or using this email or the information contained in it. If you received this email in error, please notify the sender immediately by email or telephone, and destroy any copies, electronic, paper or otherwise.





Geachte **5.1 lid2e**,

Op 05-05-2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes " met aanvraagnummer AVD **5.1 lid2e** 202114908. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden.

#### **Niet technische samenvatting**

- Onder "expected harms" benoemt u niet dat dieren mogelijk individueel gehuisvest worden. Kunt u dit nog toevoegen en hierbij ook benoemen welk effect dit heeft op de dieren.

Onder predicted harms – expected impacts/adverse effects is nu toegevoegd:

*Deze dieren worden na het bijkomen individueel gehuisvest om beschadigingen van de operatiewond en implantaten te voorkomen. Dit duurt een tot anderhalve dag en levert voor de dieren licht ongerief op. Bij langer verblijf worden de dieren per twee gehuisvest met een doorzichtige tussenwand.*

#### **Onduidelijkheden**

- In bijlage 1 onder 2A, 2e sectie beschrijft u dat er algemene biotechnische vaardigheden worden getraind in het wakkere dier. Tot hoeveel handelingen kunnen er per dier plaatsvinden? Onder welke ongerief categorie horen deze dieren volgens sectie F?

In het geval dat er algemene biotechnische vaardigheden worden getraind in het wakkere dier, worden tot 3 toedieningstechnieken uitgevoerd. Al deze technieken behoren maximaal tot de categorie licht ongerief.

Voor de dieren die daarna een terminale operatie zullen ondergaan, moet het cumulatieve ongerief natuurlijk 'licht' zijn. Daarom hebben we in bijlage 1 en in de NTS nu ook een groep dieren met licht ongerief ingevoegd.

Voor bijlage 1 vragen we nu voor de volwassen ratten en muizen aan:

<i>Terminaal</i>	55%
<i>Licht</i>	30%
<i>Matig</i>	15%

Dit is ook in de totalen in de NTS aangepast.

Nieuwe documenten:

- Bijlage 1 **5.1 lid2e**-2021-14908\_20210707.docx
- NTS **5.1 lid2e**-2021-14908\_20210707.xlsx





## 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)
- Of neem telefonisch contact op (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

5.1 lid2h

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

5.1 lid2h

1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.

Volgnummer	Titel dierproef
------------	-----------------

1	Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden
---	--

*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.



**Aanpak:**

Binnen onze instelling voeren wij experimenten uit met als doel potentiële geneesmiddelen te onderzoeken die bedoeld zijn voor verschillende ziekten. De experimenten bestaan over het algemeen uit microchirurgische implantatie van canules of katheters, gevolgd door toediening van een potentieel geneesmiddel en het verzamelen van monsters en/of experimentele gegevens. Deze technieken vereisen specialistische kennis en vooral vaardigheden van de proefdiermedewerkers.

Bij het aanleren van technieken aan (nieuwe) medewerkers en stagiaires wordt aan de hand van de actuele en verwachte vraag vanuit de routine-experimenten, samen met de individuele ervaring en vaardigheden bekeken/besloten welke techniek(en) aangeleerd worden, dit wordt gedocumenteerd in een individueel trainingsdocument. Bij het aanleren van nieuwe vaardigheden en (operatie)technieken is altijd ervaren begeleiding aanwezig. Na afloop beoordeelt deze ook of de techniek goed is aangeleerd en uitgevoerd.

- Er wordt begonnen met de algemene biotechnische vaardigheden, zoals injecteren, bloedafname en termineren.

- Bij goede beheersing wordt begonnen met het trainen van in onze instelling veelvoorkomende operatietechnieken, zoals het plaatsen van een canule/katheter in een rat (o.a. in de hersenen, in een perifere orgaan of in de vena jugularis/femoralis). Hierbij worden alle operatie-aspecten betrokken. Ook worden operaties bij de muis getraind in deze fase (canule in de hersenen, en perifeer).

- Vervolgens komen de complexere operaties aan bod (niet voor studenten), zoals combinaties van de implantaties en het plaatsen van een katheter in de vena jugularis/femoralis of een canule in de cisterna magna bij de muis. Ook recent ontwikkelde technieken en het implementeren van gevestigde technieken van elders vallen hieronder.

De functionaris artikel 13f3c is verantwoordelijk voor de beoordeling van de bekwaamheid en heeft dit voor bestaande standaardtechnieken gedelegeerd aan de ervaren biotechnisch medewerkers.

Operatietechnieken die niet regelmatig (gedurende het jaar) uitgevoerd worden, kunnen door te trainen op een of enkele dieren worden onderhouden. Ook bij het onderhouden en verfijnen van de al bestaande vaardigheden wordt het trainingsdocument gebruikt.

De **primaire uitkomstparameter** van de voorgestelde experimenten is dat een medewerker zich bekwaamd heeft in de uitvoering van een bepaalde techniek met inachtneming van een minimalisering van het ongerief voor het dier.

---

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.



