



Nationaal Comité
advies dierproevenbeleid

Genetisch gemodificeerde dieren in voorraad gedood

Advies, opgesteld door leden van het Nationaal
Comité advies dierproevenbeleid (NCad) in
opdracht van de Staatssecretaris
van Economische Zaken



Het NCad en haar werkwijze

Het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad) is ingesteld voor de bescherming van dieren die worden gebruikt voor wetenschappelijke doeleinden en voor onderwijs. Door advies, kennisuitwisseling en het ontwikkelen van (inter) nationale netwerken wil het NCad een belangrijke bijdrage leveren aan het minimaliseren van het proefdiergebruik, zowel nationaal als internationaal. De ethische toetsing van dierproeven en het Vervangen, Verminderen en Verfijnen (3V's) daarvan staan daarbij centraal.

Leden NCad

Herman Koëter (voorzitter), Henriëtte Bout, Frank Dales, Coenraad Hendriksen, Frauke Ohl, Jan-Bas Prins, Pieter Roelfsema



Samenvatting

Dieren in voorraad gedood zijn niet alleen afkomstig van genetische modificatieprojecten: ongeveer 25% van de dieren die vóór de proef worden gedood, betreft dieren die niet genetisch zijn gemodificeerd. De forse stijging van dieren in voorraad gedood is voornamelijk toe te schrijven aan experimenten met zebra-vissen en muizen.

De redenen om deze dieren te doden zijn voor een groot deel een ongeschikte genetische samenstelling, maar ook leeftijd, gewicht, of verkeerde geslacht dragen hieraan bij.

In voorliggend advies wordt voornamelijk ingegaan op het reduceren van het aantal genetisch gemodificeerde (GM-)dieren “dood of gedood in voorraad” en dan met name vissen en muizen. Het NCad attendeert echter ook op andere in haar ogen relevante aspecten die van invloed zijn op de dynamiek van het aantal en de soorten GM-dieren en plaatst de problematiek omtrent het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood in een breder perspectief.

De afgelopen jaren is een ontwikkeling zichtbaar waarbij een nieuwe innovatieve technologie om GM-dieren te maken, “genome-editing”, in toenemende mate de klassieke transgenese technologie vervangt. Naar verwachting maakt deze nieuwe technologie het mogelijk om met minder dieren dan tot nu toe het geval is een voor het experiment toegesneden genetisch veranderd dier te maken.

Het advies bouwt voort op eerdere initiatieven van het ministerie van Economische Zaken. Aangezien de wetenschappelijke en technologische

ontwikkelingen doorgaan, is het raadzaam dit advies periodiek te laten evalueren door het NCad en indien nodig te laten bijstellen.

Het NCad adviseert de Staatssecretaris met name:

Kwaliteitscriteria

- om de op gang gekomen virtuele centralisatie tussen instellingen met kracht voort te zetten en via de onderzoeksprogrammering die samenwerking te bevorderen. Het NCad concludeert dat bij integrale navolging van dit advies concentratie van het genereren van GM-dieren in zogenoemde “centres of excellence” geen meerwaarde heeft;
- om iedere instelling waar GM-dieren gefokt worden te verplichten om één of meerdere ter zake kundige fokcoördinatoren te benoemen. Daarvoor dient een op de functie toegesneden verplichte onderwijsmodule te worden ingericht;
- om de NVWA op te dragen de verschuivingen van aantallen proefdieren en dierproeven per registratiecategorie tussen registratiejaren als gevolg van de veranderde registratiesystematiek inzichtelijk te maken en om in het jaarverslag van de NVWA “Zo doende” de benaming van de categorie “dood of gedood in voorraad” te vervangen door de officiële benaming van de registratie categorieën.

Efficiëntiecriteria

- om de onderzoeksgroepen c.q. faciliteiten de opdracht te geven om uiterlijk aan het eind van 2016 een rapportage te overleggen waarin op basis van (inter)nationale ervaringsfeiten de verwachte reductie

van proefdieren wordt onderbouwd en wordt aangegeven hoeveel proefdieren maximaal gebruikt mogen worden voor één “genome-editing” experiment om een gewenst diermodel te genereren;

- om het genereren en fokken van GM-lijnen alleen toe te staan indien de betrokken instelling toegang heeft tot een state-of-the-art programma voor de cryogene opslag van embryo's en/of sperma en voor de revitalisatie van ingevroren materiaal;
- om bij de beoordeling en ethische toetsing van projectvergunningen door de CCD, de CCD de opdracht te geven consequent mee te wegen of de onderzoeker in zijn projectaanvraag aantoonbaar blijkt geeft het aspect van dieren “dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef” voldoende te hebben verkend en aantoonbaar dat aantal dieren tot een minimum te hebben beperkt. Het uitgangspunt moet zijn dat voor wat betreft de sekse in principe beide geslachten geïncorporeerd worden in de proefopzet. Daarnaast dienen de leeftijds- c.q. gewichtsgrenzen niet onnodig krap te worden gekozen;
- om de onderzoeksgroepen c.q. faciliteiten die een pioniersrol vervullen bij de ontwikkeling en/of implementatie van nieuwe technologieën van genetische modificatie, te verzoeken om onder leiding en aansturing van het NCad aanvullende criteria en kwaliteitsnormen voor te stellen, waaronder een significante afname van het aantal benodigde dieren voor het genereren van GM-dieren.

Het NCad wijst er op dat de “genome-editing” technologie het ook mogelijk maakt om van andere, “hogere”, diersoorten dan de muis en de zebrafish GM-dieren te maken. Daardoor kan het proefdiergebruik gaan

stijgen. Dit levert spanning op met de maatschappelijke wens om het proefdiergebruik verder te verminderen.

Het NCad is daarom van mening dat het oplossen van de problematiek omtrent het fokken van genetisch gemodificeerde dieren een brede aanpak vereist die gericht is op een per saldo vermindering van proefdieren.

Het NCad adviseert daarom tenslotte:

- Om, wijzend op de morele verantwoordelijkheid van betrokkenen, tijdig een open debat te entameren over de toepassing van “transgenese technologie” bij hogere diersoorten, aan de hand van concrete cases. Dit met de bedoeling om, al dan niet in Europees verband, tot beleidskaders te komen.

Summary: The killing of stock animals

Animals killed in stock are not only those from genetic modification projects: approximately 25% of the animals killed before the procedure are non-genetically modified animals. The substantial increase of animals killed in stock is primarily due to experiments with zebrafish and mice.

The main reason for killing these animals is that they have an unsuitable genetic composition. Other reasons include age, weight, or incorrect gender.

The present advisory report focuses primarily on reducing the number of genetically modified (GM) animals that “died or killed in stock”, especially fish and mice. However, the Netherlands National Committee for the protection of animals used for scientific purposes (NCad) also draws attention to other aspects that it considers relevant to the dynamics of the numbers and species of GM animals used. It also places the issue of the number of animals killed in stock in a broader perspective.

Recent years have seen the development of “genome editing”, a new and innovative technology that can be used to create genetically modified animals. Genome editing is increasingly replacing traditional transgenic technology. This new technology is expected to make it possible to create a genetically altered animal that is tailor-made for a given experiment while using fewer animals in the process than has hitherto been the case.

The advisory report builds on previous initiatives by the Ministry of Economic Affairs. Given the inexorable march of scientific and technological progress, it is advisable to have this advisory report periodically evaluated by the NCad and, if necessary, modified.

Specifically, the NCad recommends the Minister of Agriculture Quality criteria

- to provide a further boost to the virtual centralisation between licenced establishments that is now under way, and to promote such cooperation through the research agenda. The NCad concludes that concentrating the generation of GM animals in so-called “centres of excellence” (in full compliance with this advisory report) will have no added value;
- to oblige every licenced establishment where GM animals are bred to appoint one or more suitably qualified breeding coordinators. To this end, a compulsory training module should be formulated that is tailored to the post in question;
- to instruct the Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA) to clarify the shifts in laboratory animal numbers and animal procedures from one registration year to another, as a result of the changed registration system. The NVMA should also be instructed to replace the category of “died or killed in stock” with the official name of the registration categories, in “Zo doende” (the NVWA’s annual review of animal procedures and laboratory animals).

Efficiency criteria

- to instruct the research groups or facilities to submit, no later than the end of 2016, a report in which the expected reduction of laboratory animals is substantiated on the basis of national and international empirical evidence. This report should also indicate the maximum number of laboratory animals that may be used for a single genome-editing experiment, to generate a required animal model;
- to only permit the generation and breeding of GM lines if the licenced establishment has access to a state-of-the-art programme for the cryogenic storage of embryos and/or sperm, and for the revitalisation of frozen material;
- during the assessment and ethical review of project licences by the Central Authority for Scientific Procedures on Animals (CCD), instruct the CCD to routinely take into account whether, in the project application, the researcher in question has clearly shown that he/she has fully explored the aspect of animals that “died or were killed before being used in breeding programmes or animal procedures” and has demonstrated that he/she has kept the number of animals used to a minimum. The guiding principle must be that, with regard to the gender principle, both genders should be included in the procedure’s design. In addition, the selected age limits or weight limits should not be unnecessarily restrictive;
- to ask the research groups or facilities that are pioneering the development and/or implementation of new genetic modification technologies to introduce additional criteria and quality standards (under the direction and control of the NCad), including a significant reduction in the number of animals required to generate GM animals.

The NCad points out that genome-editing technology also makes it possible to generate GM animals from other, “higher” species than the mouse and the zebrafish. As a result, laboratory animal use could increase. That would be at odds with the social desire to further reduce laboratory animal use.

The NCad, therefore, believes that if the problems associated with the breeding of genetically modified animals are to be solved, then a comprehensive approach aimed at a net reduction in laboratory animals will be required.

Thus, in conclusion, the NCad’s final recommendations are as follows:

- With regard to the moral responsibility of those involved, to initiate a timely, open debate on the implementation of “transgenic technology” in higher animal species, based on specific cases. The ultimate aim here is to establish policy frameworks, possibly in a European context.

Index

1. Inleiding	8
2. Adviesvraag	10
3. Advies	11
3.1. Kwaliteitscriteria	11
3.1.1. <i>Virtuele Centralisatie</i>	11
3.1.2. <i>Monitoring van technologische ontwikkelingen</i>	11
3.1.3. <i>Fokmanagement versterken- fokcoördinator</i>	12
3.1.4. <i>NVWA – jaarregistratie en jaarverslag</i>	13
3.2. Efficiëntie-criteria	13
3.2.1. <i>Maken van GM-lijnen</i>	13
3.2.2. <i>Cryogene opslag</i>	13
3.2.3. <i>CCD –projectvergunningen: sekse en leeftijd</i>	14
3.3. Criteria en kwaliteitsnormen – “Best practices”	14
4. Onderbouwing	16
4.1. Kwaliteitscriteria	16
4.1.1. <i>Virtuele Centralisatie</i>	16
4.1.2. <i>Monitoren van technologische ontwikkelingen</i>	16
4.1.3. <i>Fokmanagement versterken- fokcoördinator</i>	19
4.1.4. <i>NVWA – jaarregistratie en jaarverslag</i>	19
4.2. Efficiëntie-criteria.	21
4.2.1. <i>Maken van GM-lijnen</i>	21
4.2.2. <i>Cryogene opslag</i>	21
4.2.3. <i>CCD –projectvergunningen: sekse en leeftijd</i>	22
4.3. Criteria en kwaliteitsnormen - “Best practices”	23
5. Geraadpleegde literatuur	24
Bijlage 1 - Achtergrond informatie	25
Transgenese faciliteit door wetenschap gedreven	25
Het maken van GM-dieren	25
Technologische ontwikkelingen en verwachte impact	26
Geconditioneerde GM-modellen	27
NVWA - jaarregistratie	28
Bijlage 2 - Maatschappelijke consultatie – Uitkomsten	30

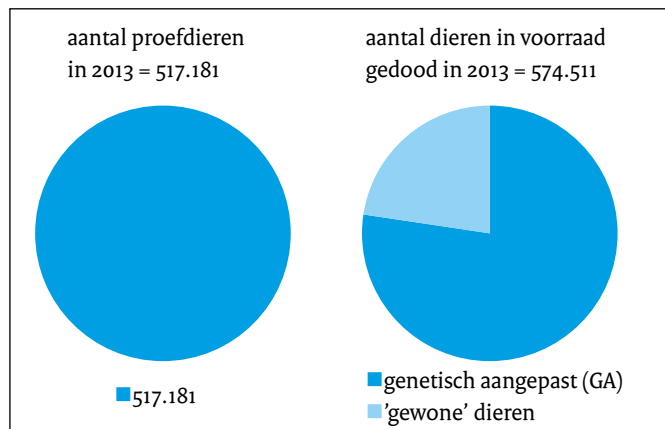
1. Inleiding

Dieren die in dierexperimenten worden gebruikt, worden veelal voor dat specifieke doel gefokt. Er worden tot op heden meer dieren gefokt dan dat er in dierexperimenten worden gebruikt. De niet gebruikte dieren worden gedood. Het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood is het laatste decennium fors gestegen.³ In 2013 was dit aantal zelfs hoger dan het aantal dieren waarmee daadwerkelijk experimenten werden uitgevoerd. Dit gegeven roept morele vragen op.⁴

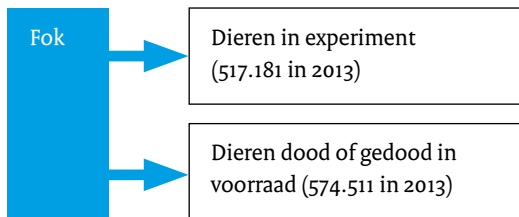
Er worden zowel dieren in voorraad gedood die genetisch gemodificeerd zijn als dieren die dat niet zijn. Minder dan 25% van de dieren die vóór de proef worden gedood, betreft dieren die niet genetisch zijn gemodificeerd.

