

## EZ workshop “Gefokt maar niet gebruikt” (‘Bred but not used’)

J.-B. Prins<sup>1</sup>, C. Hendriksen<sup>2</sup>, F. van den Broek, J. van Es, M. Fentener van Vlissingen, P. Krimpenfort, F. Ohl, C. Pool, R. Tramper, J. van der Valk.

### Inleiding

Op initiatief van het ministerie van Economische Zaken is van 18-20 oktober jl. in Hotel Duin & Kruitberg in Santpoort de internationale workshop ‘Bred but not used’ gehouden. Aan de workshop werd deelgenomen door 22 deskundigen op het gebied van 3V-alternatieven, dierenwelzijn, ethiek, koloniemanagement, moleculaire biologie en proefdierkunde. De deelnemers waren op persoonlijke titel uitgenodigd (bijlage 1).

Achtergrond van de workshop was het sinds enige jaren toenemende aantal dieren dat wordt gefokt, maar vervolgens, zonder voor een experiment te zijn gebruikt, wordt gedood. Volgens de gegevens van de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA), zoals gepubliceerd in hun jaarverslag “Zo doende” ging het in 2011 om circa 530.000 dieren, voornamelijk muizen en vissen. Deze dieren worden gerapporteerd onder de noemer “dood of gedood in voorraad”. Dit is een verzamelbegrip voor dieren die om verschillende redenen niet in experiment worden genomen, onder meer omdat ze een niet geschikte genetische achtergrond, leeftijd en/of sekse hebben of doordat dieren niet meer gebruikt kunnen worden voor de fok.

Doel van de workshop was:

- 1) inzicht te verkrijgen in de redenen die ten grondslag liggen aan het doden van dieren in voorraad;
- 2) na te gaan welke maatregelen genomen kunnen worden in het fokmanagement om het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood te verminderen;
- 3) na te gaan welke ontwikkelingen in de biotechnologie kunnen bijdragen aan verfijning van het maken en fokken van genetisch gemodificeerde (GM-) dieren en inzicht te krijgen in nieuwe wetenschappelijke ontwikkelingen die van invloed kunnen zijn op het aantal dieren in voorraad gedood;
- 4) het onderwerp “dieren in voorraad gedood” te plaatsen in een maatschappelijke en morele context alsmede in relatie tot dierenwelzijnsvraagstukken; en
- 5) het geven van concrete adviezen met betrekking tot het reduceren van het aantal in voorraad gedode dieren.

De agenda van de workshop is als bijlage bijgevoegd (bijlage 2).

