

# Herziene handreiking 'Het genereren, fokken, genotyperen, monitoren en houden van genetisch gewijzigde dieren'

Gepubliceerd op 23 april 2024

## Inleiding

Deze handreiking is een herziening van de CCD-handreiking van 7 oktober 2016<sup>1</sup> en treedt in werking vanaf 1 januari 2023 (tekstuele aanpassing april 2024). De herziening is uitgevoerd om de eisen uit het Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU<sup>2</sup> (de opvolger van 2012/707/EU) te implementeren en rekening te houden met de aanbevelingen uit het EU-consensusdocument 'Kader voor genetisch gewijzigde dieren op grond van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt' van de Europese Commissie uit 2021<sup>3</sup>. Dit consensusdocument dient ter ondersteuning van de interpretatie van de Europese Richtlijn<sup>4</sup>.

De Centrale Commissie Dierproeven (CCD) beoordeelt een aanvraag voor een projectvergunning voor dierproeven op verschillende aspecten die zijn vastgelegd in de Wet op de dierproeven (Wod)<sup>5</sup>. Deze handreiking is bedoeld om onderzoekers, Instanties voor Dierenwelzijn (IvD's) en Dierexperimentencommissies (DEC's) inzicht te geven welke handelingen rond het genereren, het fokken, het monitoren en het houden van dieren met veranderingen in hun genoom in de Nederlandse situatie een projectvergunning in het kader van de Wod vereisen. De algemene voorwaarden waaraan een projectaanvraag voor een dergelijke fok-projectvergunning moet voldoen zijn gepubliceerd in een aparte Handreiking, te weten: 'Invulling definitie project'. Deze is te downloaden op de website van de CCD.

Het bovengenoemde EU-consensusdocument 'Kader voor genetisch gewijzigde dieren' is toegevoegd aan deze handreiking (Bijlage 1). In onderstaande tekst zal een aantal keer verwezen worden naar relevante delen in het consensusdocument, waarbij vooral de administratieve procedures inclusief projectvergunning eisen (deel 1), maar daarnaast ook de drie V's (deel 2) en de welzijnsbeoordelingssystemen (deel 3) aan bod zullen komen in het kader van projectvergunning aanvragen.

## Wettelijk kader

Het ongeriefkader dat bepaalt of er bij een handeling aan een proefdier voor één van de doelstellingen zoals aangegeven in de Wod sprake is van een dierproef staat beschreven in artikel 1 lid 1 sub a van de Wod:

"Elk al dan niet invasief gebruik van een dier voor experimentele of andere doeleinden, waarvan het resultaat bekend of onbekend is, of onderwijskundige doeleinden, die bij het dier evenveel of meer pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als, dan wel meer dan het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap. *Dit omvat ieder gebruik waarvan het doel of het mogelijke gevolg de geboorte of het uit het ei breken van een dier is, dan wel het in een dergelijke toestand **brenge**n en **houden** van een genetisch gemodificeerde dierenlijn*, met inbegrip van het doden van dieren ten behoeve van het gebruik van hun organen, weefsels of lichaamsvloeistoffen voor een doel genoemd in artikel 1c; "

- 'brenge
- 'houden' dient in deze te worden geïnterpreteerd als 'het fokken en aanhouden van reserve-, fok- of proefdieren'.

Dit betekent dat het genereren van en fokken met genetisch gewijzigde dieren potentieel als dierproef moet worden aangemerkt en dat het ongerief bepalend is voor de vraag of er wel of geen sprake is van een dierproef.

Richtlijn 2010/63/EU is in de nationale regelgeving geïmplementeerd. De nationale regelgeving (Wod, Dierproevenregeling en Dierproevenbesluit) geeft de wettelijke kaders weer inzake een vergunningaanvraag voor dierproeven. Dit document beschrijft de in Nederland geldende wettelijke

kaders op het gebied van het genereren, fokken en monitoren van genetisch gewijzigde dieren, het genotyperen en het monitoren en vaststellen van nieuwe genetische lijnen. Voor het fokken en leveren van proefdieren is een instellingsvergunning vereist (Wod artikel 11a).

Er zijn naast de projectvergunningplicht ook verplichtingen met betrekking tot de registratie rond het genereren, fokken en gebruiken van genetisch gewijzigde dieren (Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU artikel 54, lid 2).

### *Definitie Genetische modificatie (GM)/Genetische wijziging (GW)*

In het Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU is het begrip 'genetisch gewijzigde dieren' gedefinieerd als:

- a) genetisch gewijzigde (transgene, knock-out, knock-in en anderszins genetisch gewijzigde) dieren en dieren met geïnduceerde mutaties (ongeacht de aard van de mutatie);
- b) dieren met spontane schadelijke mutaties die voor onderzoek naar dat specifieke genotype worden behouden.

Nakomelingen van één of beide genetisch gewijzigde ouderdieren, die zelf de mutatie niet bezitten (wildtype-dieren) worden niet beschouwd als 'genetisch gewijzigde dieren'.

Iedere genetische verandering met kiembaan transmissie, dus ook een spontane mutatie die (bedoeld of onbedoeld, met al of niet een fenotype met een welzijnsaantasting) in een lijn in stand wordt gehouden is per definitie 'een genetische wijziging'.

### *Vergunningplicht met betrekking tot het genereren van een nieuw gewijzigd genotype*

Deze handreiking is in lijn met het voorzorgprincipe zoals beschreven in het EU-consensusdocument 'Kader voor genetisch gewijzigde dieren'. Hierin wordt uit voorzorg een vergunningplicht voor het genereren van een nieuw gewijzigd genotype gehanteerd, omdat de consequenties van het genereren van een nieuw genetisch gewijzigd genotype op voorhand niet volledig bekend zijn. Ook voor dieren die een invasieve handeling ondergaan (bijvoorbeeld vasectomie, superovulatie, etc.) ten behoeve van het genereren van een nieuwe lijn dient er een projectvergunning te zijn. Een overzicht van activiteiten/handelingen met betrekkingen tot het genereren van een nieuw gewijzigd genotype waarvoor al dan niet een projectvergunning nodig is wordt gegeven in tabel A op pagina 6. Zie ook Bijlage 1 deel 1, onderdeel 3 "Activiteiten die onder de definitie van een procedure vallen en waarvoor een projectvergunning vereist is" pagina's 11 t/m 19 (tabel) en onderdeel 4 "Stroomschema in verband met de vereisten voor een projectvergunning voor het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen" pagina's 20 en 21\*.

De meest gebruikte methoden voor het genereren van een lijn met een nieuw gewijzigd genotype zijn onder te verdelen in 4 groepen, te weten:

- Biotechnologische handelingen (transgenen, knock-outs, knock-ins);
- Het kruisen van genetisch gewijzigde lijnen;
- Het in stand houden van een spontane mutant;
- Chemische mutagenese.