Voor het merendeel, meer dan 75%, betreft het dus genetisch gemodificeerde dieren (GM-dieren).⁵ De forse stijging in het door de Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit (NVWA) gerapporteerde aantal dieren “dood of gedood in voorraad” gedurende het laatste decennium is volledig toe te schrijven aan GM-muizen en zebrafissen. Naast een voor het experiment ongeschikte genetische samenstelling kunnen ook voor de groep GM-dieren de leeftijd c.q. gewicht, te oud c.q. te zwaar, of verkeerde geslacht redenen zijn dat dieren ongeschikt zijn voor het experiment en gerapporteerd worden als “dood of gedood in voorraad” (zie ook het hoofdstuk NVWA-jaarregistratie en jaarverslag).

Met het beschikbaar komen van de technologie van genetische modificatie en de kennis van het genoom van de mens en de muis



werd het mogelijk doelgericht veranderingen in het genoom van de muis aan te brengen om zo representatieve modellen voor ziekten bij de mens te maken. Volgens de wetten van de erfelijkheidsleer resulteert de fok van GM-dieren met een of meerdere veranderde genen ook nakomelingen die niet de gewenste genetische samenstelling hebben. Deze dieren worden daarom gedood vóór de proef. Zowel de toename van het gebruik van GM-dieren in met name het biomedisch onderzoek als die van het aantal en omvang van complexe kruisingen en de stand van de technologie om GM-dieren te maken verklaren de toename van het aantal dieren “dood of gedood in voorraad”. In hoeverre de toename gerechtvaardigd wordt door de wetenschappelijke output en relevantie voor de gezondheid van mens en dier is onderwerp van debat.



Een nieuwe innovatieve technologie om GM-dieren te maken, “genome-editing”, vervangt in toenemende mate de klassieke transgene technologie en maakt het mogelijk om op relatief eenvoudige manier een diversiteit aan voor onderzoek potentieel interessante GM-lijnen te produceren. De ervaringen tot nu toe wijzen erop dat het aantal dieren dat voorheen nodig was om een

GM-muizenstam te maken aanzienlijk gereduceerd kan worden met de toepassing van de “genome-editing” technologie. De fok tot het verkrijgen van een stabiele lijn en de karakterisatie experimenten zullen als dierproeven geregistreerd worden. Aangezien het met de “genome-editing” technologie mogelijk is om GM-muizen te maken ongeacht de genetische achtergrond c.q. stam-type en meerdere modificaties tegelijk kunnen worden aangebracht zijn veel van de bovengenoemde complexe kruisingen niet meer of in mindere mate nodig en daarmee zal hun bijdrage aan het aantal dieren “dood of gedood in voorraad” verminderen of verdwijnen. De “genome-editing” technologie maakt het mogelijk om ook van andere “hogere” diersoorten dan de muis en zebrafis GM-dieren te maken.



Bovenstaande biedt kansen voor vermindering van het aantal dieren “dood of gedood in voorraad” en kan leiden tot betere proefdiermodellen voor ziekten van de mens en voor het vergroten

van wetenschappelijke kennis. Echter, een mogelijke keerzijde is dat het proefdiergebruik kan toenemen, onder andere als gevolg van de toepassing van deze technologie op meerdere diersoorten (Hendriksen & Spielmann, 2014) (Combes & Balls, 2014). Aangezien voor ieder “genome-editing” experiment een projectvergunning nodig is, is de Centrale Commissie Dierproeven bij uitstek gepositioneerd om ontwikkelingen en toepassingsgebieden te signaleren.

Gelet op de vraagstelling wordt in dit advies alleen ingegaan op het reduceren van het aantal GM-dieren “dood of gedood in voorraad” en dan met name vissen en muizen. Het NCad zal andere in haar ogen relevante aspecten die van invloed zijn op de dynamiek van het aantal en gebruik van soorten GM-dieren voor wetenschappelijke doeleinden nader in kaart brengen.

2. Adviesvraag

In haar adviesaanvraag van 31 maart 2015 verzoekt de Staatssecretaris van Economische Zaken het NCad om te komen tot: “een verdieping van efficiëntie- en kwaliteitscriteria bij het generen van genetisch gemodificeerde dieren binnen zogenaamde “centers of excellence”. “Dergelijke criteria dienen de kwaliteit van de fok van genetisch gemodificeerde dieren in Nederland te bevorderen en fokkers bewust te maken voor een mogelijke reductie van het totale aantal dieren welke hiervoor gebruikt worden. Het strekt tot aanbeveling deze criteria in eerste instantie te richten op het generen van genetisch gemodificeerde muizen en vissen (met klassieke en innovatieve methoden) in eigen beheer.”⁶

De Staatssecretaris verzoekt het NCad daarbij het advies van het Regulier Overleg Dierproeven en Alternatieven (RODA) uit 2014 mee te nemen als ook de resultaten van de internationale workshop “Bred but not used” en het advies van de toenmalige Centrale Commissie Dierproeven (CCD) aangaande gecentraliseerde fok van transgene dieren uit 2011.^{7, 8, 9}

3. Advies

De adviesaanvraag kan niet los worden gezien van de in de inleiding gesignaleerde bredere problematiek. Het advies doet ook enkele aanbevelingen daarover.

Het NCad adviseert de Staatssecretaris en alle partijen in de proefdierketen daarom volop in te zetten op een zorgvuldige toepassing en doorontwikkeling van de technologie binnen de kaders die hierna worden aangegeven.

Het advies gaat naast de mogelijke effecten van de snelle technologische ontwikkelingen ook in op een betere afstemming van vraag en aanbod van dieren.

Dit advies geeft aanbevelingen over hoe verdere kwaliteitsborging kan worden gerealiseerd en efficiëntie-criteria om het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood te reduceren.

De efficiëntie-criteria bieden tevens handvatten voor beoordelingen van projectaanvragen door de Centrale Commissie Dierproeven (CCD), waarbij de gehele levensloop van het dier, al dan niet genetisch veranderd, wordt meegewogen.

Dit advies bouwt voort op eerdere initiatieven van het ministerie van Economische Zaken. Aangezien de wetenschappelijke en technologische ontwikkelingen doorgaan is het raadzaam dit advies periodiek te laten evalueren door het NCad en indien nodig te laten bijstellen. Een eerste evaluatie zou kunnen samenvallen met de publicatie van het jaarverslag 2016 van de NVWA (medio 2017).

3.1. Kwaliteitscriteria

3.1.1 Virtuele Centralisatie

Het NCad adviseert de op gang gekomen virtuele centralisatie waarbij tussen instellingen gegevens uitwisseling plaatsvindt over beschikbare GM-lijnen in fok en als ingevroren embryo's en/of sperma met kracht voort te zetten.¹⁰ Zij adviseert om via de onderzoeksprogrammering die samenwerking te bevorderen. Het NCad concludeert dat bij integrale navolging van dit advies concentratie van het genereren van GM-dieren in zogenoemde "centres of excellence" geen meerwaarde heeft en neemt hiermee de conclusie over van het advies uit 2011 van de voormalige CCD.

3.1.2. Monitoring van technologische ontwikkelingen

In toenemende mate wordt de "genome-editing" technologie gebruikt voor het generen van GM-dieren. De verwachting is dat deze technologie op termijn de klassieke transgenese technologie zal vervangen (Skarnes, 2015).

Het NCad beveelt aan dat continue monitoring met periodieke voortgangsrapportage van de toepassing en verdere ontwikkeling van deze technologie plaats zal vinden. Dit zal het mogelijk maken om de gevolgen voor het genereren en fokken van GM-dieren, waaronder het aantal dieren dat vóór de proef gedood wordt, in kaart te brengen. Daartoe kan een opdracht worden gegeven aan een kennisinstituut in nauwe samenwerking met de NVWA als data verzamelaar.

Het NCad adviseert de
Staatssecretaris om iedere
instelling waar GM-dieren
gefokt worden te
verplichten om één of
meerdere ter zake kundige
fokcoördinatoren te
benoemen.

De “genome-editing” technologie maakt het mogelijk om sneller en eenvoudiger GM-dieren te maken ook in andere diersoorten dan muis en zebravis. Voor het genereren van GM-dieren is een projectvergunning nodig die pas wordt afgegeven door de CCD na zijn evaluatie van een zorgvuldige ethische toetsing door een erkende dierexperimentencommissie (DEC).

Het NCad wijst daarnaast op de morele verantwoordelijkheid van betrokkenen en adviseert de Staatssecretaris tijdig een open debat te entameren over de toepassing van “transgenese technologie” bij hogere diersoorten, zodra concrete relevante cases beschikbaar komen. Dit met de bedoeling om, al dan niet in Europees verband, tot beleidskaders te komen.

3.1.3. Fokmanagement versterken- fokcoördinator

Het fokken van GM-dieren is de gezamenlijke verantwoordelijkheid van de beheerder van de faciliteit waar de fok plaatsvindt en de onderzoeker c.q. eigenaar van de GM-lijnen. Om de kwaliteit en efficiëntie te kunnen waarborgen adviseert het NCad de Staatssecretaris om iedere instelling waar GM-dieren gefokt worden te verplichten om één of meerdere ter zake kundige fokcoördinatoren te benoemen. Daarvoor dient een op de functie toegesneden verplichte onderwijsmodule te worden ingericht. De fokcoördinator dient zodanig gefaciliteerd te worden dat hij/ zij optimaal fokmanagement kan uitvoeren. De fokcoördinator dient de IvD adequaat te informeren over de stand van het fokmanagement van alle (GM-)lijnen binnen de instelling.

3.1.4. NVWA – jaarregistratie en jaarverslag

Het NCad adviseert de Staatssecretaris om de NVWA op te dragen de verschuivingen van aantallen proefdieren en dierproeven per registratiecategorie tussen registratiejaren als gevolg van de veranderde registratiesystematiek inzichtelijk te maken. Het is van groot belang om vast te kunnen stellen of het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood daadwerkelijk daalt of dat sprake is van een verschuiving van tenminste een deel daarvan naar andere registratie categorieën. De verwachting is dat de gegevens van het rapportagejaar 2016 voldoende stabiel zijn voor zo'n eerste evaluatie.

Daarnaast hebben de innovaties en de zeer snelle ontwikkelingen van de technologie om GM-dieren te maken gevolgen voor de dynamiek van zowel het maken als het fokken van GM-dieren.