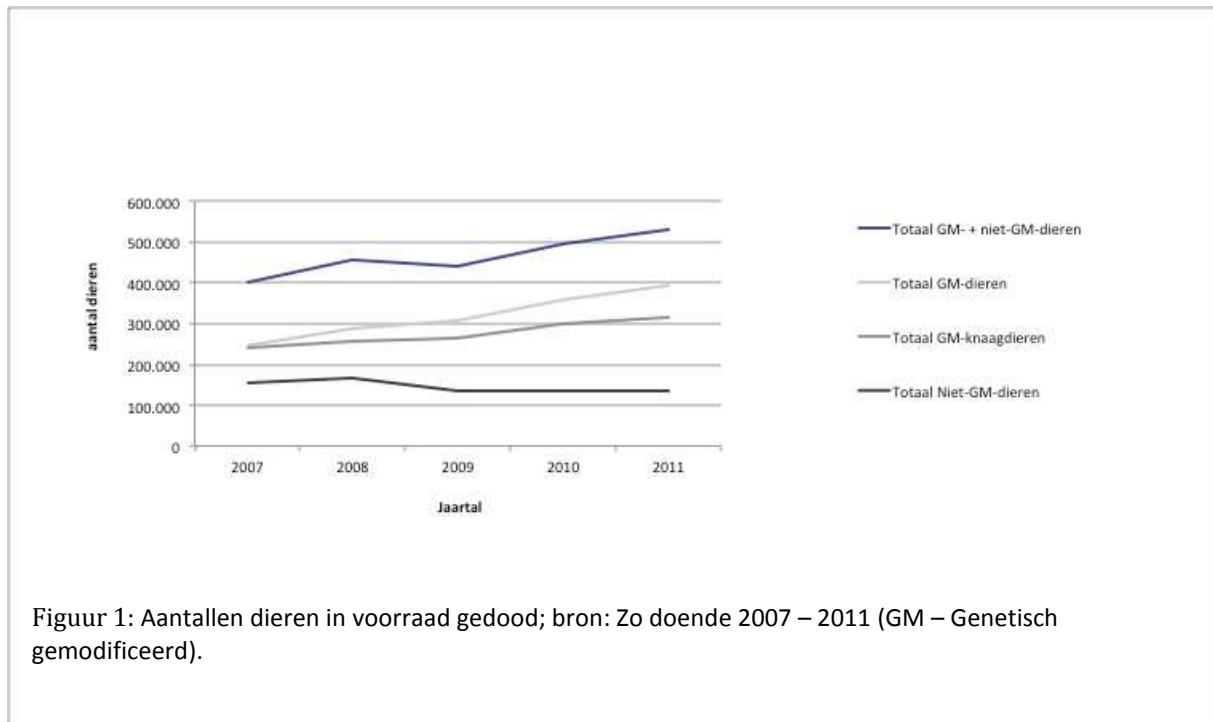
### Achtergrond

Hoewel in het biomedisch onderzoek in toenemende mate gebruik wordt gemaakt van proefdiervrije onderzoeksmethoden is dit nog lang niet in alle gevallen mogelijk. Vooral wanneer het gaat om processen die te maken hebben met interacties tussen orgaansystemen blijven dierproeven voor het onderzoek noodzakelijk. In 2011 ging het in Nederland om 589.853 dierproeven, overwegend met knaagdieren. Onmiskenbaar heeft dierexperimenteel onderzoek bijgedragen aan een beter inzicht in complexe ziekteprocessen als kanker en aan de ontwikkeling en beoordeling van geneesmiddelen. Dat laat onverlet dat aan het gebruik van dieren ethische en praktische bezwaren kleven. Een van deze bezwaren is dat het gebruik van proefdieren vereist dat er dieren speciaal voor het onderzoek worden gefokt en meer dieren worden gefokt dan feitelijk worden gebruikt in het onderzoek. In de volgende paragraaf worden redenen genoemd en toegelicht.

---

<sup>1</sup> Correspondentie adres: LUMC, Postbus 9600, 2300 RC Leiden, j.b.prins@lumc.nl

<sup>2</sup> Intravacc, Antonie van Leeuwenhoeklaan 9, 3721 AL Bilthoven, Coenraad.Hendriksen@intravacc.nl



In haar jaarverslag “Zo doende” rapporteert de NVWA 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 experiment worden genomen. De NVWA heeft naar aanleiding van de gerapporteerde aantallen 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”<sup>3</sup>. De resultaten van de enquête zijn 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 achtergrond (“ongeschikt genotype”).

De omvang van de categorie “dood of gedood in voorraad” is in de loop van het afgelopen decennium sterk toegenomen. Dit is volledig toe te schrijven aan de stijging van gefokte GM-dieren bij gelijkblijvend gebruik van GM-muizen in het experimenteel onderzoek. De stijging in de periode 2010 – 2011 komt vrijwel geheel voor rekening van GM-zebravissen. Het gebruik van deze diersoort voor de bestudering van het zich ontwikkelende embryo is de afgelopen jaren sterk toegenomen. Redenen hiervoor zijn onder andere, dat de ontwikkeling van het zebravis-embryo buiten het lichaam plaatsvindt en daardoor makkelijk te volgen is, waarbij de ontwikkeling veel sneller verloopt dan die van het muizenembryo. De ouderdieren worden niet in dierproeven gebruikt en komen daarmee terecht in de categorie “dood of gedood in voorraad”.

De omvang van het aandeel niet-GM-dieren in de categorie “dood of gedood in voorraad” is in de loop der jaren licht afgenomen en bedraagt thans ongeveer 30% van het totaal.