Na aankomst in het vivarium volgt een acclimatisatiefase van minimaal 7 dagen, waarin de dieren de tijd krijgen om te wennen aan hun nieuwe kooi, voeding en andere omgevingsfactoren. Voor aanvang van de training wordt besloten welke handelingen getraind zullen worden. Alle gebruikte methoden voor implantatie, toediening, monsterafname, anesthesie, euthanasie, verzamelen van bloed en CSF; uitname van hersen- en ander weefsel zijn gedocumenteerd in standaardprocedures. Voor niet-terminale operaties geldt dat ze pas gepland kunnen worden als de techniek terminaal al goed getraind is.

Tijdens het onderzoek **kunnen** de volgende handelingen worden uitgevoerd/getraind:

- **Algemene biotechnische vaardigheden:**

De volgende toedieningstechnieken worden in het wakkere dier getraind, bijvoorbeeld subcutaan, intraperitoneaal, oraal (per gavage), intraveneus, intramusculair. Per dier worden tot drie toedieningstechnieken getraind. Daarnaast worden intrathecale toedieningen onder lichte isofluraan-anesthesie (roesje) getraind. Bij neonatale dieren worden toedieningen zoals intracerebroventriculair en intraveneus, altijd terminaal onder cryo-anesthesie getraind.

- **Operatie:**

Het dier wordt eenmalig onder diepe anesthesie gebracht door middel van isofluraaninhalatie. Tevens worden een systemisch analgeticum en topicale analgesie toegepast en het dier wordt subcutaan met 0.9% zoutoplossing verzorgd (om dehydratie te voorkomen). De operatie vindt plaats op een verwarmde ondergrond en indien de te verwachten operatieduur meer dan 30 minuten is met individuele temperatuurcontrole. In de training worden alle operatie-aspecten betrokken, inclusief de uitvoering onder aseptische condities.

1. Voorbereidende fase: Het doelgebied wordt vrijgeprepareerd en een lokaal analgeticum toegepast. Voor bijvoorbeeld de hersenen, wordt het dier in een stereotactisch frame geplaatst, waarna er een zo klein mogelijke incisie gemaakt wordt in de hoofdhuid, dit wordt lokaal verdoofd met een analgeticum. Het periost wordt verwijderd en met een trepaanboor wordt een gaatje geboord in de schedel boven het hersengebied en de meninges worden voorzichtig met de tip van een naald geopend.
2. Implantatiefase: Vervolgens worden canules en/of katheters geplaatst. Voor bijvoorbeeld de hersenen gebeurt dit met behulp van het stereotactisch frame. De canule wordt exact boven het hersengebied gepositioneerd en langzaam de hersenen binnengebracht. De canule wordt met speciaal biocompatibele polymeer vastgezet. De binding tussen de schedel en canule wordt versterkt door het bevestigen van een of meerdere schroefjes in de schedel.
3. Afrondende fase: Na het plaatsen van de canule wordt de huidopening gesloten. Voor bijvoorbeeld de hersenen, gebeurt dit in de rat met hecht draad en in de muis met biocompatibel polymeer.
4. Einde operatie, het dier wordt getermineerd (zie onder bij "Termineren"), tenzij verdere handelingen vooraf gepland zijn:
  - a. Monsterafname onder anesthesie: Als de te trainen techniek vereist dat het dier onder anesthesie blijft tijdens de monsterafname zal het bemonsteren direct aansluitend aan de operatie plaatsvinden. De ingrepen samen duren minder dan een werkdag, waarna het dier getermineerd wordt (zie onder bij "Termineren").
  - b. Als het doel van de training ook is om het postoperatieve herstel en de functionaliteit van de geïmplanteerde canules te monitoren, wordt hier door de ervaren medewerker beoordeeld of het dier mag bijkomen uit de anesthesie (zie bij "Bijkomen uit anesthesie"). Een operatie waarna het dier mag bijkomen duurt maximaal 2 uur.

- **Bijkomen uit anesthesie, monitoren van postoperatief herstel en functionaliteit canules/katheters:**

Bij sommige technieken is het essentieel om dieren te laten bijkomen uit anesthesie om de operatietechniek te valideren (bijvoorbeeld bij het plaatsen van intrathecale canules, alleen bij het bijkomen kan een complicatie als verlamming worden ontdekt) of de functionaliteit van canules/katheters in het wakkere dier te valideren.



Dit zal alleen gebeuren in overleg met de dierenarts. Het laten bijkomen en monsterafname/validatie gebeurt volgens de volgende stappen:

1. Recovery. Tijdens het bijkomen uit de anesthesie worden de dieren warm gehouden door middel van een warmtemat en geobserveerd op tekenen van ongerief. Wanneer de dieren volledig wakker zijn, en geen tekenen van ongerief vertonen worden zij in een experimentele kooi gehuisvest. Herstel is minstens tot de volgende ochtend.
2. Monsterafname. Om de functionaliteit van de geïmplanteerde canules/katheters te valideren, kunnen enkele monsters genomen worden op de dag/dagen na de operatie. Hierbij moet vooral worden gelet op het welzijn van de dieren (aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP *Animal discomfort and humane endpoints*) en de monstersamenstelling. Als het nodig is om te valideren dat de canules/katheters ook gedurende langere tijd functioneel blijven ten behoeve van langere routine-experimenten, wordt er voor een maximum van 5 dagen (aansluitend aan de operatie onder anesthesie plus 4 dagen daarna in het wakkere dier) bemonsterd.