Om hier meer zicht in te krijgen, adviseert het NCad de Staatssecretaris de NVWA op te dragen om de redenen van “dood of gedood in voorraad” (onder andere ongeschikte genetische samenstelling of leeftijd/gewicht/sekse) op te nemen in de jaarregistratie en daarnaast in het jaarverslag van de NVWA “Zo doende” de kwantificeerbare verschillen te analyseren in aantallen in voorraad gedode dieren tussen de klassieke en nieuwe methoden.

Het NCad adviseert tevens om in het jaarverslag van de NVWA “Zo doende” de benaming van de categorie “dood of gedood in voorraad” niet meer te gebruiken en in plaats daarvan dezelfde benamingen te gebruiken als die van de categorieën waaronder de

NVWA vraagt dat deze dieren door de Instellingsvergunninghouders worden geregistreerd. Het NCad adviseert de jaarrapportage dierproeven en proefdieren te voorzien van een voor de maatschappij begrijpelijke toelichting, uitleg en duiding.

3.2. Efficiëntie-criteria

3.2.1. Maken van GM-lijnen

De Centrale Commissie Biotechnologie (CBD) heeft op basis van ervaringsfeiten destijds vastgesteld dat een gespecialiseerd transgenese laboratorium maximaal 150 proefdieren nodig heeft om met de klassieke transgenese methoden één GM-lijn te maken. Het NCad verwacht dat met de introductie van de “genome-editing” technologie dit aantal in de naaste toekomst aanzienlijk gereduceerd kan worden. Het NCad adviseert de Staatssecretaris om de onderzoeksgroepen c.q. faciliteiten de opdracht te geven om uiterlijk aan het eind van 2016 een rapportage te overleggen waarin op basis van (inter)nationale ervaringsfeiten de verwachte reductie van proefdieren wordt onderbouwd en wordt aangegeven hoeveel proefdieren maximaal gebruikt mogen worden voor één “genome-editing” experiment om een gewenst diermodel te genereren (zie 3.3. criteria).

3.2.2. Cryogene opslag

Het NCad adviseert de Staatssecretaris en de CCD om het genereren en fokken van GM-lijnen alleen toe te staan indien de betrokken instelling toegang heeft tot een state-of-the-art programma voor de cryogene opslag van embryo's en/of sperma en voor de revitalisatie

van ingevroren materiaal. Hierdoor zal het aanhouden van GM-lijnen in fok zonder dat ze onmiddellijk beschikbaar moeten zijn voor de beantwoording van een actuele wetenschappelijke vraag overbodig worden. De (inter)nationale uitwisseling van GM-lijnen kan dan deels plaatsvinden middels de uitwisseling van ingevroren embryo's of sperma in plaats van met levende dieren. Deze afweging zal per project moeten worden gemaakt waarbij naast het voorkómen van transport stress ook gelet dient te worden op de proefdierkundige en wetenschappelijke consequenties van het opnieuw moeten fokken van de benodigde proefdieren. De rol van de fokcoördinator in deze afweging is van doorslaggevend belang. Het NCad adviseert de Staatssecretaris om initiatieven te ontwikkelen om over dit onderwerp ook op internationaal niveau afspraken te maken.

3.2.3. CCD –projectvergunningen: sekse en leeftijd

Het NCad adviseert de Staatssecretaris om bij de beoordeling van de door de DEC uitgevoerde ethische toetsing van projectaanvragen, de CCD de opdracht te geven consequent mee te wegen of de onderzoeker in zijn projectaanvraag aantoonbaar blijkt geeft het aspect van dieren “dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef” voldoende te hebben verkend en aantoot dat aantal dieren tot een minimum te hebben beperkt. Dit advies geldt voor GM-dieren en niet-GM-dieren ongeacht de herkomst.

Het NCad is van mening dat de aanvrager op wetenschappelijke gronden de keuze van de inclusie criteria voor dieren voor een bepaald experiment in ieder geval voor wat betreft de sekse en de

maximaal toelaatbare spreiding van de leeftijd grondig dient te motiveren. Het uitgangspunt moet zijn dat voor wat betreft de sekse in principe beide geslachten geïnccludeerd worden in de proefopzet. De keuze voor slechts één sekse leidt namelijk onherroepelijk tot een fokoverschot van de andere sekse en dient dus gemotiveerd te worden.

Daarnaast dienen de leeftijds- c.q. gewichtsgrenzen zo ruim mogelijk te worden gekozen, maar bij deze keuze dient te worden meegewogen dat de spreiding van sekse en leeftijd kan leiden tot een grotere variantie in de onderzoeksuitkomsten. Het onnodig krap kiezen van leeftijd of gewicht leidt direct tot een verhoging van het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood (zie ook NWA Jaarregistratie). In deze afwegingen dienen de IvD en fokcoördinator nadrukkelijk te worden betrokken.

3.3. Criteria en kwaliteitsnormen – “Best practices”

Het NCad adviseert de Staatssecretaris om de onderzoeksgroepen c.q. faciliteiten die een pioniersrol vervullen bij de ontwikkeling en/of implementatie van nieuwe technologieën van genetische modificatie, te verzoeken om aanvullende criteria en kwaliteitsnormen voor te stellen, waaronder een significante afname van het aantal benodigde dieren, voor zowel het genereren, het fokken en gebruik van GM-dieren. Het NCad adviseert om het initiatief daarvoor neer te leggen bij het bestaande overleg van grote gebruikers en hen te vragen om uiterlijk aan het eind van 2016 een rapportage te overleggen waarin op basis van (inter)nationale ervaringsfeiten de verwachte reductie van proefdieren wordt

onderbouwd en wordt aangegeven hoeveel proefdieren maximaal gebruikt mogen worden voor één “genome-editing” experiment om een gewenst diermodel te genereren. Onder leiding en aansturing van het NCad dient dan op basis daarvan een “best practice” te worden opgesteld die door het NCad gepresenteerd wordt.

Aan de hand van deze “best practice” dienen projectaanvragen voor het genereren en/ of fokken van GM-dieren door de CCD te worden beoordeeld.

Het uitgangspunt moet zijn dat voor wat betreft de sekse in principe beide geslachten geïnccludeerd worden in de proefopzet.

4. Onderbouwing

4.1. Kwaliteitscriteria

4.1.1. Virtuele Centralisatie

In 2011 heeft de minister van het ministerie van VWS aan de toenmalige Centrale Commissie Dierproeven (CCD) gevraagd een advies op te stellen over de vraag of centralisatie van de fok van GM-dieren wenselijk en mogelijk is en of dit zal leiden tot minder in voorraad gedode dieren.¹¹ De toenmalige CCD maakte in haar advies onderscheid tussen centralisatie van de fok binnen de instelling en instelling overschrijdende centralisatie van de fok. Zij constateerde na raadpleging van het veld dat de fok van GM-dieren voor het overgrote deel in instellingen van wetenschappelijk onderzoek plaatsvindt en binnen die instellingen gecentraliseerd is. De toenmalige CCD concludeerde dat instelling overstijgende centralisatie van de fok van GM-dieren als zodanig slechts een beperkte reductie zou kunnen bewerkstelligen van het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood. Immers vrijwel de helft van het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood wordt gevormd door dieren waarvan de genetische samenstelling ongeschikt is voor de proef door de manier waarop genetische informatie vererft volgens de wetten van de erfelijkheidsleer (zie bijlage 1, NVWA-jaarregistratie). Hier verandert het feit of een lijn lokaal of centraal gefokt wordt niets aan. De in dit advies geschetste technologische ontwikkelingen verminderen de noodzaak tot centralisatie eveneens. De in ons advies beoogde kwaliteitsborging kan sneller worden gerealiseerd binnen de nu reeds gespecialiseerde

laboratoria, dan het realiseren van een centrale voorziening, waarvoor geen draagvlak is in het veld. Het NCad ziet dan ook geen toegevoegde waarde van centralisatie in het kader van dit advies. Het NCad ondersteunt de suggestie van de toenmalige CCD om het overleg tussen instellingen waar fok van GM-dieren plaatsvindt te stimuleren om verder vorm te geven aan virtuele centralisatie waarbij tussen instellingen gegevens uitwisseling plaatsvindt over beschikbare GM-lijnen in fok en als ingevroren embryo's en/ of sperma.¹² De praktijk in het onderzoeksveld met vissen kan daarvoor als voorbeeld dienen.

4.1.2. Monitoren van technologische ontwikkelingen

4.1.2.1. De ontwikkeling van de “genome-editing” technologie

De technologie voor het maken van GM-dieren heeft de afgelopen drie tot vier jaar een stormachtige ontwikkeling doorgemaakt. De technologie om genetische veranderingen aan te brengen is dusdanig verfijnd dat individuele bouwstenen van het DNA doelgericht en min of meer specifiek kunnen worden veranderd. Dit zogenoemde “genome-editing” is mogelijk geworden door gebruik te maken van bepaalde bacteriële enzymsystemen, waaronder het aan CRISPR-associated protein 9 nuclease van *Streptococcus pyogenes* (CRISPR/Cas9) (Sander & Joung, 2014). De eerste artikelen over CRISPR in bacteriën dateren al van 2002. Het toepassen van CRISPR/Cas9 voor het gericht veranderen van onderdelen van het genoom is van meer recente datum en verdringt op grote schaal de traditionele “transgenese technologie”. Daarbij komt dat de technologie zeer snel wordt verfijnd en verbeterd (Fu, Sander et al., 2014). Het heeft het genetisch onderzoek in een korte

tijd ingrijpend veranderd. De technologie maakt het mogelijk om op een eenvoudige manier en zeer snel het genoom te veranderen ter bestudering van de functie van genen en andere DNA segmenten (Singh et al., 2014). Daartoe kunnen eenvoudiger en sneller dan voorheen diersmodellen worden gemaakt ter bestudering van biologische processen van de “gezonde” en de “zieke” mens.

4.1.2.2. De toepassing van de nieuwe technologie bij de muis

Met de traditionele “transgenese technologie” waren onderzoekers voor het aanbrengen van bepaalde genetische veranderingen in de diersoort die wereldwijd op grote schaal zo niet het meest gebruikt wordt in biomedisch onderzoek, de muis, afhankelijk van de beschikbaarheid van embryonale stamcellen (ES-cellen) waarin vervolgens één bepaalde verandering kon worden aangebracht. Ondanks jaren van onderzoek zijn van slechts een beperkt aantal muizen inteeltstammen stabiele ES-cellijnen beschikbaar. Om de effecten van geïnduceerde genetische veranderingen op verschillende genetische achtergronden te bestuderen moeten daarom uitgebreide fokprogramma’s worden opgezet. Hetzelfde geldt voor het bestuderen van de combinaties van verschillende genetische veranderingen die tot voor kort alleen maar gemaakt werden door kruising van GM-lijnen met enkelvoudige genetische veranderingen. Deze fokprogramma’s hebben bijgedragen aan de stijging van het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood.

De “genome-editing” technologie, zoals CRISPR/Cas9, stelt ieder instituut met een gedegen moleculair biologische praktijk en ervaring in reproductie ondersteunende technologie (assisted reproductive

technology – ART) in staat om zonder de beperking van de beschikbaarheid van ES-cellen GM-dieren te maken met meerdere genetische veranderingen en op iedere gewenste genetische achtergrond. Als deze verwachte ontwikkeling doorzet vermindert de noodzaak van omvangrijke fokprogramma’s voor het in- en terugkruisen van GM-dieren en zal hun aandeel in het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood in de toekomst aanzienlijk worden gereduceerd. Aangezien het door de achterliggende moleculair biologische processen van “genome-editing” en de stand van de “genome-editing” technologie vooralsnog niet mogelijk is om met zekerheid een exacte kopie van een met CRISPR/Cas9 gemaakte GM-lijn te maken ook al wordt hetzelfde CRISPR/Cas9 complex gebruikt (Hsu, Lander et al., 2014), zal de fok van dieren voor de productie van embryo’s en/ of sperma voor de uitwisseling van GM-lijnen tussen instellingen van onderzoek nodig zijn.

Laboratoria die de CRISPR/Cas9 technologie gebruiken, meldden dat er met een enkele “genome-editing” experiment meerdere potentieel interessante mutante lijnen worden gegenereerd tegen slechts enkele in het geval van de klassieke transgenese methoden. Indien er na selectie op basis van biologische relevantie uiteindelijk meer voor het onderzoek interessante, stabiele lijnen overblijven kan de fok van die lijnen aanleiding geven tot een toename van het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood.