De categorie “dood of gedood in voorraad” wordt voornamelijk gevormd door dieren die ongeschikt zijn voor het geplande onderzoek vanwege hun genetische achtergrond of

<sup>3</sup> NVWA rapport “Dood in voorraad”, 17 december 2013.

geslacht, door dieren die vanwege hun leeftijd niet meer voor de fok kunnen worden gebruikt en ex-fokdieren die niet geschikt zijn voor experimentele doeleinden. Deze laatste groep verschilt van de andere genoemde groepen in de zin dat ze wel voor een bepaald doel gebruikt zijn, namelijk voor de fok. Daarom kan overwogen worden om groep 2 niet langer te rapporteren als "dood of gedood in voorraad".

Conform de huidige afspraken worden dieren die vóór het spenen gedood worden niet geregistreerd. Het percentage dieren dat gedood wordt vóór gebruik in dierproeven of fok is dus hoger dan hier aangegeven. Omdat het geslacht al vroeg herkenbaar is, zullen dieren van het ongebruikte geslacht waarschijnlijk vaker gedood worden vóór het spenen en zal deze categorie relatief groter zijn. Of dieren van het ongeschikte genotype vóór het spenen worden gedood, hangt af van de snelheid waarmee gekarakteriseerd kan worden, maar ook deze dieren worden deels vóór het spenen gedood en derhalve niet meegeteld in het hierboven beschreven overcompleet. Hoewel ze niet worden onderworpen aan de stress die de aanpassing naar het zelfstandig leven (weg bij de moeder) met zich meebrengt blijft het doden van deze dieren moreel relevant.

*Aanbeveling-1: Voer een gedegen studie uit naar de redenen voor "dood of gedood in voorraad".*

*Aanbeveling-2: Formuleer eenduidige definities van de categorieën van dieren die in voorraad worden gedood, dit ter bevordering van een uniforme registratie aangevuld met voorbeelden resulterend in een realistisch betrouwbaar beeld van het aantal dieren "dood of gedood in voorraad".*

*Aanbeveling-3: Voorzie de rapportage van de getallen "dood of gedood in voorraad" door de NVWA van een uitgebreide toelichting c.q. verklaring.*

*Aanbeveling-4: Neem de ex-fokdieren niet meer op in de registratie als "dood of gedood in voorraad".*

### **Morele en ethische aspecten**

Bij dieren die in voorraad worden gedood, blijft het ongerief beperkt tot de huisvesting en het gedood worden en is het beperkt in tijd. Het ongerief wordt volgens de gangbare indelingen ingeschaald als "gering", de laagste categorie. In de workshop is de vraag aan de orde gesteld in hoeverre het doden van dieren in voorraad een moreel probleem is. De workshop erkent en onderschrijft de intrinsieke waarde die dieren bezitten en die wettelijk is vastgelegd. Deze waarde overstijgt de instrumentele waarde. De workshop heeft daarom geconcludeerd dat het doden van dieren in voorraad een moreel relevant onderwerp is. Dat neemt niet weg dat, hoewel moreel problematisch, er redenen kunnen zijn die dit doden rechtvaardigen. Deze rechtvaardiging dient gebaseerd te zijn op een expliciete ethische evaluatie van de projectaanvraag door de Centrale Commissie Dierproeven (CCD) waarbij ook alle aspecten die tot een vermindering en/of verfijning van het diergebruik kunnen leiden aan de orde komen. Daarbij dient de aanwezigheid van een "culture of care", de zogenoemde zorgcultuur, binnen de instelling bij de evaluatie te worden betrokken. Een zorgcultuur is die cultuur binnen een instelling waarbij alle bij dierproeven betrokkenen zich bewust zijn van de consequenties van hun handelen voor het dierenwelzijn en overeenkomstig maatregelen nemen om: 1) mogelijk ongerief te voorkomen of te verminderen; 2) het aantal dierproeven zo laag mogelijk te houden en 3) zoveel mogelijk "dood of gedood in voorraad" te voorkomen. Voorwaarden voor de borging van een zorgcultuur zijn commitment van het management van de instelling, bewaking door de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) en verankering in opleiding en training.