• **Termineren:**

Aan het eind van het experiment wordt het dier onder anesthesie getermineerd, meestal met barbituraat, in sommige gevallen door middel van intracardiale perfussie, door of onder begeleiding van een ervaren proefdiermedewerker. De relevante organen kunnen worden verwijderd om de plaatsing van de canules/katheters te verifiëren. Ook kan terminaal het verzamelen van bloed, CSF, en terminale weefselmonsters getraind worden.

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

Aangezien het in deze projectaanvraag niet gaat om het beantwoorden van een wetenschappelijke vraag, maar om het trainen van individuele medewerkers, zal elk "experiment" bestaan uit één dier. Een ervaren biotechnicus of de dierenarts zal na elke trainingssessie (experiment) bepalen of de medewerker die het experiment uitvoert competent is om de techniek in routineonderzoek toe te passen. Wanneer de uitvoerende competent wordt bevonden, wordt dit in een trainingsdocument bijgehouden. Op basis van dit document kan de noodzaak voor verdere training of uitvoering van de techniek worden bepaald. Bij operaties die terminaal gepland zijn, worden indien mogelijk verschillende technieken achtereenvolgens door meerdere medewerkers op één geanestheiseerd dier getraind.

**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	1	volwassen	400	M/V	nee	
			neonataal	100			
2	rat		volwassen	500			
			neonataal	100			

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Muis en rat zijn de diersoorten die gebruikt worden in de experimenten waarvoor hier de technieken aangeleerd/onderhouden worden. Daarom zullen deze soorten ook in deze projectvergunning voor het aanleren/onderhouden van de technieken ingezet worden.
Herkomst	Alle dieren zullen worden verkregen van erkende instellingen voor het fokken van proefdieren.
Levensstadia	Voor het aanleren/onderhouden van de technieken zullen we dieren uit hetzelfde levensstadium gebruiken als waarin de techniek later in routine-experimenten toegepast zal worden. Veelal zijn dat (jong)volwassen dieren, maar ook neonatale dieren. Eenmalige toedieningen in neonatale dieren worden specifiek getraind met dieren van hetzelfde ontwikkelingsstadium.



Aantal	<p>Per techniek verwachten we verschillende aantallen dieren nodig te hebben tot de vaardigheid voldoende beheerst wordt. Bij technisch uitdagendere operaties zullen meer dieren nodig zijn. Meerdere medewerkers kunnen verschillende technieken op één dier trainen, bijvoorbeeld het plaatsen van een vena jugularis-katheter door één medewerker, gevolgd door het plaatsen van een canule in de hersenen door een andere medewerker. Momenteel worden rond 15 operatietechnieken routinematig uitgevoerd door 10 medewerkers die deze technieken beheersen of moeten aanleren.</p> <p>Uitgaande van gemiddeld op jaarbasis 1 nieuwe medewerker en 2 studenten die 6 van de technieken zullen aanleren, met gemiddeld 8 trainingssessies voor het aanleren van een nieuwe techniek (3 personen * 6 technieken * 8 sessies * 5 jaar = 720 procedures) en 10 medewerkers die met ongeveer 2 trainingssessies ongeveer 3 operatietechnieken onderhouden die niet regelmatig in het routineonderzoek uitgevoerd zijn (10 personen * 3 technieken * 2 sessies * 5 jaar = 300 procedures), en het trainen van 2 à 3 procedures op één dier, komen we op 400 à 500 volwassen dieren per soort over een periode van 5 jaar. De meeste technieken worden eerst op ratten getraind voordat ze op muizen getraind worden en bovendien zijn niet alle technieken van toepassing op muizen, daarom vragen we voor dit project meer ratten dan muizen aan.</p> <p>Bij neonatale dieren worden toedieningen altijd terminaal getraind op steeds 1-3 pups tegelijk uit een nest (zodat de moeder niet te vaak gestoord wordt). Bij 2 trainingssessies voor 2 medewerkers per jaar die een van de twee technieken aanleren (2 personen * 6 pups * 1 techniek * 5 jaar = 60 pups) en 3 trainingssessies per jaar voor ervaren medewerkers die ze onderhouden (3 sessies * 3 pups * 5 jaar = 45 pups), komen we op rond de 100 pups per soort over een periode van 5 jaar.</p>
Geslacht	Er zal in zowel mannelijke als vrouwelijke dieren getraind worden, afhankelijk van de beschikbaarheid van (surplus-)dieren. In gevallen waarbij de techniek later specifiek toegepast zal worden in dieren van een bepaald geslacht, zoals bij latere routine-experimenten met tumormodellen in vrouwelijke dieren (andere projectvergunning), worden dieren van het relevante geslacht voor de training gebruikt.
Genetisch gewijzigd	Niet van toepassing
Stam	Veelgebruikte stammen zijn C57Bl/6 bij de muis en Wistar en Sprague-Dawley bij de rat. Als dat relevant is voor de techniek, en/of er andere (surplus-)dieren beschikbaar zijn, kunnen ook andere stammen gebruikt worden.