Een andere bij het Nederlands Kanker Instituut ontwikkelde innovatieve technologie voor het genereren van GM-lijnen met meerdere gemodificeerde genen is gebaseerd op het met moleculair

biologische technieken aanbrengen van extra genetische modificaties in GM-ES-cellen die geïsoleerd zijn uit GM-dieren (Huijbers et al., 2011). In hoeverre deze technologie zijn waarde voor het onderzoek zal behouden naast de “genome-editing” technologie zal moeten blijken.

4.1.2.3. De toepassing van de nieuwe technologie bij de zebravis

De toename van het aantal dieren in voorraad gedood van de afgelopen jaren kan bijna volledig toegeschreven kan worden aan de GM-zebravissen. In het genetisch onderzoek met zebravissen werd vóór de introductie van “genome-editing” methodes onder andere gebruik gemaakt van chemische mutagenese in het kader van een “forward genetics” benadering.¹³ Daartoe werden mannelijke zebravissen blootgesteld aan chemische mutagenen om random mutaties in het DNA van spermacellen aan te brengen. Deze mannen werden vervolgens met veel vrouwen gepaard om zoveel mogelijk nakomelingen te genereren. De F₁-generatie bevat alle mutaties. De individuele nakomelingen werden vervolgens geanalyseerd op de aanwezigheid van een of meerdere afwijkingen. Van de dieren met een afwijking werd vervolgens het DNA geanalyseerd om de verantwoordelijk mutatie(s) te identificeren en om daar een functie aan te koppelen (Knapik, 2000). Na maximaal drie jaar was de F₁-generatie uitgestorven, werd een nieuw mutagenese experiment gestart en werden de oude fokdieren vervangen wat leidde tot een significante toename van het aantal dieren dat vóór de proef werd gedood. Met de introductie van de CRISPR/Cas9 technologie is een aantal onderzoekers afgestapt van het uitvoeren van grootschalige mutagenese experimenten.

Daarnaast leent het zebravis embryo zich uitstekend voor de introductie van DNA coderend voor een functioneel gen door middel van injectie. Op deze manier worden GM-dieren gemaakt die direct in het onderzoek worden gebruikt, wat ook bijdraagt aan de reductie van het aantal dieren dat vóór de proef gedood wordt. Indien de implementatie van deze technieken inderdaad de grootschalige mutagenese experimenten vervangen, zal de bijdrage van de zebravis aan het aantal dieren dood of gedood in voorraad af moeten nemen.

Echter, zolang het volledige genoom voor wat betreft functionaliteiten niet in kaart is gebracht zal de “forward genetics” benadering niet volledig vervangen worden door “reverse genetics” benaderingen, waartoe “genome-editing” methodes gerekend kunnen worden.¹⁴

4.1.2.4. Toepassingsgebieden van CRISPR/Cas9 in de toekomst

De snelheid en omvang waarmee de “genome-editing” technologie wordt omarmd en toegepast kunnen leiden tot maatschappelijke ongerustheid aangezien deze ontwikkelingen ogenschijnlijk voortgaan zonder adequate (maatschappelijke) kaderstelling (Ledford, 2015). Met de introductie van de CRISPR/Cas9 technologie is de beperking van de diersoorten waarin genetische veranderingen kunnen worden aangebracht komen te vervallen (Niu, Shen et al., 2014). Aangezien ook voor ieder “genome-editing” experiment een projectvergunning nodig is, is de CCD bij uitstek gepositioneerd om ontwikkelingen en nieuwe toepassingsgebieden te signaleren en desnoods kader stellend op te treden. De toepassing van CRISPR/Cas9

als therapie voor de behandeling van genetische afwijkingen bij de mens is een ontwikkeling van de toekomst (Hsu et al., 2014).

4.1.3. Fokmanagement versterken- fokcoördinator

Het aanstellen van één of meerdere fokcoördinatoren is zeer relevant in het kader van het beheer van het toenemende aantal GM-lijnen van potentieel verschillende en andere diersoorten dan tot nu toe het geval is geweest. Bij de academisch (medische) centra zijn functionarissen belast met fokmanagement taken. Echter tijdens een eerste evaluatie (juli 2015) is gebleken, dat er grote verschillen tussen de instituten bestaan voor wat betreft welke functionaris belast is met de fokmanagement taken en de invulling van die taken. Iedere instelling waar GM-dieren gefokt worden moet verplicht worden één of meerdere fokcoördinatoren te benoemen.

De fokcoördinator dient gedegen kennis te hebben van fok van de betreffende diersoort(en). Hij of zij moet op de hoogte zijn van de verschillende (inter)nationale databases en beschikbare verzamelingen van GM-lijnen, zoals in het kader van de pan-Europese onderzoek infrastructuur voor het systematisch karakteriseren, archiveren en verspreiden van muis ziektemodellen, INFRAFRONTIER (Infrafrontier Consortium, 2015).¹⁵ Hij of zij dient de kwaliteit te hebben om met zowel diervverzorgers en biotechnici als met onderzoekers van promovendi tot de hoofdonderzoeker (PI – principal investigator) effectief te kunnen communiceren om de verantwoordelijkheid voor de fok die gedeeld wordt met de eigenaar onderzoeker, te kunnen nemen.

Deze kwaliteiten kunnen deels door ervaring eigen gemaakt worden. Echter, het NCad stelt dat een speciaal op deze doelgroep toegesneden verplichte onderwijsmodule moet worden ontwikkeld om de benodigde theoretische kennis gestructureerd aan te bieden.

Het werk van de fokcoördinator(en) en daarmee van de unit of faciliteit waar de fok plaatsvindt, dient ondersteund te worden met een systeem toegesneden om de fok specifieke gegevens te registreren en periodiek te analyseren. Bij voorkeur kunnen met hetzelfde systeem alle wettelijk vereiste gegevens in het kader van de jaarlijkse rapportage aan de overheid worden geregistreerd.

Tot de taken van de IvD hoort in dit verband het adviseren van het personeel dat met dieren omgaat over dierenwelzijnskwesties in samenhang met de aanschaf, huisvesting, de verzorging en het gebruik van de dieren en over de toepassing van de 3Vs. Daarnaast wordt de IvD geacht de ontwikkeling en de resultaten van projecten te volgen rekening houdend met de effecten op de gebruikte dieren.¹⁶ In dat kader is de IvD een partner van de fokcoördinator bij de uitvoering van zijn/ haar taak. De IvD ziet erop toe dat de “best practices” worden toegepast en periodiek worden geactualiseerd.

4.1.4. NVWA – jaarregistratie en jaarverslag

4.1.4.1. Veranderde registratiesystematiek

Over de herziene Wod is de registratiesystematiek van proefdieren veranderd. De nieuwe definitie van een dierproef, en de uitwerking daarvan in de registratie middels het Uitvoeringsbesluit 2012/707 en

Het invriezen en ontdooien van embryo's en sperma dienen tot de routine procedures te behoren zodat de cryogene opslag van uniek genetisch materiaal en lijnen die (tijdelijk) niet nodig zijn voor onderzoeksdoeleinden mogelijk is.

het Nederlandse registratieboekje, kan leiden tot een verandering in de categorieën als “dood of gedood vóór de proef” versus “dood of gedood tijdens de proef” en “dood of gedood na de proef”.¹⁷ Voor een groot aantal dieren verandert er niets: zowel in de oude als in de nieuwe registratie moeten dieren die gefokt of gebruikt worden met een zekere mate van ongerief geregistreerd worden als dierproef. Een aantal dieren dat vóór de herziening in de categorie “gedood of doodgegaan vóór de proef” werden geregistreerd, zullen in de nieuwe systematiek als “dood of gedood tijdens of in het kader van de proef” worden aangemerkt. Met name bij het kruisen en creëren van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen zal er in de tweede en volgende generatie sprake zijn van meer dieren die als dierproef worden geregistreerd in de nieuwe registratie. Dit heeft onder andere betrekking op chemisch geïnduceerde mutanten die voorheen niet als dierproef werden gezien. Ook het kruisen van twee stabiele GM-lijnen zal onder de nieuwe systematiek gezien worden als een fok met ongerief en dus als dierproef totdat na minimaal twee generaties sprake is van stabiele vererving en onomstotelijk is vastgesteld dat de dieren als gevolg van de genetische veranderingen geen ongerief ondervinden. Andere aspecten van de nieuwe systematiek kunnen ook invloed hebben op het aantal dieren dat wordt geregistreerd als “dood of gedood vóór” versus “na de proef”. De grootte van deze invloeden en het netto resultaat daarvan kunnen pas over een paar jaar beoordeeld worden. De verwachting is dat de gegevens van het rapportagejaar 2016 voldoende stabiel zijn voor zo'n eerste evaluatie.

4.1.4.2. Gebruikte terminologie

De toenmalige CCD constateerde, dat de omschrijving “dood of gedood in voorraad” maar zeer beperkt op de categorie GM-dieren van toepassing is.⁴⁸ Immers de fok van GM-lijnen vereist veelal complexe kruisingsprotocollen als gevolg waarvan slechts een deel van de nakomelingen het genotype heeft dat nodig is voor het onderzoek. De overige nakomelingen hebben de genetische modificatie(s) niet en worden veelal zonder dat ze in proef zijn geweest gedood. De dieren worden door de onderzoekinstellingen dan ook gerapporteerd als “dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef” of “dood of gedood na gebruik in fok” (NVWA Registratieboek 2014). In de jaarrapportage dierproeven en proefdieren van de NVWA, “Zo doende”, werden die dieren tot en met het registratiejaar 2013 gerapporteerd als “dood of gedood in voorraad”. De referentie naar “voorraad” heeft een andere connotatie dan “vóór gebruik in fok of dierproef” of “na gebruik in fok”. Het NCad adviseert derhalve om dezelfde omschrijving te hanteren als die vermeld is in de registratie instructie van de NVWA.

Meer in zijn algemeenheid adviseert het NCad in het belang van communicatie met de maatschappij om de “Zo doende” te voorzien van een begrijpelijke toelichting, uitleg en duiding en te kiezen voor een eenduidige voor slechts één uitleg vatbare terminologie.

4.2. Efficiëntie-criteria.

4.2.1. Maken van GM-lijnen

Momenteel is in Nederland slechts bij een beperkt aantal academische centra een laboratorium aanwezig dat gespecialiseerd is in het maken van GM-lijnen. Deze transgenese laboratoria zijn opgezet door de wetenschappers waarvan de voortgang van het eigen onderzoek afhankelijk is van de beschikbaarheid van specifieke GM-lijnen. Deze wetenschappers genereren GM-lijnen in eerste instantie voor eigen gebruik, in tweede instantie voor die collega’s waarmee samenwerkingsverbanden bestaan en uiteindelijk voor derden. De uitwisseling tussen collega’s waar sprake is van instelling-overschrijdende samenwerking op onderzoeksthema’s, gaat verder dan het uitwisselen van gegevens en strekt zich uit tot de uitwisseling van GM-lijnen.

De nu nog als “best practice” gehanteerde kwaliteitscriteria die de CBD destijds gebruikte voor de vaststelling van het maximaal aantal van 150 dieren dat nodig was om met de nu klassieke transgenese methoden één GM-lijn te maken, zijn opgesteld op basis van ervaringsfeiten. Mede vanwege de genoemde efficiëntie van de “genome-editing” technologie heeft het NCad de verwachting dat dit aantal in de toekomst aanzienlijk gereduceerd kan worden.