**Aanbeveling-5: De CCD dient bij de ethische toets van projecten de fok van dieren te betrekken inclusief de strategie om het aantal dieren “dood of gedood in voorraad” zoveel mogelijk te beperken.**

**Aanbeveling-6: De vergunninghouder schept de voorwaarden en stimuleert actief een zorgcultuur (“culture of care”) binnen alle bij dierproeven en fok van dieren betrokken geledingen binnen de instelling.**

## Praktische aspecten: management en technologie

### Algemeen

Verwezenlijking van de ambitie om het aantal dieren “dood of in voorraad gedood” te beperken staat of valt met een goede fokstrategie en adequaat fokmanagement. Adequaat fokmanagement bestaat uit een aantal componenten zoals: het definiëren, registreren en analyseren van parameters die inzicht geven in het verloop van de fok (bij voorkeur door middel van een daartoe ingericht dierregistratiesysteem), een optimale communicatie met de onderzoekers en voldoende kennis en kunde van de beheerders van de fokkolonie. Deze taken kunnen worden belegd bij een fokcoördinator. Daarnaast dient de onderzoeker over voldoende kennis en kunde te beschikken op het gebied van de fok van dieren voor zijn of haar onderzoek. Bij de meeste instellingen die GM-dieren fokken, is reeds sprake van adequaat fokmanagement. De verwachting is dan ook dat extra aandacht hiervoor niet zal leiden tot substantiële besparingen. Een goede fokstrategie combineert het maken van een GM-lijn met het opslaan van embryo's en/of sperma in een cryo-bank, lokaal en/of binnen een consortium, zodat de fok van de lijn gestopt kan worden zodra er (tijdelijk) geen dieren nodig zijn voor kruisingen of experimenten.

Voor de dataverzameling in het kader van fokmonitoring zijn reeds verschillende softwarepakketten in gebruik en verkrijgbaar. Het Wellcome Trust Sanger Centrum (Cambridge, Engeland) zal het daar ontwikkelde diermanagement softwarepakket gratis ter beschikking stellen (prognose uiterlijk in de loop van 2015). Deze software is speciaal ontwikkeld voor het beheer en monitoring van fokkolonies van transgene muizen.

Zoals hiervoor aangegeven zijn verschillende redenen aan te voeren voor het fenomeen “dood of gedood in voorraad” waaronder: de keuze voor één geslacht in het onderzoek; (te) nauwe marges die gesteld worden aan dierspecificaties (leeftijd, gewicht), het uiteindelijk niet doorgaan van experimenten (bijvoorbeeld omdat het te testen product nog niet beschikbaar is), of de variatie in het aantal nakomelingen per nest, kunnen in de context van het experiment terecht zijn. Echter, zij dienen te worden meegewogen bij de toetsing van aanvragen voor projectvergunningen en te worden gemonitord tijdens de uitvoering van het project door de instantie voor Dierenwelzijn (IvD).

In Nederland is de fok van niet-GM dieren veelal gecentraliseerd binnen een instelling of uitbesteed aan een commercieel fokbedrijf. De vraag naar niet-GM dieren betreft over het algemeen een beperkt aantal stammen en die door vrijwel alle onderzoek disciplines in meer of mindere mate worden gebruikt. Concentratie maakt het mogelijk vraag en aanbod beter op elkaar af te stemmen. Besparingen kunnen nog gehaald worden door de eisen die aan het gewicht en de sekse van dieren gesteld worden in het kader van het experiment niet onnodig strikt te maken en door tijdige planning van experimenten en communicatie met de fokafdeling of het fokbedrijf, zodat deze zijn fok kan afstemmen op de aangekondigde vraag. In voorkomende gevallen is het mogelijk om de vraag af te stemmen op het aanbod bijvoorbeeld door een andere keuze van de proefopzet.

### Genetisch gemodificeerde dieren

Ontwikkelingen in de moleculaire biologie hebben het mogelijk gemaakt om op een veel efficiëntere en meer specifieke wijze dan voorheen GM-dierlijnen met één of meerdere genetische modificaties per lijn te maken voor de bestudering van ziekteprocessen bij de

mens. In die zin kan gesteld worden dat de introductie van genetische modificatie een verfijning betekende van de tot dan toe klassieke wijze waarop gepoogd werd diermodellen voor ziekteprocessen te realiseren.