### 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.

Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal getraind en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact. Daarnaast wordt altijd kooiverrijking aangeboden aan de dieren.



#### 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.

Operaties vinden altijd onder diepe algehele anesthesie plaats. Vooral het verwijderen van de periost en de incisie van de (hoofd)huid veroorzaken pijn bij de dieren. Pijnbestrijding vindt plaats door toediening van een langwerkend systemisch analgeticum voor aanvang van de operatieve ingreep en topicale anestheticum op de plaats van de operatieve ingreep.

In het geval dat we het dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen bij al voldoende getrainde technieken en indien het postoperatieve herstel geëvalueerd dan wel monsterafname getraind dient te worden) wordt optimale pijnbestrijding na de operatie gecontroleerd op basis van uiterlijk en gedrag van de dieren, en eventueel aangevuld als nodig.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Bijkomen uit anesthesie is een bekende oorzaak van stress voor de dieren.
2. Na ontwaken uit de anesthesie worden de dieren individueel gehuisvest om te voorkomen dat zij elkaars implantaten of chirurgische wonden beschadigen bij sociale interacties. Individuele huisvesting is een bekende vorm van verminderd dierenwelzijn en moet zo beperkt mogelijk worden ingezet.
3. Het trainen van toedieningsroutes of monsterafname via de geïmplanteerde canules of katheters door de medewerkers in opleiding zou het welzijn kunnen verminderen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Oorzaken voor ongerief bij bijkomen uit anesthesie zijn gerelateerd aan de tijdelijk veranderde fysiologie van het lichaam, het lichaam heeft een aantal uren nodig om de homeostase te herstellen.
2. Het knagen aan implantaten en onderling vechten hebben te maken met normaal sociaal gedrag van de dieren, dit is moeilijk anders tegen te gaan dan door individuele huisvesting.
3. Medewerkers in opleiding kunnen meer stress, angst en/of pijn veroorzaken bij het dier dan al ervaren medewerkers bij toedieningen of monsterafname via de geïmplanteerde canules of katheters.

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

1. Om het ongerief bij het bijkomen uit anesthesie te minimaliseren komen de dieren bij in een rustige en verwarmde omgeving waar ze toegang hebben tot voedsel en water. De dieren krijgen voor de operatie pijnstilling toegediend. De dieren worden regelmatig gecontroleerd tot ze fit genoeg zijn om in een experimentele kooi te worden geplaatst.
2. Na de operatie duren de experimenten meestal nog hoogstens een dag om herstel te observeren en/of monsterafname te trainen of te testen. Daardoor blijft de duur van individuele huisvesting beperkt. Indien de monsterafname in het wakkere dier langer duurt (maximaal 4 dagen) worden de dieren per paar (met een buddy) gehuisvest in een kooi met een geperforeerde perspex scheidingswand voor beperkt fysiek contact met behoud van olfactorische, auditieve en visuele interactie tussen de dieren, zodat de implantaten niet kunnen worden beschadigd.
3. Goede begeleiding bij toedieningen en monsterafname.

#### 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 dieren worden beoordeeld aan de hand van de door de IvD opgestelde beslisboom in de interne SOP *Animal discomfort and humane endpoints*.

Tijdens de operaties: vroegtijdig bijkomen uit de diepe inhalatie-anesthesie, het niet meer zelfstandig ademen na een periode van ademhalingsondersteuning, convulsies of sterke bloedingen zijn redenen voor het toepassen van een humaan eindpunt.

In het geval dat we het dier laten bijkomen na de operatie, wordt een humaan eindpunt toegepast bij:

- het loskomen van canules of katheters;
- het loskomen van hechtingen gepaard gaand met grote verwondingen;
- convulsies;
- verlamming;
- algehele slechte conditie van het dier na operatie (op basis van parameters zoals gewicht (meer dan 15% gewichtsverlies), vacht, oogkleur, huidskleur, lichaamstemperatuur en gedrag).

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

0-5%, bij deze operaties zijn altijd meerdere medewerkers betrokken die tijdig kunnen ingrijpen om een kritieke situatie te vermijden.

In het geval dat we dieren laten bijkomen na de operatie wordt het dier geobserveerd tot de ervaren medewerker zeker is dat het dier stabiel is, of het dier wordt getermineerd. De borging van apparatuur, protocollen, veiligheid en kennis van de ervaren medewerkers maken dat het risico op dergelijke eindpunten klein is, maar ze kunnen niet volledig worden uitgesloten.

#### **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.

De volgende aspecten van deze experimenten zijn meegenomen in de overweging voor de ongerief classificatie:

In het geval van terminale procedures: terminaal.