In specifieke gevallen kan er afgeweken worden van het voorzorgsprincipe. Het EU-consensusdocument 'Kader voor genetisch gewijzigde dieren' geeft onderstaande uitzonderingen op vergunningsplicht:

1. Het genereren van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn door het kruisen/terugkruisen van twee lijnen zonder welzijnsaantasting en waarbij redelijkerwijs kan worden aangenomen dat dit niet resulteert in een fenotype met een welzijnsaantasting.
2. Het ontstaan van spontane mutatie in enkele dieren waarbij de betreffende dieren direct worden gedood, de welzijnsaantasting is geïdentificeerd en de fok met de betreffende ouderdieren wordt getermineerd.

\*Door vergunningplichtige handelingen dienen de founders van een nieuwe lijn opgenomen te worden in een vergunning en worden zij ook geregistreerd in de jaarlijkse statistische rapportage. Zie Bijlage 1, deel 3, onderdeel 1 "Jaarlijkse statistische rapportage".

### *Genotypering*

De genotypering van genetisch gewijzigde lijnen door middel van analyse van weefsel dat op een invasieve (=een bovendrempelige) methode is verkregen is projectvergunningplichtig. Genotyperen

met surplus weefsel dat verkregen is bij identificatie/markeren van dieren als onderdeel van de bedrijfsvoering valt buiten de projectvergunningplicht. De staartknip of het afnemen van bloed zijn doorgaans niet geschikt als identificatiemethoden en dienen daarom vrijwel altijd onder een projectvergunning uitgevoerd te worden. Bij zebravissen is de vinknip niet geschikt voor identificatiedoeleinden vanwege een snelle regeneratie van de vinnen. Wanneer bij zebravissen (vanaf het stadium van de zelfstandig voedende larvale vorm) een vinknip gebruikt wordt voor genotypering, moet deze worden opgenomen in een projectvergunning. Een overzicht van activiteiten/handelingen met betrekkingen tot het genotyperen van een nieuw gewijzigd genotype waarvoor al dan niet een projectvergunning nodig is, wordt gegeven in tabel A op pagina 6. Zie ook Bijlage 1 onder "Genetische karakterisering" op pagina's 17 en 18.

### *Monitoring en 'vaststellen' van een nieuw gegenereerd genotype*

Voor elk nieuw genotype geldt de verplichting tot het monitoren van het welzijn van minimaal de eerste 2 genetisch stabiele generaties. Het aantal dieren dat wordt geïncubeerd bij de welzijnsmonitoring dient wetenschappelijk en statistisch onderbouwd te zijn, met een minimum van 14 dieren die afkomstig zijn uit meer dan één nest/legsel. Ook dient er in de groeps groottes rekening te worden gehouden met mogelijke geslachtsverschillen in het fenotype, als deze op wetenschappelijke basis niet kunnen worden uitgesloten. Als het genotype niet geslachtsafhankelijk is, dienen er tenminste 7 vrouwelijk en 7 mannelijke dieren te worden geïncubeerd. Daarnaast is het van belang om dieren van representatieve leeftijden en relevante genotypes (heterozygoot en homozygoot) mee te nemen in de welzijnsmonitoring.

De dieren die betrokken zijn bij deze monitoring dienen in een projectvergunning te worden opgenomen. In het EU-consensusdocument 'Kader voor genetisch gewijzigde dieren' zijn de uitvoeringscriteria voor de welzijnsmonitoring beschreven en de klinische parameters die daarbij dienen te worden bepaald (zie Bijlage 1 deel 3: welzijnsbeoordelingssystemen voor de meest voorkomende genetisch gewijzigde soorten pagina's 39 t/m 63).

Bij de monitoring dienen conventionele/wildtype dieren van de achtergrondlijn als referentie te worden gebruikt om vast te stellen of fenotypische afwijkingen van een nieuwe lijn het resultaat zijn van de genetische wijziging. Voor deze genetisch ongewijzigde referentiedieren is geen projectvergunning nodig, tenzij er bovendrempelige handelingen met deze dieren worden uitgevoerd.

Een projectvergunning is niet vereist wanneer een nieuwe genetisch gewijzigde lijn wordt gegenereerd door het kruisen/terugkruisen van twee lijnen zonder welzijnsaantasting en hierbij redelijkerwijs kan worden aangenomen dat dit niet resulteert in een fenotype met welzijnsaantasting. Het welzijn van deze lijnen dient wel te worden gemonitord, omdat achteraf bevestigd moet worden dat er inderdaad geen sprake is van een fenotype met een welzijnsaantasting. Voor de welzijnsmonitoring van een dergelijke lijn is geen projectvergunning noodzakelijk. Ook voor lijnen die uitsluitend na kruisen met een andere lijn risico lopen op ongerief (e.g. Cre, lox, Crispr, Flp) is geen projectvergunning noodzakelijk, aangezien deze alleen in combinatie met elkaar een functionele mutatie opleveren in de nakomelingen.

De monitoring periode dient formeel te worden afgesloten. Een lijn met genetisch gewijzigde dieren wordt pas als 'vastgesteld' beschouwd als transmissie van de genetische wijziging stabiel is, dus 2 generaties, en een welzijnsevaluatie is afgerond. De conclusie of er al dan niet sprake is van een lijn met een fenotype met een welzijnsaantasting dient gemaakt te worden door de (instellings)vergunninghouder en na consultatie van de IvD.

Zie ook Tabel A "Welzijnsbeoordeling" en Bijlage 1 "Schepping van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn" op pagina's 13/14.

### *Vergunningplicht met betrekking tot het in stand houden van lijnen*

Bij het 'vaststellen' van de nieuwe genetisch gewijzigde lijn kan worden geconcludeerd dat er sprake is van een lijn met een fenotype met een welzijnsaantasting als er inherent aan de erfelijke aanleg van de dieren sprake is van een welzijnsaantasting die evenveel of meer pijn, lijden of angst met zich meebrengt als het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap. Dit is gelijk aan de drempelwaarde beschreven voor een vergunningplichtige handeling in artikel 1 lid 1 sub a van de Wod en artikel 3, punt 1, van de Europese Richtlijn. In dat geval is een projectvergunning vereist voor het aanhouden van de lijn.

Daarnaast is er ook sprake van een fenotype met een welzijnsaantasting wanneer genetisch gewijzigde dieren, ten opzichte van conventionele/wildtype soortgenoten, op een speciale manier gehuisvest of verzorgd moeten worden om bovendrempelig ongerief ten gevolge van erfelijke aanleg te beperken of te voorkomen. Ook voor deze lijnen is een projectvergunning vereist. Een voorbeeld hiervan is een fok met genetisch gewijzigde dieren die gevoeliger zijn voor infecties. Voor dergelijke dieren geldt een specifieke biologische veiligheidsnorm (die niet noodzakelijk is voor de conventionele dieren), om gezondheid en/of welzijn van de dieren in stand te houden. Het Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU vermeldt hierover in Bijlage III, deel B, punt 11.7 "...Het gaat daarbij onder andere om dieren die een specifieke bioveilige omgeving nodig hebben (bijvoorbeeld speciale huisvestingsregelingen ter bescherming van dieren die als gevolg van de genetische wijziging bijzonder gevoelig zijn voor infectie) of aanvullende zorg die verder gaat dan die welke voor conventionele dieren nodig is om hun gezondheid en welzijn te behouden."