De fok van GM-dieren is meer divers en moeilijker dan de fok van niet-GM-dieren en vereist specifieke kennis en kunde. Redenen hiervoor zijn: 1) de aanwezigheid van grote aantallen verschillende GM-lijnen ieder met specifieke eigenschappen; 2) het onderling kruisen van de verschillende GM-lijnen om meerdere genetische modificaties te combineren in één dier; 3) het uitvoeren van kruisingsprogramma's gericht op het inkruisen van één of meerdere genetische modificaties in een nieuwe c.q. andere genetische achtergrond om bijvoorbeeld het effect van die andere achtergrond op de functie van die modificatie(s) te bestuderen; en 4) het maken van nieuwe GM-lijnen en het karakteriseren en behouden van lijnen.

De specifieke kennis en kunde die nodig zijn om al deze processen adequaat te kunnen beheersen, dienen aanwezig te zijn, op peil te worden gehouden en mee te gaan met de ontwikkelingen. De aanbeveling wordt gedaan om ingewikkelde procedures, zoals: het maken van GM-lijnen met behulp van complexe moleculair biologische technieken, te laten uitvoeren door instellingen die kennis en kunde op dit gebied bezitten, beschikken over de juiste infrastructuur en efficiënt kunnen werken omdat sprake is van doorlopende processen. In analogie aan de ziekenhuiswereld is het voorstel om specialistische handelingen te laten uitvoeren in een beperkt aantal daarvoor bevoegde en competente instellingen en die een rol te geven bij het optimaliseren van bestaande en het ontwikkelen van nieuwe en efficiëntere technieken. Tenminste een aantal van deze instellingen zal moeten zorgen voor verspreiding van kennis en kunde middels educatie en training om aan andere centra de mogelijkheid te bieden zich te kwalificeren.

Het verdient aanbeveling om in de aanvraag voor het maken van een nieuwe GM-lijn een evaluatie op te nemen over de aantasting van zowel de integriteit van het dier als zijn welzijn, dit vergelijkbaar met het toetsingskader dat door de Commissie Biotechnologie bij Dieren (CBD) is gebruikt. In deze evaluatie dient per stap in het proces van genetische modificatie, het fokken van de nieuwe GM-stam tot het kruisen van dieren voor gebruik aangegeven te worden wat de mogelijke consequenties zijn voor de integriteit en het welzijn. Daarbij dienen betrokken te worden: het typeren van de lijn, het aspect "dood en gedood in voorraad" en wat gedaan zal worden om dit laatste zoveel mogelijk te beperken. Deze evaluatie dient te worden opgenomen in de projectbeschrijving die aan de CCD ter beoordeling wordt aangeboden. Tevens dient daarin duidelijk te zijn gemaakt dat alle redelijkerwijs ter beschikking staande middelen zijn gebruikt om vast te stellen in hoeverre bestaande GM-lijnen niet geschikt zouden zijn. Hierbij dient te worden gedacht aan: literatuurstudie, het raadplegen van databanken, netwerken en consortia en het gebruik van *in-vitro* methoden. Hetzelfde geldt voor embryonale stamcellen (ES-cellen) die nodig zijn voor het maken van een GM-lijn. Informatie over de beschikbare infrastructuur en de wijze van aanpak om de kwaliteit van het materiaal te garanderen dient te worden bijgevoegd. Een adequate beschrijving van de te gebruiken technologie en de mogelijkheden van de 3Vs dient onderdeel uit te maken van de projectbeschrijving. De wijze waarop de lijn in stand gehouden zal worden dient ook te worden vermeld, inclusief het gebruik van cryopreservatie voor het behoud van de lijn en het eventueel onderbrengen van de lijn in een internationale "bank", zoals bij European Mouse Mutant Archive (EMMA).

Wetenschappelijke ontwikkelingen in de moleculaire biologie leiden tot nieuwe technieken die het mogelijk maken op veel snellere wijze (vooral complexe) GM-muizen en -vissen voor het onderzoek te maken. Met recent ontwikkelde technieken wordt het nu ook mogelijk om op grotere schaal dan voorheen veranderingen in het genoom van andere diersoorten dan de muis en de vis aan te brengen. Voorbeelden van recent ontwikkelde technieken zijn: de Zinc-fingers, de TALENS en de CRISPR/Cas9-technologie. Deze technieken zijn gebaseerd op de combinatie van specifieke DNA-herkenning met het ter plekke knippen van DNA en het aanbrengen van de gewenste DNA-verandering.