Bij de dieren die we laten bijkomen uit de anesthesie is het cumulatieve ongerief voor alle dieren als matig in te schatten:

- Injectietechnieken (licht)
- Onder anesthesie brengen (licht)
- Bijkomen uit anesthesie (matig)
- Postoperatieve individuele huisvesting (licht)
- Handling ten behoeve van monsterafname (licht)
- Toedienen van een barbituraat onder anesthesie (terminaal)

Volwassen dieren (rat/muis):

Terminaal	55%
Licht	30%
Matig	15%

Neonatale dieren (rat/muis): 100% terminaal

#### **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	<p>Volledige vervanging voor deze experimenten is niet mogelijk omdat het gaat om het aanleren en onderhouden van <i>in vivo</i> technieken. De vaardigheden worden waar mogelijk zonder dierproeven aangeleerd:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- hechten oefenen op bijvoorbeeld een spons;</li> <li>- toedienen oefenen op kunstratten of plastic modellen;</li> <li>- computersimulaties of instructievideo's voor anatomische lessen en kennismaken met technieken;</li> <li>- meekijken bij de uitvoering van de techniek door een ervaren medewerker.</li> <li>- operaties en hechten oefenen op een recent getermineerd dier.</li> </ul> <p>Uiteindelijk worden de technieken aangeleerd zodat ze in een levend dier kunnen worden toegepast. Trainen en beoordelen of iemand bekwaam is in het uitvoeren van een techniek kan daarom alleen gebeuren wanneer gebruik wordt gemaakt van een levend dier.</p>
Vermindering	<p>Doordat na iedere training wordt geëvalueerd, wordt veiliggesteld dat zo min mogelijk dieren voor het trainen van iedere techniek gebruikt worden.</p> <p>Meerdere medewerkers kunnen verschillende technieken op één dier trainen, bijvoorbeeld het plaatsen van een vena jugularis-katheter door één medewerker, gevolgd door het plaatsen van een canule in de hersenen door een andere medewerker.</p> <p>Tenslotte zal verdere vermindering van dierproeven en proefdieren vooral merkbaar zijn bij het uitvoeren van de routine-experimenten (onder andere projectvergunningen). Doordat alle medewerkers goed getraind zijn volgens de standaardprocedures, worden uitval en variatie in de routine-experimenten verlaagd.</p>
Verfijning	<p>Bij het aanleren van nieuwe (operatie)technieken is altijd ervaren begeleiding aanwezig. Om negatieve gevolgen voor de dieren na de operatie te vermijden, laten we ze alleen uit de narcose bijkomen als de operatietechniek al goed aangeleerd is, en altijd met pijnstilling en onder observatie.</p> <p>Door het trainen van medewerkers en het optimaliseren van technieken draagt deze aanvraag bij aan verfijning van experimenten in onze andere projecten: door het aanleren en onderhouden van de operatietechnieken is het mogelijk om in routine-experimenten operaties met kortere anesthesieduur en zo min mogelijk weefselschade uit te voeren waardoor er minder ongerief voor de dieren ontstaat.</p>

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.

Het is soms mogelijk om voor deze experimenten dieren in te zetten die in eerdere experimenten zijn ingezet. Hergebruik is mogelijk omdat het verfijnen van vaardigheden het hoofddoel is van de experimenten en niet het verzamelen van experimentele gegevens.

Alleen als de te trainen/onderhouden techniek terminaal uitgevoerd wordt, kunnen dieren uit eerdere experimenten ingezet worden. Dit wordt alleen gedaan wanneer het ongerief in de voorgaande proef hooguit "matig" was en vooraf is vastgesteld dat de dieren geen resterend ongerief hebben overgehouden.

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.

Niet van toepassing.

### 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.

Post-mortem onderzoek aan de dieren levert belangrijke informatie over de bekwaming van de medewerker: is het juiste doelgebied bereikt, is de canule of katheter juist geplaatst met minimale schade aan het omringende weefsel?

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.

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

Nee > Beschrijf de dodingsmethode

Volwassen dieren worden onder isofluraanesthesie gedood door middel van een intracardiale barbituraat-overdosis of intracardiale perfusie. Neonatale dieren worden onder cryo-anesthesie gedecapiteerd.

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.





## Advies aan CCD

Datum 13 juli 2021  
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD202114908

Instelling: 5.1 lid2h  
Onderzoeker: 5.1 lid2e  
Project: Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes  
Aanvraagnummer: AVD202114908  
Betreft: Nieuwe aanvraag  
Categorieën: Fundamenteel onderzoek  
 Hoger onderwijs of opleiding

### 1 Inzicht in aanvraag en de eventuele knelpunten en risico's

Deze aanvraag is minder diepgaand getoetst vanwege een kwalitatief goed DEC-advies.