4.2.2. Cryogene opslag

Onderzoekinstellingen waar fok van GM-dieren plaatsvindt moeten ervoor zorgen dat ze de infrastructuur en kennis en kunde hebben om met genetisch materiaal als embryo’s en sperma (germplasm) te kunnen omgaan. Het invriezen en ontdooien van embryo’s en sperma

Mede vanwege de genoemde efficiëntie van de ‘genome-editing’ technologie heeft het NCad de verwachting dat het aantal dieren dat nodig is om een GM-lijn te maken in de toekomst aanzienlijk gereduceerd kan worden.

dienen tot de routine procedures te behoren zodat de cryogene opslag van uniek genetisch materiaal en lijnen die (tijdelijk) niet nodig zijn voor onderzoeksdoeleinden mogelijk is. Het is van belang daarbij zoveel mogelijk dezelfde standaard protocollen te gebruiken. De uitwisseling van GM-lijnen, ook die gemaakt zijn met de “genome-editing” technologie, kan daardoor in veel gevallen vermoedelijk beperkt blijven tot de uitwisseling van embryo’s en/ of sperma. Echter, naast het voorkómen van transport stress die optreedt bij uitwisselingen van levende dieren, dient ook rekening te worden gehouden met de consequenties van revitalisatie voor de dieren en het onderzoek. De rol van de fokcoördinator en IvD in deze afweging is van doorslaggevend belang. Voorts dienen de fokcoördinator en de onderzoeker zich rekenschap te geven van de aanwezigheid van de verschillende bio-banken als bron van kwaliteit gecontroleerde (GM-) stammen en om de noodzaak van het (nogmaals) opslaan van embryo’s en/ of sperma van een stam te bepalen.

De onderzoekscentra die niet in de positie zijn om zo’n ondersteunende infrastructuur in huis te hebben, moeten ervoor zorgen tenminste toegang te hebben tot fok ondersteunende diensten die aanwezig zijn bij publieke instellingen en consortia als de European Mouse Mutant Archive (EMMA) thans onderdeel van het eerder genoemde INFRAFRONTIER.

4.2.3. CCD –projectvergunningen: sekse en leeftijd

De nieuwe “gene-editing” methodes, zoals CRISPR/Cas9, maken het voor iedereen met kennis en kunde van moleculair biologische technieken mogelijk om GM-lijnen te maken. Daarvoor is een

projectvergunning nodig. Dat biedt meteen aanknopingspunten voor het vaststellen van aangepaste criteria op basis van ervaring opgedaan in de praktijk door de Centrale Commissie Dierproeven (CCD). Vooral bij de invulling van de ethische toetsing waarbij de intrinsieke waarde van het dier als uitgangspunt wordt genomen kan de CCD met concrete handvatten sturing geven aan de aantallen dieren die in voorraad worden gedood. De CCD zou bij de afweging voor een projectvergunning consequent moeten mee wegen of de aanvrager het aspect van dieren “dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef” voldoende heeft verkend en betrokken in de projectaanvraag, ook als de dieren op bestelling worden geleverd door een proefdierleverancier, bijv. door het vragen naar een statement over het betrokken aantal dieren. Dit geldt ook voor de IvD bij de technische toets van de voorgestelde dierproeven onder de projectvergunning.

Het NCad is van mening dat de aanvrager op wetenschappelijke gronden de keuze van de inclusie criteria voor dieren voor een bepaald experiment in ieder geval voor wat betreft de sekse en de maximaal toelaatbare spreiding van de leeftijd grondig dient te motiveren. Het uitgangspunt moet zijn dat voor wat betreft de sekse beide geslachten geïnccludeerd worden in de proefopzet en dat de spreiding van de leeftijd niet onnodig krap wordt gekozen. De keuze voor slechts één sekse leidt onherroepelijk tot een fokoverschot van de andere sekse. De keuze voor een beperkte leeftijdstolerantie, bijvoorbeeld dieren van 6 weken oud versus dieren van 6 tot 8 weken oud, leidt onherroepelijk tot de noodzaak van het fokken van meer dieren om voldoende fokparen te hebben die tegelijkertijd nesten

kunnen werpen voor de productie van het benodigde aantal geschikte nakomelingen voor het experiment.

4.3. Criteria en kwaliteitsnormen - “Best practices”

De “genome-editing” technologie vervangt reeds in toenemende mate de klassieke methoden die technologisch complexer, arbeidsintensiever en tijdrovender zijn. Dit proces kan verder gefaciliteerd worden door faciliteiten die een pioniersrol vervullen bij de ontwikkeling en/of implementatie van nieuwe technologieën van genetische modificatie, te vragen hiervoor aanvullende criteria en kwaliteitsnormen op te stellen en dan voor zowel het genereren als de fok van GM-dieren. Andere (kleinere) instituten dienen zich hieraan te conformeren. Tevens kunnen zij hun kennis en expertise beschikbaar maken door het geven van trainingen. Zo kan een snelle implementatie over de verschillende instituten worden bevorderd en op kwaliteit worden gestuurd waarbij retrospectief kan worden gekeken of instituten aan een dergelijke norm voldoen. Daarbij is het ook zinvol dat deze gespecialiseerde instituten nieuwe criteria vaststellen voor het maximaal aantal dieren dat nodig is om een GM-lijn te creëren.

De gespecialiseerde instituten dienen tevens uitspraken te doen, vergelijkbaar met wat in de humane gezondheidszorg gebruikelijk is, over de minimaal benodigde frequentie van het maken van GM-lijnen om de noodzakelijke vaardigheid voor het genereren van GM-lijnen op te bouwen en te behouden.

5. Geraadpleegde literatuur

Combes RD, Balls M (2014) The three rs - opportunities for improving animal welfare and the quality of scientific research. *Altern Lab Anim* 42: 245-59

Fu Y, Sander JD, Reyon D, Cascio VM, Joung JK (2014) Improving CRISPR-Cas nuclease specificity using truncated guide RNAs. *Nat Biotechnol* 32: 279-84

Hendriksen C, Spielmann H (2014) New Techniques for Producing Transgenic Animals - a Mixed Blessing from Both the Scientific and Animal Welfare Perspectives. *Atla-Altern Lab Anim* 42: 93-94

Hsu PD, Lander ES, Zhang F (2014) Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. *Cell* 157: 1262-78
Huijbers IJ, Krimpenfort P, Berns A, Jonkers J (2011) Rapid validation of cancer genes in chimeras derived from established genetically engineered mouse models. *Bioessays* 33: 701-10

Infrafrontier Consortium (2015) INFRAFRONTIER--providing mutant mouse resources as research tools for the international scientific community. *Nucleic Acids Res* 43: D1171-5

Knapik EW (2000) ENU mutagenesis in zebrafish--from genes to complex diseases. *Mamm Genome* 11: 511-9X

Ledford H (2015) CRISPR, the disruptor. *Nature* 522: 20-4

Niu Y, Shen B, Cui Y, Chen Y, Wang J, Wang L, Kang Y, Zhao X, Si W, Li W, Xiang AP, Zhou J, Guo X, Bi Y, Si C, Hu B, Dong G, Wang H, Zhou Z, Li T et al. (2014) Generation of gene-modified cynomolgus monkey via Cas9/RNA-mediated gene targeting in one-cell embryos. *Cell* 156: 836-43

Russell WMS, Burch RL (1959) The principles of humane experimental techniques. Methuen and Company, London

Sander JD, Joung JK (2014) CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nat Biotechnol* 32: 347-55

Singh P, Schimenti JC, Bolcun-Filas E (2014) A Mouse Geneticist's practical guide to CRISPR applications. *Genetics* 199: 1-15

Skarnes WC (2015) Is mouse embryonic stem cell technology obsolete? *Genome biology* 16: 109

Bijlage 1 - Achtergrond informatie

Transgenese faciliteit door wetenschap gedreven

Het genereren, fokken en gebruiken van GM-dieren voor wetenschappelijke doeleinden vindt voor het overgrote deel plaats binnen de universitaire en de universitair medische centra en bij instituten van de KNAW. De staatssecretaris heeft in november 2014 tijdens een eerste bijeenkomst met vertegenwoordigers van “de grootste gebruikers” van GM-dieren aan hen gevraagd om afspraken te maken over het omzetten in de praktijk van de aanbevelingen van de Internationale workshop “Bred but not used” en het toenmalige RODA. De vertegenwoordigers hebben hun visie gegeven op de staande “transgenese praktijk” in Nederland. GM-lijnen worden gemaakt vanwege een concrete onderzoeksvraag. Het maken van GM-dieren is dus geen doel op zich. Momenteel is in Nederland slechts bij een beperkt aantal academische centra een laboratorium aanwezig dat gespecialiseerd is in het maken van GM-dieren. Deze transgenese laboratoria zijn opgezet door de wetenschappers waarvan de voortgang van het eigen onderzoek afhankelijk is van de beschikbaarheid van specifieke GM-lijnen. Deze wetenschappers genereren GM-dieren in eerste instantie voor eigen gebruik, in tweede instantie voor die collega’s waarmee samenwerkingsverbanden zijn en uiteindelijk voor derden. De uitwisseling tussen collega’s waar sprake is van instelling overschrijdende samenwerking op onderzoeksthema’s beperkt zich niet tot het uitwisselen van gegevens, maar strekt zich uit tot de uitwisseling van GM lijnen.

In de gevallen waarin een transgenese faciliteit daadwerkelijk als faciliteit opereert, wordt die door een onderzoeker met een eigen onderzoeksprogramma gerund. Alleen dan blijkt de faciliteit in staat om nieuwe technologie zelf te ontwikkelen en/ of door anderen ontwikkelde technologie te implementeren.

Een publieke instelling dient zich rekenschap te geven van zijn publieke functie en de informatie over de gemaakte GM-lijnen zonder inbreuk te maken op privacy en intellectueel eigendom openbaar te maken door de informatie aan te melden voor registratie in de daarvoor relevante databases. Door het delen van die informatie kan voorkomen worden dat dezelfde GM-lijn nogmaals wordt gemaakt al kan de ontwikkeling van de genome-editing technologie ertoe leiden dat het eenvoudiger en efficiënter wordt om een lijn opnieuw te maken dan om (extra) dieren te fokken of wel om een lijn op te slaan in de vorm van embryo’s en/of sperma.

Het maken van GM-dieren

Vanaf 1 april 1997 tot 1 januari 2010 gold voor het maken van “transgene dieren” een nee-tenzij beleid. GM-dieren mochten niet gemaakt worden tenzij daarvoor een vergunning van de minister was afgegeven. Een vergunning werd verleend indien: de handelingen geen onaanvaardbare gevolgen hadden voor de gezondheid en het welzijn van dieren en tegen de handelingen geen ethische bezwaren bestonden. Om te bepalen of aan deze voorwaarden was voldaan vroeg de minister advies aan de Commissie Biotechnologie bij Dieren (CBD). Op 1 januari 2010 trad de Regeling betreffende de vrijstelling van biotechnologische technieken ten behoeve van biomedisch

onderzoek in werking. De vergunningplicht kwam daarmee te vervallen en de toetsing werd overgedragen aan de Dierexperimentencommissies (DECs).

Naar het oordeel van de CBD waren er voor het genereren van een transgeen of knock-out dier van waaruit een volledige GM lijn kan worden gefokt, een zogenoemde “founder” (stamouder) in totaal 50 dieren nodig. De CBD nam aan dat per lijn drie founders gegenereerd worden en kwam op grond daarvan tot een aantal van 150 dieren, dat maximaal nodig is om een GM-lijn te maken. In haar adviezen vermeldde de CBD onder andere welke dieren betrokken waren bij het maken van een GM-lijn en wat de aanvrager inschatte als het ongerief dat deze dieren mogelijk zouden ervaren. In een van haar adviezen verwoordde de CBD

het als volgt: “In een goed geoutilleerd transgenenlaboratorium met ervaren medewerkers dient een gemiddelde van 150 dieren voldoende te zijn voor het genereren van een GM muizen lijn door middel van micro-injectie embryonale stamcellen (ES-cellen) in blastocysten.” De CBD betrok in haar advies dus de stand van de technologie en de “kwaliteit” van de aanvrager.

Technologische ontwikkelingen en verwachte impact

De ISTT is een internationale, wereldwijd opererende organisatie op het gebied van transgenese van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden gebruikt worden. De organisatie heeft een 3V-commissie die een visie op de gevolgen van de toepassing van gene-editing methodes zoals CRISPR/Cas9 heeft gedeeld.