De ontwikkelingen op het gebied van stamceltechnologie maken het mogelijk om DNA-veranderingen direct in stamcellen aan te brengen en die te combineren met andere reeds aanwezige veranderingen. Dit is onder andere van belang voor het bestuderen van die ziekteprocessen die veroorzaakt worden door meerdere genetische veranderingen. Vanuit deze stamcellen, met meerdere DNA-veranderingen in één cel, kunnen dan direct dieren voor experimenten worden gegenereerd. Deze technieken zijn nog in ontwikkeling, maar hebben de potentie te leiden tot vermindering van het aantal dieren dat nodig is voor het maken en fokken van GM-lijnen met name die met een combinatie van meerdere genetische modificaties in één en dezelfde foklijn. Ze zijn in principe ook toepasbaar op andere diersoorten dan de tot nu toe veelgebruikte muis wat op zich kan leiden tot veranderingen in het gebruik van dieren voor onderzoek en tot andere wetenschappelijke en morele afwegingen.

De technologische ontwikkelingen resulteren ongetwijfeld in een toename van het gebruik van GM-dieren in het onderzoek, maar waarschijnlijk zal het aantal dieren “dood of gedood in voorraad” ten opzichte van deze toename juist afnemen. De verwachting is dat toepassing van nieuwe moleculair- en celbiologische technologie in combinatie met gerichte controles op kwaliteit van de aangebrachte genetische modificatie zal leiden tot een reductie van het aantal dieren “dood of gedood in voorraad” per transgene stam en tot verfijndere modellen die betere wetenschap opleveren. Voorwaarde daarbij is dat het fokmanagement van de transgene fok bij een instelling in handen is van een gespecialiseerd team en de instelling zoveel mogelijk aansluiting zoekt bij (inter-)nationale initiatieven op het gebied van de fok van GM-dieren.

*Aanbeveling-7: De instellingsvergunninghouder voorziet in een systeem voor de adequate registratie van onder ander fok gerelateerde indicatoren.*

*Aanbeveling-8: De instellingsvergunninghouder belegt de taken in het kader van adequaat fokmanagement waaronder de communicatie met de verantwoordelijke onderzoekers bij een of meerdere fok coördinatoren afhankelijk van de omvang en complexiteit van de taakstelling.*

*Aanbeveling-9: Concentreer de transgenese technologie in een beperkt aantal “centres of excellence” ingebed in een wetenschappelijke omgeving. Deze centra zullen moeten zorgen voor verspreiding van kennis en kunde middels educatie en training en aan andere centra de mogelijkheid bieden zich te kwalificeren*

*Aanbeveling-10: Het maken van een nieuwe transgene lijn dient uitgebreid gemotiveerd te worden en de procedure dient onderworpen te worden aan een risico-evaluatie waarin ook mogelijkheden tot beperking van dieren “dood of gedood in voorraad” worden meegenomen.*

*Aanbeveling-11: Centraliseer de fok van genetisch gemodificeerde dieren binnen de instelling onder leiding van een fok-coördinator en indien mogelijk op instituut overschrijdend niveau.*

*Aanbeveling 12: Concentreer de fok van niet-genetisch gemodificeerde dieren zo veel mogelijk op instituut overschrijdend niveau.*

De aanbevelingen 7 t/m 12 zouden de basis kunnen vormen voor een *Code of Practice* (een onder deskundigen heersende mening) fok en fokmanagement van proefdieren.