Hieronder volgen situaties die een projectvergunning vereisen voor het aanhouden van de fok van lijnen waarvan het fenotype is 'vastgesteld':

- Bij de nakomelingen is vanaf het moment van geboorte (of zelfs al gedurende het laatste derde deel van de dracht) sprake van een fenotype met een welzijnsaantasting;
- De (homozygote) nakomelingen met een fenotype met een welzijnsaantasting overlijden tijdens of direct na de geboorte;
- Gekruiste lijnen die uitsluitend na kruisen met een andere lijn risico lopen op een fenotype met een welzijnsaantasting (e.g. Cre/Lox);
- Fokken door heterozygoten x heterozygoten of heterozygoten x wild-type te kruisen om het risico op de expressie van een pathologisch fenotype te verminderen of te elimineren;
- Een fok waarbij een fenotype met een welzijnsaantasting, terwijl het dier in de fok aanwezig is, wordt geactiveerd door het toedienen van een inducerende stof;
- Fokken waarbij er maatregelen bovenop de reguliere huisvesting en verzorging worden genomen om de diergezondheid en dierenwelzijn van de genetische gewijzigde dieren in stand te houden, waar dit niet nodig is voor de conventionele dieren. Voorbeelden hiervan zijn:
  - Een fok met immuundeficiënte muizen in een speciale unit;
  - Een fok met dieren met een 'age-onset' fenotype met een welzijnsaantasting. Het EU-consensusdocument vermeldt hierover: "...Evenzo kan voor verwachte leeftijdsafhankelijke aandoeningen worden voorspeld dat zich later nadelige effecten zullen voordoen als de dieren ouder worden, bv. hoge bloeddruk. Als dieren worden gedood om het ontstaan van schadelijke effecten te voorkomen, neemt dit het risico voor de lijn niet weg, alleen voor het individuele dier dat is gedood. Daarom moeten deze lijnen als pathologisch worden aangemerkt en is voor het houden van deze lijnen een projectvergunning vereist.";
  - Een fok waarbij een fenotype met een welzijnsaantasting wordt onderdrukt, terwijl het dier in de fok aanwezig is, door het toedienen van een onderdrukkende stof.

Hieronder volgen situaties die *niet* projectvergunningplichtig zijn met betrekking tot het aanhouden van de fok, maar alleen in het geval er geen bovendrempelige handelingen worden uitgevoerd bij het in stand houden van:

- Bestaande genetisch gewijzigde lijnen met een fenotype zonder welzijnsaantasting;
- Lijnen waarbij uitsluitend reporter genen in het genoom zijn geïntroduceerd;
- Niet gekruiste Cre of Lox lijnen met een fenotype zonder welzijnsaantasting;
- Bestaande lijnen met een genetische modificatie waarbij het fenotype pas wordt geactiveerd door inducerende stof in de proef (niet in de fok).

Zie ook Tabel A en Bijlage 1 "Instandhouding van een bestaande genetisch gewijzigde lijn" pagina's 14 t/m 16.

### *Vergunningplicht met betrekking tot aanschaf, cryopreservatie en rederivatie van genetisch gewijzigde lijnen*

Voor deze activiteiten dient de instelling te beschikken over een instellingsvergunning voor het fokken/leveren van proefdieren (artikel 11a Wod) hetgeen impliceert dat de voorzieningen, het

personeel en alle andere elementen moeten voldoen aan de vereisten van de Wod. Of er sprake is van het vereiste van een projectvergunning met betrekking tot *cryopreservatie en rederivatie hangt af van het beoogde doel. Een projectvergunning is nodig in het geval dat de handelingen aan de dieren worden uitgevoerd met een wetenschappelijk doel. Handelingen die aan dieren worden uitgevoerd ten behoeve van de diergezondheid en/of het dierenwelzijn, vereisen geen projectvergunning. Het gaat dan om rederivatie bij aanwezigheid van pathogenen waar de dieren ziek van kunnen worden. Voor cryopreservatie is een projectvergunning geëist wanneer hiervoor levende dieren worden gebruikt of dieren worden gedood voor isolatie van weefsel/sperma. In het geval van het aanschaffen (eventueel via import) van een genetisch gewijzigde lijn die nog niet is 'vastgesteld' of waarbij de benodigde informatie niet wordt aangeleverd gelden er dezelfde regels als bij het genereren van een nieuwe genetische lijn.*

Zie ook Tabel A en Bijlage 1 "rederivatie" en "cryopreservatie" op pagina 20.

### *Onvoorziene omstandigheden*

Er kunnen onvoorziene situaties ontstaan waar er bij het genereren van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn of bij het in stand houden van een bestaande genetisch gewijzigde lijn onverwacht toch sprake is van een fenotype met een welzijnsaantasting.

Mogelijke situaties die kunnen ontstaan zijn:

- Een nieuw genotype is gegenereerd door het kruisen van twee lijnen beide zonder aangetast fenotype waarvan redelijkerwijs kon worden aangenomen dat er geen fenotype met een welzijnsaantasting zou ontstaan (niet projectvergunningplichtig). Er wordt bij de fok voor het aanhouden van dit nieuwe genotype echter wel een fenotype met een welzijnsaantasting gevonden (wel projectvergunningplichtig). In het geval er binnen de instelling een generieke vergunning voor het genereren en fokken van lijnen met een fenotype met een welzijnsaantasting aanwezig is, zou deze lijn hieraan kunnen worden toegevoegd. Is dit niet mogelijk dan dient een wijzigingsaanvraag bij de projectvergunning of een nieuwe aanvraag voor een projectvergunning te worden ingediend. Totdat toestemming door de CCD is verleend dient de fok te worden opgeschort (paringen worden niet meer ingezet).
- Een nieuw genotype is gegenereerd waarbij er sprake is van meer ongerief dan vooraf was ingeschat (bijvoorbeeld, het vooraf inschatte ongerief is licht, maar in de praktijk blijkt dit matig ongerief te zijn). Als hierdoor het vergunde ongerief op de projectvergunning niet meer toereikend is, dient hiervoor een wijziging op de projectvergunning te worden aangevraagd. Totdat de wijzigingsvergunning of de nieuwe projectvergunning is verleend dient de fok te worden opgeschort (paringen worden niet meer ingezet).
- Bij een generieke vergunning voor het genereren en fokken van lijnen blijkt het aantal lijnen met een fenotype met welzijnsaantasting hoger dan wat daarvoor in de projectvergunning is opgenomen. Als hierdoor het aantal vergunde dieren op een projectvergunning niet toereikend meer zal zijn, kan hiervoor een wijzigingsaanvraag bij de projectvergunning worden ingediend. Totdat de wijzigingsvergunning of de nieuwe projectvergunning is verleend dient de fok te worden opgeschort (paringen worden niet meer ingezet).