Samengevat komt die erop neer, dat de technologie sinds enkele jaren wordt toegepast, veelbelovend is, en waarvan de specificiteit waarmee mutaties kunnen worden aangebracht zal verbeteren door verfijning van de technologie. De verwachting van de 3V-commissie is dat het aantal dieren dat nodig is om een transgene lijn te maken zal afnemen. Daarnaast biedt de technologie de mogelijkheid om meerdere modificaties tegelijk aan te brengen wat leidt tot de fok van minder dieren in die gevallen waar voorheen nog GM-dieren met verschillende enkelvoudige modificaties gekruist moesten worden om de gewenste combinatie van enkelvoudige modificaties in één dier te realiseren. De 3V-commissie verwacht dat deze ontwikkeling nog zeker tot 10 jaar nodig heeft om die benodigde specificiteit en efficiëntie te bereiken. Daarnaast noemt de ISTT commissie dat nu ook van de diersoorten waar geen embryonale stamcellen van beschikbaar zijn en dus met de traditionele genetisch modificatie technologie geen GM-dieren gemaakt konden worden, met de gene-editing technologie wel degelijk GM-dieren kunnen worden gemaakt. De eerste GM-dieren van de rat, geit en ook van de Marmoset aap zijn al gemaakt. Die gemaakte GM-lijnen zullen gefokt worden en bijdragen aan het totaal aantal dierproeven en dieren die voor de proef worden gedood. Echter de ISTT 3V-commissie verwacht geen significante toename van het aantal proefdieren als gevolg van de toepassing van de CRISPR/Cas9 gene-editing technologie. Op termijn ziet de commissie kansen om het aantal dieren dat in voorraad gedood wordt te verminderen. Anderen verwachten een nadrukkelijke stijging van het gebruik van het aantal GM-dieren door de mogelijkheid van nieuwe ziektemodellen in hogere diersoorten en het successievelijk

aanhouden van een toenemend aantal lijnen GM-dieren. Zij constateren dat dit ingaat tegen het huidige beleid in Nederland en de Europese Unie (Hendriksen & Spielmann, 2014).

Vanuit het internationaal veld van experts op het gebied van genetische modificatie worden de conclusies van de ISTT 3V-commissie van enige kanttekeningen voorzien. De ontwikkelingen en toepassingen van de gene-editing technologie verloopt exponentieel. Het noemen van een tijdspad is daarom niet realistisch. De in het kader van deze adviesvraag meest relevante kanttekening betreft de impact op de fok van GM-dieren. Laboratoria die de CRIPPR/Cas9 technologie gebruiken, genereren met een enkel gene-editing experiment tientallen potentieel interessante mutante lijnen tegen slechts enkele in het geval van de klassieke transgenese methoden. Nu is de fok van deze lijnen tot stabiele lijnen een dierproef. Indien er na selectie op basis van biologische relevantie uiteindelijk meer voor het onderzoek interessante, stabiele lijnen overblijven kan de fok van die lijnen aanleiding geven tot een toename van het aantal dieren in de categorie “dood of gedood in voorraad”. Echter het is reëel te veronderstellen dat meer wetenschappelijke kennis verkregen zal worden van een enkel dier dan voorheen het geval was.

Geconditioneerde GM-modellen

Volgend op de aanbevelingen van respectievelijk de eerder genoemde in 2013 gehouden internationale workshop en het RODA heeft het overleg met de grootste gebruikers de huidige fokpraktijk besproken en van commentaar voorzien. Daarin is geconstateerd dat de fok van geconditioneerde GM-modellen is toegenomen. In geconditioneerde

GM-lijnen worden gemaakt vanwege een concrete onderzoeksvraag. Het maken van GM-dieren is dus geen doel op zich. Momenteel is in Nederland slechts bij een beperkt aantal academische centra een laboratorium aanwezig dat gespecialiseerd is in het maken van GM-dieren.

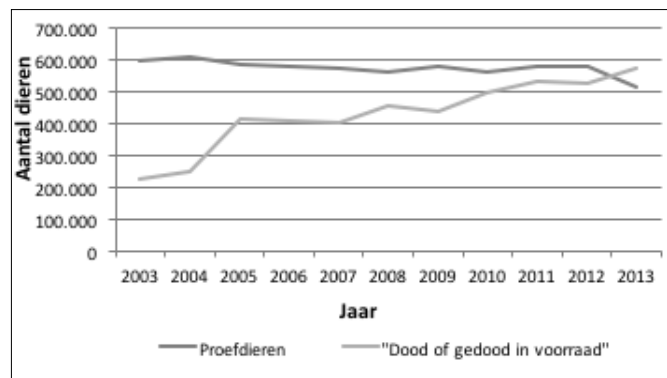
modellen zijn genetische modificaties aangebracht die pas tot uiting komen nadat ze worden aangezet en dan vaak ook nog alleen in het weefsel of orgaan van onderzoek; dit zijn verfijningen van de modellen waarbij de gemodificeerde genen altijd en in het hele organisme aanstonden of uit alle weefsels van het organisme verwijderd waren (de zogenoemde knock-out dieren).

De geconditioneerde modellen zijn biologisch relevanter aangezien de genetische verandering specifiek kan worden aangezet in het weefsel c.q. celtype waar het gen normaliter tot expressie komt en dat op een moment dat het voor het onderzoek van een ziektemodel relevant is. Dat aanzetten of verwijderen kan op verschillende manieren gebeuren, maar de manier waarbij een kruising nodig is met een andere, tweede GM-lijn die de benodigde signalen levert om de genetische modificatie van de kruisingspartner aan te zetten is relevant in de context van het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood. Immers er moeten dan voor één geconditioneerd model meerdere GM-lijnen gefokt worden die alle potentieel bijdragen aan het aantal dieren dat vóór de proef wordt gedood. Het voordeel van deze zogenoemde “geconditioneerde modellen” is, dat zolang de genetische verandering niet is aangezet, de dieren voor wat betreft hun uiterlijke kenmerken geen nadelige gevolgen ervaren van deze verandering en dus het risico van welzijnsaantasting is verminderd. Uiteindelijk is de afweging of de toename van het aantal dieren dat gefokt moet worden voor een model opweegt tegen de toegenomen biologische relevantie van het model en de verminderde welzijnsaantasting.

NVWA - jaarregistratie

Jaarlijks rapporteren de instellingsvergunninghouders volgens de Wod de aantallen dierproeven en proefdieren aan de NVWA (de Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit; <http://www.nvwa.nl>). De NVWA publiceert de registratiegegevens in haar jaarverslag “Zo doende”. De NVWA rapporteert de dieren die worden gefokt maar die niet in experiment worden gebruikt onder de noemer “dood of gedood in voorraad”. Dit is een verzamelbegrip voor dieren die om verschillende redenen niet in een experiment worden genomen.

In 2013 was het aantal in voorraad gedode dieren hoger dan het aantal dieren waarmee daadwerkelijk dierexperimenten waren uitgevoerd



Figuur 1: Totaal aantal dieren “dood of gedood in voorraad” en het aantal proefdieren.
Bron: Zo doende, Jaarverslag van de NVWA, 2003 - 2013

De NVWA heeft naar aanleiding van de gerapporteerde aantallen “dood of gedood in voorraad” in 2011 een enquête gehouden onder instellingen die een vergunning hebben voor de fok van proefdieren. Doel van de enquête was beter inzicht te krijgen in de categorie “dood of gedood in voorraad”. De resultaten van de enquête waren, dat:

1. maximaal 5% is toe te schrijven aan ziekte of andere gezondheidsproblemen;
2. ongeveer 13% ex-fokdieren zijn die niet geschikt zijn voor experimentele doeleinden;
3. ongeveer 22% niet geschikt is vanwege leeftijd;
4. ongeveer 23% het “verkeerde” geslacht heeft; en
5. ongeveer 38% niet geschikt over de juiste genetische samenstelling (“ongeschikt genotype”).

Op Europees niveau heeft een Expert Werkgroep (EWG) Statistische Rapportage van de Europese Commissie in januari 2012 een werkdocument uitgebracht over hoe in het algemeen het maken, fokken en gebruik van genetisch veranderde dieren kan worden toegelaten en vervolgens hoe dat statistisch gerapporteerd moet worden door de lidstaten van de Europese Unie. Dit werkdocument dient als richtsnoer opgevat te worden. De Nederlandse overheid heeft de aanbevelingen en conclusies van deze richtsnoer onderschreven.

Aangezien onder de herziene Wet op de dierproeven dierproeven alleen mogen worden uitgevoerd als de uitvoerder een projectvergunning heeft, is zo'n vergunning vereist voor:

- het genereren van een GM-dier totdat de lijn beschouwd kan worden als “established” oftewel onveranderlijk, dat wil zeggen wanneer de overdracht van de genetische verandering(en) stabiel is voor tenminste twee generaties en een inschatting is gedaan van het verwachte ongerief. In de bijlage van het werkdocument van de EWG zijn de belangrijkste elementen van een welzijnsbeoordelingsschema gespecificeerd.
- Het fokken van GM-dieren met een schadelijk fenotype.
- Het fokken van GM-dieren die de kans lopen een schadelijk fenotype te ontwikkelen, zoals een ziekte of een tumor, maar ook GM-dieren waarvan het immuunsysteem gecompromiteerd is en dus verhoogd risico lopen op een infectie. Dit ongeacht de maatregelen die worden genomen inclusief het doden van het dier voordat het schadelijke fenotype zich heeft gemanifesteerd.

Het kan zijn dat na enige tijd geconstateerd wordt dat een GM-lijn ondanks eerdere evaluaties toch een welzijnsprobleem heeft dat moet worden toegeschreven aan de genetische verandering. Als dat zo is, dan is sprake van een schadelijk fenotype en is voor de fok van de betreffende GM-lijn een projectvergunning nodig. Een projectvergunning is niet vereist voor GM-lijnen die een specifieke doelbewuste handeling moeten ondergaan om de genetische verandering(en) daadwerkelijk biologisch actief te laten zijn, de zogenoemde geïnduceerde GM-lijnen.

De registratie voor de Nederlandse autoriteiten is zodanig aangepast, dat ouderdieren die na gebruik in fok worden gedood of dood worden gevonden en niet in een experiment worden gebruikt als aparte

categorie geregistreerd moeten worden. Dit geldt ook voor de dieren die dood worden gevonden of gedood worden voor gebruik in een experiment of fok bijvoorbeeld wegens ongeschiktheid of overtolligheid. Ook onder de nieuwe registratie systematiek is het zo dat dieren pas meetellen nadat ze zijn gespeend maar ook wanneer ze vóór het spenen in proef zijn genomen; de foetale stadia tijdens het laatste derde deel van de dracht worden niet geregistreerd, tenzij ze in proef zijn genomen en gedurende de proef levend/ levensvatbaar geboren zijn. Bij ratten is dit bijvoorbeeld op dag 20 van de dracht.

Bijlage 2 - Maatschappelijke consultatie

– Uitkomsten

Fok coördinatoren

Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU)

Indien een fok coördinator wordt aangewezen is het van belang de complexiteit van de fok daarbij niet te onderschatten. De invulling dient te passen bij de omvang en complexiteit van de kolonie. De vertegenwoordiger van de NFU licht dat toe.

Een goede informatievoorziening (in een complexe situatie ICT ondersteund) is van groot belang om de relevante gegevens ‘real time’ te kunnen genereren, om de opdrachten te monitoren, om te kijken wat er gebeurt en daar kort cyclisch op te kunnen inspringen.

In advies meegenomen: ja

Three R's Alternatives Initiating Network (TRAIN)

Het is zeer wenselijk om een fokcoördinator aan te stellen mede vanwege de positief opgedane ervaringen daarmee. Deze persoon let dan specifiek op vraag en aanbod van proefdieren binnen de instelling. Een dergelijke rol zou echter ook bij de IvD kunnen worden neergelegd.

Alhoewel vanuit het veld het geluid komt dat al met dergelijke personen wordt gewerkt, wordt daarin wel een waardevolle investering gezien, waarbij een intercollegiale toetsing tot de mogelijkheden behoort.

Het is niet wenselijk om van bovenaf iets op te leggen.

Op grond van ervaringen zou de coördinatie van de fok door een duo kunnen worden uitgevoerd bestaande uit een proefdierdeskundige en een persoon die dicht op de werkvloer staat, aangezien de nodige kennis vaak niet in één persoon te vinden is.

In advies meegenomen: ja

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

Het is nuttig om een fok coördinator in te stellen, welke onder andere voorzien dient te zijn van de juiste tools om fok op een retrospectieve manier te kunnen bijsturen. Deze werkwijze is echter nog niet algemeen geaccepteerd en geïntroduceerd.