#### **Educatie, training en voorlichting**

Educatie en training zijn van essentieel belang voor instellingen waar gewerkt wordt met GM-dieren. In het licht van de Europese Directive 2010/63/EU is het belangrijk in het curriculum

van hen die met GM-dieren werken, een module “maken, fokken en beheren van GM-dieren” op te nemen. Naast de technische aspecten van het beschikbaar krijgen van GM dieren voor het onderzoek met de voor- en nadelen, dienen hierin ook zaken als attitudevorming en dierenwelzijn aan de orde te komen. Voorts is het noodzakelijk om te zorgen voor een gestandaardiseerde wijze van dierenwelzijn-beoordeling, evaluatie en registratie. Dit alles behoort te leiden tot een “zorgcultuur” binnen een instelling waarbij de verantwoordelijkheden op elk niveau, van instellingsvergunninghouder tot in de haarvaten van de organisatie, zijn vastgelegd en worden gerespecteerd.

Het is de verantwoordelijkheid van de onderzoek-gemeenschap om de rest van de maatschappij, waaronder beleidsmakers en politici, te informeren over wat ze doet. Het fenomeen “dieren dood of gedood in voorraad” heeft meer uitleg en context nodig dan tot nu toe het geval is geweest. Die uitleg kan dan deel uitmaken van de eerder genoemde toelichting die de overheid moet geven bij de jaarlijkse publicatie van de aantallen dierproeven en proefdieren.

*Aanbeveling-13: Het onderwijscurriculum uitbreiden met een module “genereren, fokken en beheren van transgene dieren”.*

*Aanbeveling-14: Verbetering van de publieksvoorlichting over het fenomeen “dood of gedood in voorraad”.*

## Alternatieven

Tijdens de workshop is ook het onderwerp Alternatieven aan de orde gekomen. Onder “alternatieven” worden die mogelijkheden verstaan die kunnen leiden tot een Vervanging, Vermindering of Verfijning in het proefdiergebruik; de zogenaamde 3V’s. Premisse is dat als er alternatieven zijn, deze moeten worden gebruikt en dat gebruik van proefdieren gebaseerd moet zijn op een vergunning verleend op basis van een ethische afweging waarbij deze alternatieve aspecten expliciet aan de orde komen.

In het kader van het onderwerp “dood of gedood in voorraad” is met betrekking tot alternatieven voor dierproeven een onderscheid gemaakt tussen een directe en een indirecte benadering. Bij een directe benadering zal het alternatief onderdeel uitmaken van de fokstrategie. Zo zal het toepassen van nieuwe moleculair biologische technieken als CRISPR voor het genereren en fokken van GM-dieren naar verwachting resulteren in minder genetisch ongeschikte nakomelingen per lijn en derhalve in minder dieren die in voorraad worden gedood. Naast vermindering is ook een directe verfijning mogelijk, zoals bijvoorbeeld is het transcervicaal inbrengen van GM-embryo’s (blastocysten of ingevroren embryo’s) in draagmoederdieren als alternatief voor het chirurgisch implanteren van de embryo’s.

Indien een dierproef vervangen kan worden door een *in vitro* methode of indien het aantal dieren in een dierproef kan worden beperkt, dan zullen minder dieren gefokt hoeven te worden en zullen uiteindelijk minder dieren in voorraad worden gedood. In dat geval gaat het om een indirect alternatief. Een voorbeeld uit deze categorie is de toepassing van weefselkweek technieken. Nieuwe, veelbelovende technieken worden op dit terrein ontwikkeld, zoals de 3D-organoïden kweken. 3D-organoïden zijn driedimensionale kweken van verschillende celtypen, gevormd van uit mens of dier geïsoleerde cellen die al dan niet genetisch veranderd zijn. Als zodanig kunnen ze het proefdiergebruik verminderen, bijvoorbeeld bij de selectie van potentieel interessante geneesmiddelen.

Tijdens de workshop zijn ook mogelijke spanningsvelden benoemd in de toepassing van alternatieven. Zo zal de selectie van potentieel interessante geneesmiddelen in organoid-

culturen grootschalig kunnen worden aangepakt (*high-throughput screening*) waardoor er meer stoffen kunnen worden geselecteerd voor vervolgonderzoek, niet zelden ook door middel van dierproeven. Dit zal leiden tot een grotere fok en vanuit het gegeven dat de fok van dieren gepaard gaat met een zekere mate van overtolligheid zal het beeld dat organoid-culturen bij zullen dragen aan een daling van “dood of gedood in voorraad” enigszins moeten worden genuanceerd.