### *Referenties*

1. Handreiking Herziane Wet op de Dierproeven: het genereren, fokken, genotyperen, monitoren en huisvesten van genetisch gewijzigde dieren - 7 oktober 2016
2. [Uitvoeringsbesluit \(EU\) 2020/569 van de Commissie](#) - 16 april 2020
3. EU-consensusdocument: [Kader voor genetisch gewijzigde dieren op grond van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt](#) – 25-26 november 2021 (het document is toegevoegd aan de handreiking; Bijlage 1)
4. [Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt](#) – 22 september 2010
5. [Wet op de dierproeven](#) – 18 december 2014

Tabel A. Overzicht vergunningplicht voor genetisch gewijzigde lijnen

Verplicht	Niet verplicht
<b>Schepping van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Scheppen van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn</li> <li>Kruisen van genetisch gewijzigde lijnen</li> <li>Biotechnologische handelingen (bijv. weefselafname, superovulatie, embryotransfer, vasectomie)</li> <li>In stand houden van een spontane mutant</li> <li>Chemische mutagenese</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Het kruisen/terugkruisen van lijnen zonder welzijnsaantasting en waarbij redelijkerwijs kan worden aangenomen dat dit niet resulteert in een fenotype met een welzijnsaantasting</li> <li>Spontane mutatie in enkele dieren waarbij de betreffende dieren direct worden gedood en de fok wordt getermineerd</li> </ul>
Geboorte van de nakomelingen met een mutatie	Geboorte van de nakomelingen zonder een mutatie
Dieren met een mutatie in de fok tot aan een stabiele overdracht van de genetische wijziging	Geboorte van de nakomelingen die voortkomen uit het kruisen/terugkruisen van lijnen zonder welzijnsaantasting en waarbij kan worden aangenomen dat dit niet resulteert in een fenotype met een welzijnsaantasting
<u><i>Benoemen in de projectaanvraag:</i></u> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Ouderdieren in het geval van bovendrempelig ongerief</i></li> <li><i>Alle nakomelingen tot aan het 'vaststellen' van de lijn</i></li> </ul>	<i>Opmerking: wanneer er een bovendrempelige handeling met het dier wordt uitgevoerd is een projectvergunning verplicht</i>
<b>Genetische karakterisering</b>	
Bepalen van de genetische wijziging d.m.v. analyse van weefsel dat via een invasieve methode is verkregen (bijv. door een vinknip bij de zebravis)	Vaststellen van de genetische wijziging d.m.v. analyse van surplus weefsel dat verkregen is bij identificatie/markeren van het dier
Karakterisatie van het fenotype met een 'bovendrempelige' methode (bijv. door het afnemen van een bloedmonster)	Karakterisatie/observatie van het fenotype met een 'benedendrempelige' methode (bijv. gebruik van feces of het nemen van een haarmonster)
<u><i>Benoemen in de projectaanvraag:</i></u> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>Ouderdieren in het geval van bovendrempelig ongerief</i></li> <li><i>Nakomelingen in het geval van bovendrempelige ongerief</i></li> </ul>	
<b>Welzijnsbeoordeling</b>	
Verplichte monitoring	Verplichte monitoring van lijnen die voortkomen uit het kruisen/terugkruisen van lijnen zonder welzijnsaantasting en waarbij kan worden aangenomen dat dit niet resulteert in een fenotype met een welzijnsaantasting
'Vaststellen' van de lijn; wel of geen fenotype met een welzijnsaantasting en een classificering van het ongerief (licht, matig of ernstig)	Conventionele/wildtype dieren van de achtergrondlijn die t.b.v. de welzijnsbeoordeling als referentie dienen voor de nieuwe genetisch gewijzigde dieren
<u><i>Benoemen in de projectaanvraag:</i></u> <ul style="list-style-type: none"> <li><i>minimaal 7 mannelijke en 7 vrouwelijke dieren voor ten minste 2 stabiele generaties</i></li> <li><i>dieren van representatieve leeftijden</i></li> <li><i>dieren van relevante genotypes</i></li> <li><i>bovendrempelige ongerief t.b.v. de welzijnsbeoordeling</i></li> </ul>	<i>Opmerking: wanneer er een bovendrempelige handeling met het dier wordt uitgevoerd is een projectvergunning verplicht</i>
<b>Instandhouding van een bestaande genetisch gewijzigde lijn</b>	
Genetisch gewijzigde lijn met een fenotype met een welzijnsaantasting, inclusief: <ul style="list-style-type: none"> <li>fokken met het x het of het x wild-type om het risico op de expressie van een pathologisch fenotype te verminderen of te elimineren</li> <li>Genetisch gewijzigde lijn die, t.o.v. de conventionele/wildtype soortgenoot, op een speciale manier gehuisvest of verzorgd moet worden zoals een immunologisch verzwakte lijnen in IVC kooien.</li> <li>een fok met dieren met een leeftijdsgebonden fenotype met een welzijnsaantasting</li> <li>Gekruiste Cre of Lox lijnen die na kruisen met een andere lijn risico lopen op een fenotype met een welzijnsaantasting</li> <li>dieren in de fok waarbij het fenotype met een welzijnsaantasting wordt geactiveerd d.m.v. een inducerende stof</li> <li>dieren in de fok waarbij het fenotype met een welzijnsaantasting wordt onderdrukt d.m.v. van een onderdrukkende stof</li> </ul>	Bestaande 'vastgestelde' genetisch gewijzigde lijnen met een fenotype zonder welzijnsaantasting, inclusief: <ul style="list-style-type: none"> <li>lijnen waarbij uitsluitend reporter genen in het genoom zijn geïntroduceerd</li> <li>niet-gekruiste Cre of Lox lijnen met een fenotype zonder welzijnsaantasting</li> <li>bestaande lijnen met een genetische modificatie waarbij van het fenotype pas wordt geactiveerd door inducerende stof in de proef</li> </ul>

<u>Benoemen in de projectaanvraag:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ouderdieren in het geval van bovendrempelig ongerief</li> <li>• Nakomelingen in het geval van bovendrempelige ongerief</li> </ul>	<i>Opmerking: wanneer er een bovendrempelige handeling met het dier wordt uitgevoerd is een projectvergunning verplicht</i>
<b>Rederivatie</b>	
Rederivatie wordt uitsluitend voor wetenschappelijke doeleinden gebruikt, bv. wanneer de immunoreacties kunnen worden beïnvloed door de aanwezige ziekteverwekker(s), maar de gezondheid van de dieren niet in het gedrang komt.	Rederivatie wordt uitgevoerd ten behoeve van de gezondheid en/of het welzijn van de kolonie, d.w.z. wanneer het nodig is dat de ziekteverwekker wordt verwijderd omdat de dieren ziek worden indien dit niet gebeurt, bv de MHV-infectie (Mouse Hepatitis Virus) bij muizen.
<u>Benoemen in de projectaanvraag:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ouderdieren, fosterdieren en/of donoren</li> </ul>	<i>Opmerking: Het oordeel/advies van de aangewezen dierenarts is noodzakelijk</i>
<b>Cryopreservatie</b>	
Technieken waarbij levende dieren worden gebruikt voor het Cryopreserveren met het oog op instandhouding van een lijn.	Wanneer gebruik wordt gemaakt van ingevroren sperma van gedode dieren.