<b>Proces</b>	<p>Het Secretariaat heeft de volgende vragen gesteld aan de aanvrager:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- In bijlage 1 onder 2A, 2e sectie beschrijft u dat er algemene biotechnische vaardigheden worden getraind in het wakkere dier. Tot hoeveel handelingen kunnen er per dier plaatsvinden? Onder welke ongerief categorie horen deze dieren volgens sectie F?</li></ul> <p>NTS:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Onder "expected harms" benoemt u niet dat dieren mogelijk individueel gehuisvest worden. Kunt u dit nog toevoegen en hierbij ook benoemen welk effect dit heeft op de dieren.</li></ul>
---------------	--



Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
<b>3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	400 volwassen dieren, 100 neonatale dieren	500	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	500 volwassen dieren, 100 neonatale dieren	600	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn
<b>3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes</b>				
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )		25	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )		50	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn

### Huisvesting en verzorging anders dan Bijlage III Richtlijn

#### 3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden

Citaat: Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal getraind en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact. Daarnaast wordt altijd kooiverrijking aangeboden aan de dieren.

#### 3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

Citaat: Bij terminale procedures: niet van toepassing.

In het geval dat we een dier laten bijkomen uit de anesthesie (alleen als de techniek al eerder terminaal ontwikkeld en goed uitgevoerd is), moet het dier vanaf het ontwaken uit de anesthesie individueel gehuisvest worden om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. Het testen van de monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur.



### **Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren**

#### 3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden

Muizen (*Mus musculus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

Ratten (*Rattus norvegicus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

#### 3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes

Muizen (*Mus musculus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

Ratten (*Rattus norvegicus*) Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

<b>Locatie uitvoering experimenten</b>	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
--	--

### **2 DEC advies**

<b>DEC-advies</b>	<p>Citaten uit het DEC advies:</p> <p>C8 (proefopzet): Het project is goed opgezet en de experimentele opzet (via de verschillende stappen) sluiten goed aan bij de aangegeven doelstellingen. Er is wel uitgebreide aandacht geweest over de toegevoegde waarde in het leerproces om dieren na de ingreep bij de laten komen uit de narcose. Zie E3 (minderheidsstandpunt). Ook op een groot aantal andere punten heeft de DEC vragen gesteld om meer duidelijkheid te verschaffen. Na het beantwoorden van de vragen is die duidelijkheid er.</p> <p>C10 (huisvesting): Dieren worden in principe gehuisvest volgens de gestelde eisen, maar deels solitair, als de dieren moeten bijkomen uit de anesthesie om beschadigingen van de operatiewond, katheters of canules te vermijden. De monsterafname vindt veelal op de dag na de operatie plaats. In deze gevallen duurt de solitaire huisvesting, net als bij routine-experimenten, doorgaans niet meer dan 24 uur en maximaal 36 uur. Indien de functionaliteit van canules en katheters over meerdere dagen (maximaal 4 dagen na operatie op maandag: dinsdag-vrijdag) gevalideerd moet worden, worden de dieren gehuisvest in een speciaal ontworpen sociale "individual-group-housing-cage". Deze huisvesting met een geperforeerde perspex scheidingswand behoudt olfactorische, auditieve en visuele interacties tussen de dieren, maar beperkt het fysieke contact.</p> <p>Ethische afweging van de DEC:</p> <p>1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is of het belang van het trainen van medewerkers en studenten en het aanleren van nieuwe technieken de aantasting van het welzijn (terminaal en matig) en</p>
-------------------	---



de inbreuk op de integriteit van de gebruikte 1.175 proefdieren kan rechtvaardigen.

2. Er vindt een beperkte aantasting van welzijn en integriteit van de proefdieren plaats, met minimaal tot matig ongerief. Indien de hierboven genoemde doelstellingen behaald worden, zal dit project ertoe bijdragen dat de medewerkers en studenten adequaat getraind worden en competent en bekwaam zijn voor het uitvoeren van de benodigde handelingen voor experimenten die bij de aanvrager worden uitgevoerd. Ook nieuwe technieken kunnen daardoor zo verfijnd mogelijk worden toegepast. Dit is een groot belang, ook voor de vele toekomstige proefdieren die in de toekomst zullen worden ingezet in bij deze vergunninghouder en deels daarbuiten. Het belang van de proefdieren die in dit project gebruikt worden is daarmee kleiner.

3. De centrale morele vraag die beantwoord moet worden is: rechtvaardigt het grotendeels terminale ongerief en deels matige ongerief van de proefdieren het doel om medewerkers en studenten die stage lopen bij de onderzoekers adequaat te trainen en getraind te houden voor biotechnische handelingen die bij de vergunninghouder worden uitgevoerd? De DEC is van oordeel dat de training van medewerkers en studenten voor het uitvoeren van biotechnische handelingen in knaagdieren, zodat experimenten kwalitatief hoogwaardig kunnen worden uitgevoerd, een reëel belang vertegenwoordigt en dat dit reële belang opweegt tegen de beperkte aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

Het DEC advies is Positief

Het uitgebrachte advies is niet gebaseerd op consensus.

E2 Citaat: Het advies is een meerderheidsstandpunt. De DEC had aanvankelijk twijfels over een aantal aandachtspunten en heeft een groot aanvullende vragen gesteld. Die zijn naar het oordeel van de meerderheid van de leden helder en informatief beantwoord en voeden daarmee de rechtvaardiging.