In advies meegenomen: ja

Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde (NVP)

In het kader van een goede planning bij fokken mist de vertegenwoordiger van de NVP een partij, namelijk de onderzoeker; Planning is geen corebusiness voor de onderzoeker en sommige

zaken zijn niet in te plannen. Wel dient deze partij betrokken te worden bij plangericht fokken. Wellicht kan een fok coördinator daarin een rol spelen en inzichtelijk maken en analyseren of er afstemming is. Echter de NVP heeft zijn bedenkingen over het instellen van een fok coördinator, omdat er vraagtekens worden gesteld of het mandaat dat deze persoon heeft toereikend is om invloed te kunnen uitoefenen.

In advies meegenomen: Nee, er zal geadviseerd worden een fok coördinator in te stellen. Het NCad ziet geen mandaat- belemmerende factoren.

Visie op aanpassen fokpraktijken/ visie op centralisatie

Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU)

Er is wetenschappelijk weinig draagvlak om fysiek de levende dieren te centraliseren waardoor iedere eindgebruiker deze uit verschillende bronnen gaat betrekken. Bezwaren zijn verschillen in microbiologische kwaliteit en mogelijke stress effecten van het transport. Iedereen kan GGO-lijnen verwerven door het binnenhalen van bestaande lijnen en die onderling kruisen.

Daarentegen zijn er momenteel slechts enkele instituten die ook zelf lijnen generen. Voor het uitvoeren van modificaties in embryo's is een veel beperkter aantal laboratoria routinematig bekwaam. Bij incidentele uitvoering is de efficiëntie inherent geringer (meer dieren nodig). Om de kwaliteit van transgenese te borgen is het wellicht net zoals bij de gezondheidszorg van belang om routine en efficiëntie te evalueren. In advies meegenomen: ja

De vertegenwoordiger van de NFU spreekt geen voorkeur uit of het uitvoeren van dergelijke technieken ingebed dient te worden in wet- en regelgeving of dat prestatie indicatoren (o.a. uitkomsten) voldoende zijn.

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

De zienswijze van de KNAW is om zeer terughoudend te zijn in het beleidsmatig sturen van centralisatie van fok. De ontwikkeling gaat namelijk zo ongelofelijk snel dat wat nu nog alleen door specialisten gedaan kan worden binnen een paar jaar bijna binnen elk instituut kan worden toegepast. Indien fok gecentraliseerd zou worden bij gespecialiseerde instituten blijft de transport en mogelijk import problematiek bestaan alsmede de veel grotere gevolgen (voor de dieren en het onderzoek) van infecties bij een gecentraliseerde fokinstelling. Bovendien is het maar de vraag of hiermee de efficiëntie van de fok (en dus de omvang van de fokoverschotten) zal worden gereduceerd. Het is niet uitgesloten dat deze zelfs zal toenemen. Derhalve acht de vertegenwoordiger van de KNAW een opgelegde centralisatie niet wenselijk.

In advies meegenomen: ja

Beroepsgroep Proefdierdeskundigen

Het hebben van een soort fatsoensnorm op het gebied van fokken is zeer wenselijk. Deze begint nu al tussen bedrijven en hun cliënten te ontstaan waarbij betere afspraken worden gemaakt over het aantal dieren dat gefokt wordt. Het is uiteraard wenselijk dat een dergelijke fatsoensnorm er ook binnen de universitaire instellingen zal komen. Dit zou door de overheid geëntameerd kunnen worden. Het is echter

niet op korte termijn te verwezenlijken omdat het een internationaal netwerk van instellingen en (fok)bedrijven betreft.

In advies meegenomen nee; het betreft een statement

Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde (NVP)

Het is niet wenselijk om Centres of excellence te creëren maar er dienen wel richtlijnen te worden opgesteld waarin wordt aangegeven hoe foklijnen worden gegenereerd en beheerd. Net zoals in de gezondheidszorg dient de kwaliteit bewaakt worden door onder andere een minimum aantal te benoemen dat een bepaalde techniek wordt uitgevoerd.

Er wordt geen uitspraak gedaan of dergelijke richtlijnen van bovenaf dienen te worden opgelegd. Wel is het van belang dat de NVWA uiteindelijk op basis van deze richtlijnen kan handhaven. Het NCad zou een richtlijn moeten opstellen waarin onder andere het beheer van de fokkolonies en een rol voor de fok coördinator kan worden meegenomen. Daarbij wordt ook een rol gezien voor de IvD om de efficiëntie binnen een instelling te bewaken.

Nederland is nog te gefragmenteerd waar uiteraard praktische redenen waaronder de infrastructuur, voor bestaan. Echter planningen zijn daardoor tussen instellingen niet optimaal op elkaar afgestemd en uitwisselingen van dieren is daardoor niet goed mogelijk. Dit heeft als consequentie dat op lokaal niveau meer overschot is. Derhalve pleit de NVP voor een betere afstemming tussen instellingen te bewerkstelligen.

In advies meegenomen: ja, ten dele. Om door het veld gedragen richtlijnen te genereren is het advies de onderzoeksgroepen die een pioniersrol vervullen bij de ontwikkeling en/of implementatie van nieuwe technologieën van genetische modificatie, nauw te betrekken bij de opstelling. Deze groepen kunnen dan een rol vervullen als kwaliteitsambassadeurs die andere trainen en stimuleren tot uit-fasering van verouderde technologieën.

Wil research, namens de industrie

Bij het toepassen binnen instellingen van de juiste fokpraktijken kan de IvD een centrale rol spelen: zij heeft namelijk het mandaat om te kijken of een instelling state of the art werkt en of de juiste kennis en ervaring aanwezig is. Indien dat gekoppeld wordt met codes of best practice en een duidelijke coördinatie kan heel veel worden bereikt met betrekking tot het efficiënt fokken van transgene lijnen. Een dergelijke aanpak is in elke structuur in te passen en centralisatie wordt op deze wijze van onderaf gerealiseerd. Indien dit gereguleerd zou worden zullen de kosten stijgen en de flexibiliteit neemt af. Dat zou een onwenselijke ontwikkeling zijn.

In advies meegenomen: ja, ten dele

HollandBio

Er is een rol weggelegd voor de IvD om de technologische ontwikkelingen binnen een instelling inzichtelijk te maken. Het is wenselijker om aan te geven hoe de aantallen dierproeven tot stand zijn gekomen dan te focussen op aantallen dierproeven. Alhoewel deze aantallen maatschappelijk gezien relevant zijn, is het van belang duidelijk de hoeveelheid kennis die daarmee gegenereerd wordt aan

te geven. Nederland heeft qua kennis genereren een vooraanstaande positie die behouden moet blijven.

In advies meegenomen: nee, aangezien dit punt in het advies: "INDICATOREN, BEHEER EN BENUTTING VAN GEGEVENS VOOR MONITOREN VAN PROEFDIERGEBRUIK EN 3V-ALTERNATIEVEN" geadresseerd wordt.

Impact wet en regelgeving/registratie

Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU)

De vertegenwoordiger van de NFU wijst op de wijziging van de registratie-systematiek en legt dat uit. De registratie-systematiek is in Nederland reeds dusdanig aangepast dat een onderscheid gemaakt wordt in dieren gedood na fok versus dieren gedood voorafgaand aan enig gebruik. Dit kan verhelderend werken.

Verder valt een toename van dierproeven te verwachten, bij gelijkblijvend werkprogramma. Dat komt o.a. omdat de Europese regelgeving verlangt dat voor alle nieuwe (combinatie van) modificaties een minimum aantal nakomelingen op de voet wordt gevolgd en geregistreerd als dierproef, die eis geldt ongeacht de kans op extra ongerief. Het effect in de wijziging van de registratiesystematiek door de wijzigingen in wet en regelgeving zijn pas in 2017 geheel zichtbaar (enkele effecten zullen zich geleidelijk manifesteren en pas in 2017 wordt de gehele Europese statistiek gepubliceerd).

In advies meegenomen: ja

Three R's Alternatives Initiating Network (TRAIN)

De vertegenwoordiger van TRAIN attendeert op de rubriek dieren die niet onder de transgenen vallen en wel worden gedood. Voor de begripsvorming is het van belang dat in het advies uit te splitsen en inzichtelijk te maken.

In advies meegenomen: nee, zoals gevraagd door de Staatssecretaris is het advies beperkt tot transgene dieren en dan met name muizen en vissen.

Beroepsgroep Proefdierdeskundigen

Het is begrijpelijk dat in het advies de nadruk ligt om genetisch gemodificeerde dieren, maar zicht op de niet-genetisch gemodificeerde dieren ontbreekt. De maatschappij maakt hierin geen onderscheid en ook in de groep van de niet-genetisch gemodificeerde fok zijn er overtollige dieren. Het wordt om die reden wenselijk geacht dat ook de niet-genetisch gemodificeerde dieren in het advies worden opgenomen. Er bestaat geen directe zorg over het beleid rondom de fok van niet genetisch gemodificeerde dieren, maar het is gewoon niet transparant en dat is niet nodig en op termijn ook niet verstandig.

In advies meegenomen: nee, het advies betreft een gevraagd advies waarin de Staatssecretaris van Economische Zaken om advies vraagt omtrent transgene dieren en dan met name muizen en vissen.

Impact technologische ontwikkelingen.

Vissen/ muizen

Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU)

Het is niet bezwaarlijk om de problematiek omtrent het doden van dieren voor vissen separaat te bekijken door in eerste instantie laboratoria met elkaar in contact te brengen en hen een aantal inventarisvragen voor te leggen. Indien daarna blijkt dat nog vragen resteren kan dat verder worden onderzocht. Aangezien vaak alleen de embryo's voor onderzoek gebruikt worden vallen de benodigde volwassen dieren meestal buiten de definitie van een dierproef. In advies meegenomen: nee, het betreft een statement

CRIPR/Cas9 is een veel belovende technologie die niet stopt bij de diersoort muis en meer algemener inzetbaar is, ook voor andere diersoorten. De techniek is efficiënter dan de klassieke technieken. Welke vlucht de toepassing bij andere diersoorten zal nemen is niet goed voorspelbaar.

Voor de uitvoering dient een goede infrastructuur aanwezig te zijn (zoals de technologie rond embryo's) en de nodige laboratoriumvoorzieningen om deze technologie goed te kunnen toepassen (o.a. verificatie van de wijziging van het genoom). In advies meegenomen: ja

Three R's Alternatives Initiating Network (TRAIN)

De verwachting is dat de nieuwe technologie CRISPR/Cas9 over de instituten uitgerold gaat worden omdat de klassieke wijze om transgenen te produceren veel duurder is. Dit kan gefaciliteerd

worden door de kennis en expertise daarin beschikbaar te maken en trainingen te geven. Hierdoor kan een snellere implementatie over de verschillende instituten worden bewerkstelligd.

Het veld dat onderzoek doet met vissen is een zeer open community. Deze openheid bestaat nog niet bij de veld dat onderzoek doet met muizen. Echter indien de technologische ontwikkelingen zo snel gaan wordt verwacht dat er wellicht een zelfde openheid gecreëerd zal worden bij het veld dat met muizen werkt. In advies meegenomen: ja

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

Het is niet wenselijk om de nieuwe technologische ontwikkelingen dwingend te reguleren, wel dient er een vinger aan de pols te worden gehouden. Bij vissen is het al eenvoudig om transgenen te produceren; de ontwikkeling daarvan is zeer snel gegaan. Ook bij de fok van transgene muizen gaat de technologische ontwikkeling enorm snel. In advies meegenomen: ja

Cryopreservatie

Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra (NFU)

Cryopreservatie begint steeds toegankelijker te worden. Indien de koloniebeheer goed is ingeregeld kan met een dergelijke nieuwe technologie winst geboekt worden in het kader van vermindering van het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood. Indien men embryo's en sperma gaat importeren dienen

gekwalficeerde centra bereid te zijn hun kennis kunde en routine in te zetten om lijnen ook voor derden te revitaliseren.

De vertegenwoordiger van de NFU wijst erop dat men niet geheel kan overgaan naar cryopreservatie zoals dat bij het Max Planck instituut (gegeven voorbeeld) het geval is en licht dat toe (de potentiële toename van het aantal dieren benodigd voor het revitaliseren).