Bijlage 1. EU-consensusdocument: Kader voor genetisch gewijzigde dieren op grond van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt





Europese  
Commissie

# Verzorging van dieren

met het oog op meer verantwoorde wetenschap

**RICHTLIJN 2010/63/EU**  
**BETREFFENDE DE BESCHERMING VAN DIEREN DIE VOOR**  
**WETENSCHAPPELIJKE DOELEINDEN WORDEN GEBRUIKT**



**GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN**

De Europese Commissie is niet aansprakelijk voor de gevolgen die voortvloeien uit hergebruik van deze publicatie.  
Luxemburg: Bureau voor publicaties van de Europese Unie, 2022



© Europese Unie, 2022

Het beleid ten aanzien van hergebruik van documenten van de Europese Commissie wordt uitgevoerd overeenkomstig Besluit 2011/833/EU van de Commissie van 12 december 2011 betreffende het hergebruik van documenten van de Commissie (PB L 330 van 14.12.2011, blz. 39).

Tenzij anders vermeld, is hergebruik van dit document toegestaan krachtens een Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)-licentie (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>). Dit betekent dat hergebruik is toegestaan, mits de bron correct wordt aangegeven en eventuele wijzigingen worden vermeld.

Voor het gebruik of de reproductie van onderdelen die niet het eigendom zijn van de Europese Unie, kan het nodig zijn rechtstreeks om toestemming van de respectieve houders van het recht te verzoeken.

Print ISBN 978-92-76-52191-4  
PDF ISBN 978-92-76-52174-7

doi:10.2779/192  
doi:10.2779/923150

KH-09-22-172-NL-C  
KH-09-22-172-NL-N

**Kader voor genetisch gewijzigde dieren op grond van  
Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van  
dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden  
gebruikt**

# **Nationale bevoegde instanties voor de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt**

## **Een werkdocument inzake genetisch gewijzigde dieren om aan de vereisten van de richtlijn te voldoen**

*— Ter vervanging van het consensusdocument van 22–23 maart 2012 —*

*Brussel, 25-26 november 2021*

Om de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt te vereenvoudigen, heeft de Commissie in 2011 twee deskundigenwerkgroepen samengesteld om 1) een gemeenschappelijk format voor statistische rapportage te ontwikkelen en 2) de ernst van procedures te beoordelen.

Als onderdeel van de resultaten van deze werkzaamheden hebben de nationale contactpunten van de lidstaten voor de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU op hun vergadering van 22-23 maart 2012 een document met richtsnoeren voor genetisch gewijzigde dieren, en vervolgens tijdens hun bijeenkomst van 11-12 juli 2012 het (in de bijlage opgenomen) welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde dieren goedgekeurd. Op 23 januari 2013 werd een rectificatie van de bijlage goedgekeurd.

Gezien de snelle technologische ontwikkelingen in de afgelopen tien jaar en de duidelijke moeilijkheden bij het bereiken van een uniform begrip van wanneer en welke vergunning vereist was, en van de wijze waarop melding moet worden gemaakt van dieren die worden gebruikt voor het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen, heeft de Europese Commissie op 27 en 28 juni 2018 in Brussel een vergadering van een extra deskundigenwerkgroep georganiseerd waarin het scheppen, fokken en in stand houden van genetisch gewijzigde dieren werd behandeld. Na de vergadering werden verschillende subgroepen opgericht die zich gingen buigen over de ontwikkeling van welzijnsbeoordelingskaders voor de meest gebruikte genetisch gewijzigde diersoorten, evenals een subgroep die zou nagaan welke informatie samen met de genetisch gewijzigde dieren moet worden overgedragen bij hun overbrenging naar andere inrichtingen of plaatsen buiten de EU om te waarborgen dat er passende houderij- en zorgpraktijken worden toegepast die bijdragen tot de optimale toepassing van vermindering en verfijning.

Alle lidstaten en de voornaamste organisaties van belanghebbenden werden verzocht deskundigen aan te wijzen om input te leveren en deel te nemen aan de besprekingen. Dit document is het resultaat van de werkzaamheden van alle bovengenoemde deskundigengroepen, besprekingen met de lidstaten en juridische inbreng van de Commissie. De nationale bevoegde instanties voor de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU hebben dit document tijdens hun vergadering van 25-26 november 2021 goedgekeurd.

**Afwijzing van aansprakelijkheid:**

**De hierna volgende tekst is bedoeld als leidraad voor de lidstaten en anderen op wie Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt (zoals gewijzigd bij Verordening (EU) 2019/1010 van het Europees Parlement en de Raad) van toepassing is om hen te helpen tot een gemeenschappelijke invulling te komen van de bepalingen in de richtlijn en de uitvoering ervan te vergemakkelijken. Alle toelichtingen moeten worden gelezen in samenhang met deze Richtlijn 2010/63/EU en met Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie. Met de inhoud van dit document worden geen bijkomende verplichtingen opgelegd naast de verplichtingen die zijn opgenomen in de richtlijn.**

**Alleen het Hof van Justitie van de Europese Unie kan een juridisch bindende interpretatie van het EU-recht geven.**

# INHOUDSOPGAVE

<b>INLEIDING</b>	<b>7</b>
<b>DEEL 1: ADMINISTRATIEVE PROCEDURES MET BETREKKING TOT GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN</b>	<b>9</b>
1. ACHTERGROND	9
2. RECHTSKADER	10
3. ACTIVITEITEN DIE ONDER DE DEFINITIE VAN EEN PROCEDURE VALLEN EN WAARVOOR EEN PROJECTVERGUNNING VEREIST IS	11
4. STROOMSCHEMA IN VERBAND MET DE VEREISTEN VOOR EEN PROJECTVERGUNNING VOOR HET SCHEPPEN EN IN STAND HOUDEN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE LIJNEN	20
STROOMSCHEMA IN VERBAND MET DE VEREISTEN VOOR EEN PROJECTVERGUNNING VOOR HET SCHEPPEN EN IN STAND HOUDEN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE LIJNEN	21
5. SOORTEN PROJECTEN EN VERGUNNINGSPROCEDURES	22
6. BELANGRIJKSTE ELEMENTEN IN EEN PROJECTAANVRAAG VOOR PROJECTEVALUATIE	24
7. WIJZIGINGEN VAN PROJECTVERGUNNINGEN	24
<b>DEEL 2: DE DRIE V'S BIJ HET SCHEPPEN, FOKKEN EN IN STAND HOUDEN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN</b>	<b>26</b>
1. BESCHIKBAARHEID VAN BESTAANDE LIJNEN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN	26
2. KEUZE VAN METHODEN VOOR HET SCHEPPEN VAN NIEUWE LIJNEN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN	28
3. VERFIJNING IN PROCEDURES MET KNAAGDIEREN (MUIZEN EN RATTEN)	29
<i>Superovulatie</i>	29
<i>Vasectomie</i>	29
<i>Embryotransfer</i>	30
<i>Inductie en onderdrukking van genactiviteit</i>	30
4. GENETISCHE KARAKTERISERING	30
5. WELZIJSBEOORDELING	33
6. FOKKEN, VERZORGEN EN IN STAND HOUDEN, EN HET BEHEER VAN OVERSCHOT	34
<i>Overschot tot een minimum terugdringen</i>	34
<i>Evenwicht tussen verfijning en vermindering</i>	37
<i>Cryopreservatie</i>	38
<b>DEEL 3: WELZIJSBEOORDELINGSSYSTEMEN VOOR DE MEEST VOORKOMENDE GENETISCH GEWIJZIGDE SOORTEN</b>	<b>39</b>
1. INLEIDING	39
2. ALGEMENE OVERWEGINGEN	39
3. DEEL A VAN HET MODEL VOOR DE WELZIJSBEOORDELING VOOR ALLE SOORTEN EN TIJDSTIPPEN	43
4. DEEL B VAN HET MODEL VOOR DE WELZIJSBEOORDELING VOOR SPECIFIEKE SOORTEN	45
<i>Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde knaagdieren</i>	45
Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van knaagdieren	46

Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van pasgeboren dieren totdat zij zijn gespeend	48
<i>Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde vissen (beenvissen, Teleostei)</i>	50
Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van vissen	52
Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van larvale vormen	55
Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van geslachtsrijpe, volwassen vormen	55
<i>Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde boerderij- of minivarkens</i>	56
Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van boerderij- of minivarkens	57
Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van pasgeboren dieren	59
<i>Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde kippen</i>	60
Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van kippen	61
<b>DEEL 4: OVERDRACHT VAN INFORMATIE OVER HET WELZIJN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN</b>	<b>64</b>
1. GRONDBEGINSELEN	64
2. DEEL C – MODEL VOOR DE VERZORGINGS- EN HOUDERIJVOORSCHRIFTEN BIJ OVERDRACHT VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN	66
<b>DEEL 5: RAPPORTAGE VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN</b>	<b>68</b>
1. ALGEMEEN RECHTSKADER	68
2. STROOMSCHEMA VAN DE VEREISTEN VOOR STATISTISCHE EN UITVOERINGSRAPPORTAGE VOOR DE SCHEPPING, DE INSTANDHOUDING EN HET GEBRUIK VAN GENETISCH GEWIJZIGDE DIEREN	68
3.1. JAARLIJKSE STATISTISCHE RAPPORTAGE	71
<i>Wettelijke voorschriften met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren en jaarlijkse statistische rapportagevereisten</i>	71
<i>Rapportage van dieren die worden gebruikt voor het scheppen van genetisch gewijzigde lijnen</i>	71
<i>Rapportage van dieren die worden gebruikt voor de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen</i>	72
<i>Rapportage van dieren die tussen procedures, projecten, inrichtingen en/of lidstaten worden verplaatst</i>	72
3.2. UITVOERINGSVERSLAG OM DE VIJF JAAR	78
<i>Wettelijke voorschriften voor de lidstaten met betrekking tot de uitvoeringsverslagen inzake genetische gewijzigde dieren</i>	78
<i>Dieren die worden gefokt, gedood en niet gebruikt</i>	78
<i>Weefselbemonstering</i>	79
<b>AANHANGSELS</b>	<b>84</b>
AANHANGSEL I: VOORBEELDEN VAN DATABANKEN VAN GENETISCH GEWIJZIGDE LIJNEN	84
AANHANGSEL II: PROJECTAANVRAAG EN -EVALUATIE VOOR DE SCHEPPING EN INSTANDHOUDING VAN GENETISCH GEWIJZIGDE LIJNEN	85
<i>Inleiding</i>	85

<i>Deel A: voorbeelden ter illustratie van de essentiële informatie die vereist is in een projectaanvraag inzake genetisch gewijzigde dieren</i>	85
<i>Het projectvoorstel</i>	85
<i>De niet-technische samenvatting van het project</i>	86
<i>Lijst van in artikel 37, lid 1, punt c), en bijlage VI bedoelde elementen</i>	86
<i>Deel B: voorbeeld ter illustratie van de evaluatie van voorstellen voor projecten met genetisch gewijzigde dieren</i>	97
AANHANGSEL III: BIBLIOGRAFIE	110
AANHANGSEL IV: VERKLARENDE WOORDENLIJST	112



## Inleiding

In 2017 maakten genetisch gewijzigde dieren bijna een derde (2,59 miljoen) uit van alle dieren die in de EU voor wetenschappelijk onderzoek en tests werden gebruikt<sup>1</sup>. De meest gemelde genetisch gewijzigde diersoorten waren muizen en zebrovissen, hoewel ook aanzienlijke aantallen klauwkikkers, konijnen en ratten werden gemeld, alsook kleinere aantallen andere soorten zoals cavia's, honden, varkens, schapen, huishoenders en andere vissoorten. Van de zebrovissen die in onderzoek en tests werden gebruikt, was 64 % genetisch gewijzigd, van de muizen 38 %.

In artikel 1 juncto de artikelen 3 en 17 van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt, hierna “de richtlijn” genoemd, wordt het scheppen en in stand houden van een genetisch gewijzigd dier als een wetenschappelijke “procedure” beschouwd, als de geboorte of het uit het ei breken bij het dier evenveel, of meer, pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap. Bijgevolg vallen niet alleen dieren die rechtstreeks voor onderzoek en tests worden gebruikt, maar ook dieren die nodig zijn voor het scheppen van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen en dieren die worden gebruikt voor het in stand houden (fokken) van bestaande genetisch gewijzigde lijnen met een pathologisch fenotype, onder de definitie van een procedure. In 2017 ging het, naast de genetisch gewijzigde dieren die voor onderzoek en tests werden gebruikt, om bijna 1,3 miljoen dieren die voor de schepping en de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen werden gebruikt<sup>2</sup>. Als gevolg van programma's voor het scheppen en fokken van genetisch gewijzigde dieren om te zorgen voor voldoende beschikbaarheid van de vereiste genetisch gewijzigde lijnen werden bovendien 6,1 miljoen dieren gedood zonder dat ze in een procedure werden gebruikt<sup>3</sup>.

Daarom is het belangrijk dat aandacht wordt besteed aan de technieken voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren en aan de specifieke eigenschappen die worden overdragen als gevolg van de genetische modificatie, teneinde de beginselen van de drie V's toe te passen bij het scheppen, fokken, gebruiken en verzorgen van deze dieren. Om tot een gemeenschappelijk begrip van de vereisten van de richtlijn te komen, werden daarnaast verdere richtsnoeren nodig geacht voor de respectieve administratieve procedures en rapportageverplichtingen die voortvloeien uit de richtlijn en het bijbehorende Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie.

Deel 1 van deze richtsnoeren bevat het rechtskader en de formele verplichtingen uit hoofde van de richtlijn en biedt informatie over de belangrijkste elementen die met het oog op de aanvraag en evaluatie van projecten geformuleerd en nader toegelicht moeten worden om de naleving ervan te vergemakkelijken.