Eén lid heeft geen sluitende argumenten gezien die het bijkomen uit anesthesie in een trainingssituatie noodzakelijk zou kunnen maken. Dit lid beroept zich hierbij vooral op het zeer lage aantal operaties in training dat niet succesvol verloopt (zie antwoorden boven 0,1-5%) en de zeer steile leercurve, en adviseert de aanvrager om deze dieren direct in te zetten voor het onderzoek. Eventuele uitval door onervarenheid zou



	<p>opgelost kunnen worden door meer dieren op te nemen, om te compenseren voor mislukte operaties of niet lopende canules. Voor studenten zonder concreet uitzicht op een werkrelatie met de opdrachtgever ziet dit lid überhaupt geen noodzaak voor het laten bijkomen uit de anesthesie van de dieren. Juist bij studenten geven de opleidingsrichtlijnen aan dat training zoveel mogelijk samen moet gaan met een experiment. Daarnaast is het onduidelijk hoe een complicatie bij het wakker worden van het dier (niet lopende canule, verlamming of anderzijds) gerelateerd kan worden aan het verloop van de ingreep. De overige DEC-leden delen de visie niet dat dieren die gebruikt en voor het trainen van medewerkers en studenten niet hoeven bij de komen uit de anesthesie: immers bij het ontwaken uit de anesthesie (of post mortem) kunnen bepaalde complicaties zichtbaar worden die onder anesthesie niet tot uitdrukking komen waar de student van kan leren. Daarnaast dient ook het katheteronderhoud getraind te worden.</p>
--	---

### 3 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	
<p>Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.</p> <p>U heeft voldoende inzicht gegeven in het minderheidsstandpunt en waarom de DEC toch een positief advies geeft.</p>	

### 4 Inhoudelijke beoordeling

<b>Belangen-verstrengeling</b>	Een medewerker van het Secretariaat heeft een arbeidsverleden bij de vergunninghouder dat minder dan 5 jaar geleden is beëindigd.
--------------------------------	---

#### 3V's

<p>Er is in voldoende mate onderbouwd dat de doelstelling niet zonder dieren behaald kan worden en het project met zo min mogelijk dieren en zo verfijnd mogelijk wordt uitgevoerd.</p>	
---	--

<b>Hergebruik</b>	Er is sprake van hergebruik van dieren.
-------------------	---



3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden: Citaat: Het is soms mogelijk om voor deze experimenten dieren in te zetten die in eerdere experimenten zijn ingezet. Hergebruik is mogelijk omdat het verfijnen van vaardigheden het hoofddoel is van de experimenten en niet het verzamelen van experimentele gegevens.

Alleen als de te trainen/onderhouden techniek terminaal uitgevoerd wordt, kunnen dieren uit eerdere experimenten ingezet worden. Dit wordt alleen gedaan wanneer het ongerief in de voorgaande proef hooguit "matig" was en vooraf is vastgesteld dat de dieren geen resterend ongerief hebben overgehouden.

3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes: Geen sprake van hergebruik.

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes	Ja	volgens de richtlijn.



<b>Naam proef</b>		
<b>3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden</b>		
Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	Ongerief: 55,0% Terminaal 15,0% Matig 30,0% Licht	
Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Ongerief: 55,0% Terminaal 15,0% Matig 30,0% Licht	
<b>3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes</b>		
Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	Ongerief: 75,0% Terminaal 25,0% Matig	
Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	Ongerief: 75,0% Terminaal 25,0% Matig	

## 5 Samenvatting

Het projectvoorstel bevat voldoende informatie over het belang, de strategie, de 3V's, het ongerief en de humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen. Het DEC-advies kan als grondslag dienen voor het besluit.

Dieren die na de operatie zullen bijkomen kunnen gedurende korte periode individueel gehuisvest worden om beschadiging van catheters, canules of operatiewond te vermijden. Tot 36 uur wordt dit in standaard kooien gedaan. Bij langere individuele huisvesting (36 uur tot 5 dagen) worden dieren in speciale "individual-group-housing-cage" kooien geplaatst waarbij visueel, auditief en olfactorisch contact in grotere mate mogelijk is dan bij standaard individuele huisvesting, maar fysiek contact niet plaats kan vinden. De DEC vindt voldoende onderbouwd waarom dieren individueel gehuisvest worden.

### 5.2 lid 1

Voor bijlage 1 zullen in bepaalde gevallen trainingen worden uitgevoerd in dieren die al eerder zijn ingezet in een experiment, dit zal alleen gebeuren als het ongerief terminaal is voor het proefdier en het dier eerder maximaal matig



ongerief ondervond. De DEC heeft gevraagd waarom dit in bijlage 2 niet mogelijk was en dit is door de aanvrager voldoende beantwoord in de ogen van de DEC. Het Secretariaat is van mening dat het hergebruik van de dieren in bijlage 1 verantwoord is en kan zich vinden in de onderbouwing waarom dit in bijlage 2 niet kan.