Ook kan er een spanningsveld zijn tussen de aspecten Vermindering en Verfijning. Een voorbeeld van dit laatste is de fok van GM-lijnen. Het fokken van homozygote dieren kan gepaard gaan met ongerief omdat de gevolgen van de genetisch modificatie zich in homozygote toestand explicieter openbaart. In dat geval is sprake van een dierproef in de zin van de wet. Wanneer de heterozygote dieren van die transgene lijn geen ongerief hebben, is het om die reden aan te bevelen de lijn in heterozygote toestand te fokken. Echter, dan zal slechts een deel van de gefokte dieren over de gewenste genetische samenstelling beschikken en moeten dus meer dieren gefokt worden om hetzelfde aantal dieren te verkrijgen dat de gewenste genetische samenstelling heeft voor het experiment; en dat gaat gepaard met een toename van het aantal dieren dat in voorraad wordt gedood. Hetzelfde geldt voor het fokken van kruisingen waarbij de nakomelingen het transgen pas na inductie en dan vaak ook nog weefsel specifiek tot expressie brengen.

*Aanbeveling-15: Stimuleer bewustwording van het gebruik van in-vitro methoden, zoals 3D-organoïden, als verminderings- en verfijningsalternatieven.*

*Aanbeveling-16: Stel in de discussie “dood of in voorraad gedood” het criterium “ongerief voor het individuele dier” centraal en niet het totale aantal dieren in deze categorie.*



## **Bijlage 1: Deelnemers aan de workshop**

- Prof. Dr. P. Alestrom (Norway)
- Dr. D. Anderson (UK)
- Dr. F. Benavides (USA)
- Dr. F. van den Broek (NL)
- Dr. Nicola Chrobot (UK)
- Dr. C. Desvignes (France)
- Dr. J. van Es (NL)
- Dr. M. Fentener van Vlissingen (NL)
- Prof. Dr. C. Hendriksen (NL)
- Dr. P. Hohenstein (UK)
- Dr. B. Jerchow (Germany)
- Dr. P. Krimpenfort (NL)
- Prof. D. Morton (UK)
- Prof. Dr. F. Ohl (NL)
- Dr. C. Pool (NL)
- Dr. Ir. J.-B. Prins (NL)
- Dr. M. Raspa (Italy)
- Dr. R. Tramper (NL)
- Dr. J. van der Valk (NL)
- Dr. J. Wilbertz (Sweden)
- Dr. L. Wittler (Germany)

## Bijlage 2: Agenda van de workshop

### Friday, October 18

- 14.00 hrs. Introduction to the workshop
- 14.15 hrs. Tour de table
- 14.45 hrs. Housekeeping info
- 15.00 hrs. *Introduction of the subject*
- 15.30 hrs. Discussion on management strategies to reduce numbers of animals in the category 'bred but not used'
- 16.00 hrs. Coffee break
- 16.30 hrs. Continuation of discussion on management strategies to reduce numbers of animals in the category 'bred but not used'
- 17.30 hrs. Closure of day 1

### Saturday, October 19

- 08.30 hrs. *GA animals and science: Introduction to the topic*
- 09.15 hrs. Discussion on implementation of general principles of 3Rs in generation, breeding and use of GA animals.
- 10.30 hrs. Coffee break
- 11.00 hrs. Generation of GAs: current technologies, innovative developments and future trends: Introduction.
- 11.30 hrs. Discussion on current technologies, innovative developments and future trends
- 12.30 hrs. Lunch
- 13.30 hrs. Continuation of discussion
- 14.30 hrs. Production of GAs: breeding management, preservation (banking), infrastructures (networks, consortia, centers, etc.): Introduction
- 15.15 hrs. Coffee break
- 15.45 hrs. Discussion on Production of GAs: breeding management, preservation (banking), infrastructures (networks, consortia, centers, data-bases, etc.)
- 17.30 hrs. Information on and preparations for evening program

### Sunday, October 20

- 09.00 hrs. Moral dilemmas of category 'bred but not used' : Introduction
- 09.30 hrs. Discussion on moral dilemmas
- 11.00 hrs. Coffee break
- 11.30 hrs. Plenary discussion draft workshop report and conclusions
- 13.00 hrs. Closure of meeting