In deel 2 wordt ingegaan op de toepassing van de drie V's binnen activiteiten en procedures in verband met het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen, die zorgvuldig

<sup>1</sup> Europese Commissie, [Statistisch verslag 2019, werkdokument van de diensten van de Commissie, SWD\(2020\) 10 final](#), (2020).

<sup>2</sup> Europese Commissie, [Werkdocument van de diensten van de Commissie SWD\(2017\) 353 final/2](#), (2017).

<sup>3</sup> Europese Commissie, [Verslag over de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU, werkdokument van de diensten van de Commissie, SWD\(2020\) 15 final](#), (2020).

moeten worden bestudeerd door fokkers, gebruikers, projectbeoordelaars en inspecteurs, waarbij enkele algemene beginselen worden voorgesteld.

De delen 3 en 4 van deze richtsnoeren hebben betrekking op het welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde lijnen dat nodig is om de effecten van de genetische wijziging eenvoudiger te kunnen vaststellen teneinde:

- de genetisch gewijzigde lijn te kunnen indelen naargelang de lijn een pathologisch of een niet-pathologisch fenotype heeft;
- instrumenten te verstrekken voor de monitoring van de gezondheid en het welzijn van de genetisch gewijzigde dieren;
- passende verzorging en huisvesting te faciliteren die afgestemd zijn op de behoeften van de lijn;
- de nodige informatie over verzorging en welzijn van de genetisch gewijzigde dieren te verstrekken wanneer de dieren naar een andere inrichting worden overgebracht.

Er zijn een aantal modellen ontwikkeld om praktische en nuttige richtsnoeren te bieden op de volgende gebieden:

- **in deel A van het model voor de welzijnsbeoordeling voor alle soorten en tijdstippen** wordt de relevante informatie vermeld, zoals de beschrijving en naam van de lijn, de genetische wijziging, beoordelingsgegevens (datum, beoordelaar), en wordt de definitieve aan de lijn toegekende verwachte ernstgraad vermeld;
- **deel B van het model voor de welzijnsbeoordeling voor specifieke soorten** bevat bijzonderheden over elementen en bevindingen die specifiek zijn voor de beoordeelde soort;
- **deel C — Model voor de verzorgings- en houderijvoorschriften bij overdracht van genetisch gewijzigde dieren** is gebaseerd op de bevindingen van de welzijnsbeoordeling en biedt informatie over welzijnskwesties die zich kunnen voordoen met de lijn, specifieke huisvestings- en verzorgingsbehoeften, en/of suggesties voor verfijningsstrategieën.

Deze drie documenten vormen samen de noodzakelijke informatie die moet worden overgedragen als genetisch gewijzigde dieren binnen de inrichting of naar andere inrichtingen worden overgebracht.

Tot slot wordt in deel 5 toelichting gegeven bij de wettelijke rapportageverplichtingen met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren tijdens de schepping en instandhouding van lijnen en worden verdere richtsnoeren gegeven voor de naleving van de vereisten inzake de jaarlijkse statistische rapportage en het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag.

# Deel 1: administratieve procedures met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren

## 1. Achtergrond

Sinds 2011 zijn een aantal deskundigenwerkgroepen bijeengekomen om na te gaan hoe in het kader van de richtlijn met genetisch gewijzigde dieren moet worden omgegaan. De resultaten van deze deskundigenwerkgroepen hebben geleid tot de goedkeuring van een werkdokument inzake genetisch gewijzigde dieren<sup>4</sup>, en tot de goedkeuring van Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU van de Commissie waarin onder meer de behandeling van genetisch gewijzigde dieren in het kader van de statistische rapportage nader wordt beschreven.

Op basis van de tekst van de richtlijn is ervoor gekozen om de bestendige pathologische genetisch gewijzigde dierlijnen te scheiden van de lijnen die als niet-pathologisch worden beschouwd. De belangrijkste reden hiervoor was dat de noodzaak voor een specifieke projectvergunning en de bijbehorende administratieve last werd weggenomen voor niet-pathologische lijnen waarvoor het niet waarschijnlijk was dat er een risico op pijn, lijden, angst of blijvende schade zou ontstaan zoals bepaald in de definitie van een “procedure” in artikel 3, punt 1. In dit verband is het echter belangrijk op te merken dat, ongeacht of voor een activiteit een expliciete *projectvergunning* is vereist, alle voor wetenschappelijk gebruik gefokte dieren binnen het toepassingsgebied van de richtlijn vallen en bijgevolg uitsluitend kunnen worden gefokt door erkende inrichtingen die aan de voorschriften van de wetgeving voldoen.

In de praktijk heeft de scheiding tussen pathologische en niet-pathologische lijnen problemen veroorzaakt voor zowel de autoriteiten als de exploitanten, en geleid tot inconsequente praktijken met betrekking tot de vraag of een lijn al dan niet als pathologisch wordt beschouwd, de criteria voor de besluitvorming en de daaropvolgende rapportage door de lidstaten. Bovendien is door de verschillende benaderingen van projectvergunningen voor de schepping van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen (variërend van een vergunning voor één lijn tot projecten die meerdere genetisch gewijzigde lijnen bestrijken) geen gelijk speelveld ontstaan voor de exploitanten, een van de belangrijkste doelstellingen van de richtlijn. Deze kwesties kwamen zowel aan de orde in het evaluatieverslag over de richtlijn dat in 2017 werd gepubliceerd<sup>5</sup> als in het eerste EU-verslag over de uitvoering van de richtlijn dat in 2020 werd gepubliceerd<sup>3</sup>. De nationale contactpunten van de lidstaten waren van mening dat meer duidelijkheid en richtsnoeren nuttig zouden zijn. In Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie, ter vervanging van Besluit 2012/707/EU, werd duidelijkere en nauwkeurigere informatie verstrekt.

In dit eerste deel van de richtsnoeren met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren worden de belangrijkste beginselen en kernelementen in verband met de aanvraag, evaluatie en vergunning

<sup>4</sup> Nationale bevoegde instanties voor de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt, [Werkdocument over genetisch gewijzigde dieren](#), (2013).

<sup>5</sup> Europese Commissie, [Verslag in overeenstemming met artikel 58 van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt](#), (2017).

van projecten die betrekking hebben op de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren besproken.

## 2. Rechtskader

De schepping, de instandhouding en het gebruik van genetisch gewijzigde dieren in de Unie vallen binnen de werkingssfeer van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt. Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie bevat nadere instructies voor de praktische uitvoering.