De DEC heeft veel vragen gesteld aan de aanvrager, met nadruk op de noodzaak om de dieren wakker te laten worden uit anesthesie en de noodzaak om de medewerkers te trainen met speciaal daarvoor bestemde dieren in plaats van de training te doen in een lopend experiment. Voor de meeste DEC leden geldt dat zij na de beantwoording van de vragen voldoende overtuigd zijn van de noodzaak van deze vergunningsaanvraag.

Het DEC advies is gebaseerd op een meerderheidsstandpunt. Eén van de DEC leden was na de beantwoording van de vragen niet voldoende overtuigd van de noodzaak om de dieren te laten bijkomen uit de narcose en vond onvoldoende onderbouwd waarom de handelingen niet in een lopend experiment aangeleerd konden worden.

Het Secretariaat **5.2 lid 1** [redacted]

#### **6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning**

Het Secretariaat **5.2 lid 1** [redacted]

De ingangsdatum van de vergunning kan niet voor de verzenddatum van de beschikking zijn en zal indien van toepassing aangepast worden. Dit is ook het geval bij een voorgenomen besluit.

#### **7 Concept beschikking voor akkoord CCD**





> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

5.1 lid2h  
5.1 lid2e  
5.1 lid2h



Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie  
Aanvraagnummer  
AVD **5.1 lid2h** 202114908  
Bijlagen  
3

Datum 13 juli 2021  
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte **5.1 lid2e**,

Op 5 mei 2021 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes " met aanvraagnummer AVD **5.1 lid2h** 202114908. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

#### Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om uw project uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning wordt afgegeven voor de periode van 13 juli 2021 tot en met 30 juni 2026.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

#### Procedure

##### Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie **5.1 lid2h** (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 29 juni 2021. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.



#### *Nadere vragen aanvrager*

Op 2 juli 2021 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op het verduidelijken van het verwachte ongerief en het aanvullen van de niet-technische samenvatting. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

#### **Datum:**

13 juli 2021

#### **Aanvraagnummer:**

AVS.1.102H02114908

#### **Overwegingen**

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

#### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de vergunninghouder valt.



**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl), stuur een e-mail naar [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl) of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

**Datum:**

13 juli 2021

**Aanvraagnummer:**

AVD5.1 lid2h 02114908

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:

**5.1 lid2h**

drs. F. Braunstahl  
Algemeen Secretaris

**Bijlagen:**

- Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving





# Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: 5.1 lid2h  
Adres: 5.1 lid2h  
Postcode en plaats: 5.1 lid2h  
Deelnemersnummer: 5.1 lid2h

deze projectvergunning voor het tijdvak 13 juli 2021 tot en met 30 juni 2026, voor het project "Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes" met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 202114908, na advies van dierexperimentencommissie 5.1 lid2h De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is 5.1 lid2h Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 5 mei 2021
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 5 mei 2021;
  - b Bijlagen dierproeven
    - 3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden, zoals ontvangen op 7 juli 2021;
    - 3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes, zoals ontvangen op 5 mei 2021;
  - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 7 juli 2021;
  - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 29 juni 2021
  - e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 7 juli 2021.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
<b>3.4.3.1. Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> ) / 400 volwassen dieren, 100 neonatale dieren	500	55,0% Terminaal 15,0% Matig 30,0% Licht
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) / 500 volwassen dieren, 100 neonatale dieren	600	55,0% Terminaal 15,0% Matig 30,0% Licht
<b>3.4.3.2. Het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	25	75,0% Terminaal 25,0% Matig
	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> )	50	75,0% Terminaal 25,0% Matig



Aanvraagnummer: AVD <sup>5.1 lid 2f</sup> 202114908

**Geldende voorschriften**

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, eerste lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.





**Aanvraagnummer:**

AVD ~~5.1.1426~~ 202114908

## Weergave wet- en regelgeving

### **Dit project en wijzigingen**

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven. Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

### **Verzorging**

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 van de wet staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

### **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd



**Aanvraagnummer:**AVD 5.1 lid 2F 202114908

voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

**Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b van de wet moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c van de wet volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d van de wet is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.



5.1 lid2e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** vrijdag 16 juli 2021 10:27  
**Aan:** 5.1 lid2h  
**Onderwerp:** Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD 5.1 lid2h 202114908

16

Geachte 5.1 lid2h

Op 05-05-2021 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Het aanleren en onderhouden van biotechnische vaardigheden en het ontwikkelen van nieuwe biotechnische methodes ' met aanvraagnummer AVD 5.1 lid2h 202114908.

De CCD heeft de aanvrager aanvullende vragen gesteld. De aanvullingen hadden betrekking op het verduidelijken van het verwachte ongerief en het aanvullen van de niet-technische samenvatting.

De CCD heeft besloten de vergunning toe te wijzen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht. De beschikking is verstuurd op 13-7-2021.

Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.

U heeft voldoende inzicht gegeven in het minderheidsstandpunt en waarom de DEC toch een positief advies geeft.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,  
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

5.1 lid2e  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

.....  
T: 0900 2800028  
E: info@zbo-ccd.nl