In advies meegenomen: ja

Three R's Alternatives Initiating Network (TRAIN)

In het kader van de discussie omtrent cryopreservatie wordt het Max Planck Instituut genoemd waar zich een groot aantal diepvriezen bevinden. Indien dit instituut geconsulteerd wordt om een beeld te krijgen wat deze ontwikkeling ook voor eventuele toekomstige investeringen in Nederland kan betekenen m.b.t diepvriezen versus levend materiaal is het raadzaam om in dat kader ook een economische analyse mee te nemen.

In advies meegenomen: ja

Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde (NVP)

Vanuit financieel oogpunt voor een onderzoeker is het vaak aantrekkelijker om een paar jaar met een paar fokpaartjes door te gaan in plaats van cryopreservatie. Cryopreservatie kan echter uiteindelijk een vermindering van het aantal dieren in voorraad gedood teweeg brengen. Derhalve zou deze methode in het advies moeten worden opgenomen.

In advies meegenomen: ja

Overige onderwerpen

Uitwisseling van lijnen

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

Het gegeven dat instituten een eigen spf status willen/moeten handhaven (reproduceerbaarheid van resultaten), vormt een enorme barrière voor het vrije transport van transgene muizen tussen verschillende onderzoeksinstellingen (nationaal en internationaal) en resulteert door opschoonprocedures in extra dierproeven (en enorm tijdverlies voor het onderzoek).

Betreft een statement

Genereren van nieuwe lijnen

Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW)

Het is raadzaam om een aantal gespecialiseerde instituten die bij de ontwikkeling van de nieuwe technologie voor het creëren van nieuwe genotypen in het front meelopen een soort kwaliteitsnorm te laten opzetten waar ook andere (kleinere) instituten zich aan conformeren. Zo kan op kwaliteit worden gestuurd waarbij retrospectief kan worden gekeken of instituten zich aan een dergelijke norm houdt.

Een van deze kwaliteitsnormen is bijvoorbeeld het maximaal aantal te gebruiken dieren om een nieuwe lijn te creëren. Voor de moderne technologie zijn dergelijke criteria er namelijk nog niet.

Volgens het voormalige besluit biotechnologie zijn er maximaal 150 dieren noodzakelijk om een transgene lijn te produceren. Echter met de nieuwe technologieën kunnen dergelijk getallen wellicht omlaag. Het verdient daarom aanbeveling nader te onderzoeken welke hoeveelheid dieren met de nieuwe technologieën daadwerkelijk noodzakelijk zijn voor het creëren van nieuw genotype. Het van bovenaf opleggen van strikte normen en criteria is niet wenselijk.

Mede door de snelle ontwikkeling van de technologie dreigt het spanningsveld te worden vergroot tussen enerzijds het niet mogen creëren van een nieuwe lijn als die reeds bestaat en anderzijds het zelf importeren (en in de meeste gevallen opschonen of uitvoeren van embryotransfer) van deze lijn. Deze beide acties gaan ook gepaard met het gebruik van dieren en soms aanzienlijke kosten (opschonen van een lijn kan oplopen tot €4000,-)
In advies meegenomen: ja

Voetnoten

- 1 Internationale workshop “Gefokt maar niet gebruikt” (“Bred but not used”); Bijlage 3 bij brief van de staatssecretaris van het ministerie van Economische Zaken aan de Voorzitter van de Tweede Kamer der Staten-Generaal d.d. 28 februari 2014, kenmerk DGA-DAD / 13205800, betreffende: Plan van aanpak dierproeven en alternatieven.
- 2 Adviesbrief van het RODA aan de staatssecretaris van het ministerie van Economische Zaken, “dieren in voorraad gedood”, d.d. 25 september 2014.
- 3 Tot en met het registratiejaar 2013 werden deze dieren door de instellingsvergunninghouders volgens de Wet op de dierproeven (Wod) geregistreerd in de categorie “gedood of doodgegaan vóór de proef”. In hun jaaroverzicht over dierproeven en proefdieren, Zo doende, rapporteerde de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA) deze dieren onder de noemer “dood of gedood in voorraad”. In de toelichting bij de registratie proefdieren en dierproeven 2014 zijn de categorieën “dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef” en “dood of gedood na gebruik in fok” opgenomen.
- 4 Moraal – het samenhangend geheel van opvattingen dat een persoon of groep personen als leidraad hanteert om als mens goed (samen) te leven of juist te handelen. Ethiek bestudeert en bevraagt kritisch en systematisch de moraal.
- 5 In het registratiejaar 2013 rapporteerde de NVWA in haar jaarverslag Zo doende: 574.511 dieren “dood of gedood in voorraad”, waarvan 446.026 GM-dieren (78%).
- 6 Brief van de Staatssecretaris van Economische Zaken aan de voorzitter van het Nationaal Comité advies dierproevenbeleid d.d. 31 maart 2015, kenmerk DGAN-DAD/15040736, betreffende: Adviesvraag aangaande beheer en benutting gegevens dierproeven en alternatieven, dieren in voorraad gedood, adoptieregeling voormalige proefdieren, pijnbestrijding en proeven met honden en katten.
- 7 Brief van de voorzitter van het Regulier Overleg Dierproeven en Alternatieven (RODA) aan de Staatssecretaris van Economische Zaken d.d. 25 september 2014.
- 8 Internationale workshop “Gefokt maar niet gebruikt” (“Bred but not used”); Bijlage 3 bij brief van de staatssecretaris van het ministerie van Economische Zaken aan de Voorzitter van de Tweede Kamer der Staten-Generaal d.d. 28 februari 2014, kenmerk DGA-DAD / 13205800, betreffende: Plan van aanpak dierproeven en alternatieven.
- 9 Brief van de Centrale Commissie Dierproeven aan de minister van VWS, “Verzoek advies in zake centralisatie fok transgene dieren”, d.d. 29 april 2011.
- 10 Het platform “overleg fok coördinatoren” is in oprichting onder de vlag van de Biotechnische Vereniging. Een eerste bijeenkomst heeft plaatsgevonden op 22 juni 2015.
- 11 Brief van de Centrale Commissie Dierproeven aan de minister van VWS, “Verzoek advies in zake centralisatie fok transgene dieren”, d.d. 29 april 2011.
- 12 Het platform “overleg fok coördinatoren” is in oprichting en opereert onder de vlag van de Biotechnische Vereniging. Een eerste bijeenkomst heeft plaatsgevonden op 22 juni 2015.
- 13 Forward genetics – is de toepassing waarbij de genetische basis van een (afwijkend) fenotype wordt bepaald. Bij deze benadering worden mannelijke dieren behandeld met chemicaliën of straling om zo random mutaties in spermacellen aan te brengen. Mutatie dragende nakomelingen van deze mannen worden onderzocht op de aanwezigheid van een afwijkend fenotype waarna het (de) verantwoordelijke gen(en) in kaart wordt (worden) gebracht.
- 14 Reverse genetics – is de benadering waarbij de functie van een gen wordt onderzocht aan de hand van de analyse van de fenotypische effecten van specifiek veranderde genen.
- 15 <http://www.infrafrontier.eu>
- 16 Europese Richtlijn 2010/63/EU artikel 27 lid 1
- 17 NVWA registratie proefdieren en dierproeven – tot en met registratiejaar 2013 bestonden de volgende categorieën waaronder dode of gedode dieren werden geregistreerd: dood of gedood in voorraad voor het begin van de proef, dood of gedood tijdens of in het kader van de proef, dood of gedood na afloop van de proef; vanaf het registratiejaar 2014 zijn dat de categorieën: dood of gedood vóór gebruik in fok of dierproef, na gebruik in fok, tijdens of in het kader van de proef, na gebruik van de proef. Bronnen: Toelichting bij de registratie proefdieren en dierproeven 2013 en 2014 van de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA).
- 18 Brief van de Centrale Commissie Dierproeven aan de minister van VWS, “Verzoek advies in zake centralisatie fok transgene dieren”, d.d. 29 april 2011.
- 19 Brief van de Commissie Biotechnologie bij Dieren aan de Directeur VVM van het ministerie van Landbouw, Natuur en Visserij, kenmerk CBD/01_54/RT, 8 maart 2001.

- 20 <https://www.infracfrontier.eu/knowledgebase/protocols/cryopreservation-protocols>
- 21 IMSR – International Mouse Strain Resource (<http://www.findmice.org>); MGI - Mouse Genome Informatics (<http://www.informatics.jax.org>); RGD – Rat Genome Database (<http://rgd.mcw.edu>); RRRC - Rat Resource & Research Center (<http://www.rrrc.us>); ZFIN – The Zebrafish Model Organism Database (<http://www.zfin.org>).
- 22 Gezondheids- en welzijnswet voor dieren (GWWD), artikel 66, lid 1
- 23 Brief van de Commissie Biotechnologie bij Dieren aan de Directeur VVM van het ministerie van Landbouw, Natuur en Visserij, kenmerk CBD/01.54/RT, 8 maart 2001.
- 24 Ongerief: het berokkenen van pijn, lijden, ongemak of blijvend letsel.
- 25 <http://www.rijksoverheid.nl/documenten-en-publicaties/rapporten/2007/10/26/besluit-biotechnologie-bij-dieren-advies-cbd-over-rbdo203-l05.html>
- 26 International Society for Transgenic Technologies; <http://www.transtechsociety.org>
- 27 Naar de 3Vs van de proefdierkunde: vervanging, vermindering, verfijning (Russell WMS, Burch RL (1959) The principles of humane experimental techniques. Methuen and Company, London) Naar de 3Vs van de proefdierkunde: vervanging, vermindering, verfijning (ibid.)
- 28 Jerchow, B. 2014. Statement of the ISTT's 3Rs Committee
- 29 NVWA rapport "Dood in voorraad", 17 december 2013; Bijlage 1 bij brief van de staatssecretaris van het ministerie van Economische Zaken aan de Voorzitter van de Tweede Kamer der Staten-Generaal d.d. 28 februari 2014, kenmerk DGA-DAD / 13205800, betreffende: Plan van aanpak dierproeven en alternatieven.
- 30 National competent authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes – Corrigendum of 24 January 2013 – Working document on genetically altered animals. Brussels, 23-24 January 2013. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/corrigendum.pdf
- 31 Toelichting bij de Registratie Proefdieren en Dierproeven 2014, Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit, december 2014

Met dank aan de volgende experts

Voor de onderbouwing van dit advies is gebruik gemaakt van aanbevelingen uit overleggen, die onder andere geïnitieerd zijn door de Staatssecretaris van het ministerie van Economische Zaken.

Eén van de overleggen is de in 2013 gehouden internationale expert workshop “Bred but not used”.¹ De aanbevelingen van deze workshop zijn aan het voormalige Regulier Overleg Dierproeven en Alternatieven (RODA) aangeboden met het verzoek om deze nader uit te werken.² De aanbevelingen van het voormalige RODA zijn opgenomen in de voortgangsrapportage van het “Plan van aanpak dierproeven en alternatieven” die in november 2014 aan de Tweede Kamer is aangeboden. Het daarin aangekondigde overleg met de grootste gebruikers heeft in november 2014 plaatsgevonden. Aanbevelingen uit dit en volgend overleg met de grootste gebruikers, de NVWA en consultaties met internationale experts zijn verwerkt in dit advies evenals de inbreng van de maatschappelijke consultatie gehouden op 5 juni 2015. Een van de leden van het NCad is door persoonlijke omstandigheden niet in staat geweest om deel te nemen aan de laatste discussies en afronding van het advies. Over het advies bestaat consensus bij de overige leden.





Dit is een publicatie van het Nationaal Comité advies
dierproevenbeleid

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

0900 2800028

Ncad@minez.nl

www.NCAdierproevenbeleid.nl

Publicatiedatum: oktober 2015

Publicatienummer: 201502

Foto's zijn tot stand gekomen in samenwerking met het RIVM

Het NCad is ingesteld voor de bescherming van dieren die worden gebruikt voor wetenschappelijke doeleinden en voor onderwijs. Het NCad brengt zichtbare verbeteringen tot stand gericht op het vervangen, verminderen en verfijnen (3V's) van dierproeven en de ethische toetsing daarvan om daarmee het proefdiergebruik te minimaliseren, zowel nationaal als internationaal.