Zoals hierboven beschreven, vallen alle dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt, ongeacht of het om genetisch gewijzigde (pathologische of niet-pathologische) of conventionele/"wild type"-dieren betreft, onder de richtlijn. Fokkers van dieren moeten over een vergunning beschikken en hun activiteiten uitvoeren in overeenstemming met de richtlijn. Het toezicht wordt uitgeoefend door autoriteiten die verplicht zijn om regelmatig inspecties uit te voeren bij fokkers, leveranciers en gebruikers van dieren. Activiteiten die onder de definitie van een "procedure" vallen, kunnen uitsluitend worden ondernomen in het kader van een toegelaten project. Een vergunning voor een project kan uitsluitend worden verleend op basis van een gunstige projectevaluatie, uitgevoerd door een bevoegde instantie. De projectevaluatie moet ervoor zorgen dat het beginsel van de drie V's wordt nageleefd en dat de autoriteit ervan overtuigd is dat de schade aan de dieren wordt gerechtvaardigd door de verwachte baten, rekening houdend met ethische overwegingen.

Om te bepalen welke activiteiten binnen het toepassingsgebied van een procedure vallen en bijgevolg een projectvergunning vereisen, omvat artikel 3, punt 1, van de richtlijn in de definitie van een "procedure" elke handeling die tot doel heeft of kan leiden tot **de geboorte of het uit het ei breken van een dier, dan wel het scheppen of in stand houden van een genetisch gewijzigde dierlijn die bij het dier evenveel, of meer, pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap.**

Zoals vermeld in Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie omvatten "genetisch gewijzigde dieren" voor de toepassing van de richtlijn, genetisch gemodificeerde (transgene, knock-out- en anderszins genetisch gewijzigde) dieren en dieren met spontane of geïnduceerde mutaties in de zin van artikel 3, punt 1.

Voorts bepaalt artikel 3, punt 1, de minimumdrempel inzake pijn, lijden, angst en blijvende schade waarboven de activiteit als "een procedure" wordt beschouwd en alleen uitgevoerd mag worden in het kader van een project (artikel 12, lid 2).

Artikel 17 bepaalt dat "een procedure wordt geacht te zijn afgelopen wanneer er voor die procedure geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, **in het geval van nieuwe genetisch gemodificeerde dierenvariëteiten, wanneer voor de nakomelingen niet evenveel, of meer, pijn, lijden, angst of blijvende schade** wordt waargenomen of verwacht als bij het inbrengen van een naald.

In Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie wordt verder beschreven dat een nieuwe lijn van genetisch gewijzigde dieren als “bestendig” wordt aangemerkt wanneer de genetische verandering op een stabiele wijze wordt doorgegeven (overgeërfd) gedurende ten minste twee generaties, en er een dierenwelzijnsbeoordeling is afgerond. Er is wetenschappelijke input vereist over de waarschijnlijke effecten van de genetische verandering en wanneer dergelijke veranderingen zich waarschijnlijk zullen manifesteren. Aan de hand van informatie/bewijzen die tijdens een welzijnsbeoordeling en andere wetenschappelijke input zijn verkregen, wordt bepaald of de lijn als pathologisch of niet-pathologisch wordt aangemerkt bij het fokken en het in stand houden als een bestendige lijn. In het kader van de instandhouding van bestendige lijnen bepaalt artikel 1, lid 2, onder meer **dat de uitschakeling van pijn, lijden, angst of blijvende schade door de efficiënte toepassing van anesthesie, analgesie of een andere methode niet tot gevolg heeft** dat het gebruik van een dier in een procedure buiten het toepassingsgebied van deze richtlijn valt. **Voor het fokken van genetisch gewijzigde lijnen die een risico inhouden op de ontwikkeling van een pathologisch fenotype** (bv. infectierisico als gevolg van een verzwakt immuunsysteem), **ongeacht de toegepaste verfijning** (barrière/bioveilige omstandigheden), **is een projectvergunning vereist** in overeenstemming met artikel 1, lid 2, aangezien de toepassing van de verfijning **het risico niet volledig elimineert**, maar het risico in die context slechts vermindert (de positieve ingrepen die nodig zijn om het risico te verminderen).

Evenzo kan voor verwachte leeftijdsafhankelijke aandoeningen worden voorspeld dat zich later nadelige effecten zullen voordoen als de dieren ouder worden, bv. hoge bloeddruk. Als dieren worden gedood om het ontstaan van schadelijke effecten te voorkomen, neemt dit het risico voor de lijn niet weg, alleen voor het individuele dier dat is gedood. Daarom moeten deze lijnen als **pathologisch worden aangemerkt** en is voor het houden van deze lijnen een projectvergunning vereist.

In zeldzame gevallen kan uit levensduurstudies blijken dat er zich bij deze leeftijdsstoornissen geen schade of vermindering van de levensduur voordoet. Indien dit wordt aangetoond, kan de lijn als niet-pathologisch worden heringedeeld en is vanaf dat moment geen vergunning voor het project vereist.

Tot slot is het belangrijk te herinneren aan de definitie van een project in artikel 3, punt 2, waarin wordt gesteld dat een “project” **een werkprogramma met een welomschreven wetenschappelijk doel is** dat één of meer procedures omvat (zie aanhangsel II voor voorbeelden).

### **3. Activiteiten die onder de definitie van een procedure vallen en waarvoor een projectvergunning vereist is**

Overeenkomstig de bovengenoemde bepalingen van de richtlijn wordt het **scheppen** van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn in beginsel als een procedure beschouwd, aangezien de gevolgen van de schepping van de nieuwe lijn niet altijd volledig van tevoren kunnen worden vastgesteld.

Er geldt een uitzondering bij de kruising/terugkruising van twee lijnen met een niet-pathologisch fenotype en waar redelijkerwijs kan worden verwacht dat de nieuwe lijn niet tot een pathologisch fenotype zal leiden; in dat geval is het mogelijk dat een projectvergunning niet vereist is. Dit besluit moet duidelijk worden geregistreerd in de inrichting waar de dieren worden gefokt. Wanneer nakomelingen worden geproduceerd, moet aan de hand van een welzijnsbeoordeling, zoals beschreven in deel 3, worden bevestigd dat de lijn geen pathologisch fenotype vertoont. Al deze dieren vallen nog steeds onder de bescherming en het toezicht van de inrichting als dieren die voor wetenschappelijk gebruik worden gefokt.

De **instandhouding** van een bestendige genetisch gewijzigde lijn wordt beschouwd als een procedure als de lijn een pathologisch fenotype draagt.

Daarnaast worden tijdens het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen een aantal specifieke activiteiten uitgevoerd zoals superovulatie, vasectomie, embryotransfer en weefselbemonstering met het oog op genotypering. De meeste daarvan vallen onder de definitie van een “procedure” in de zin van artikel 3, punt 1, van de richtlijn.

Voor weefselbemonstering moet de minst invasieve methode worden gebruikt die een voldoende kwalitatief en kwantitatief DNA-monster oplevert om een goede genotyperingsprocedure uit te voeren. Indien mogelijk moet deze methode tegelijkertijd een zeer betrouwbare identificatie/merking opleveren. Wanneer overtollig weefsel van een identificatie-/merkingsmethode wordt gebruikt, wordt dit niet als een procedure beschouwd (artikel 1, lid 5, punt e)).

De onderstaande tabel geeft een overzicht van de meest voorkomende activiteiten en wanneer daarvoor een projectvergunning is vereist.

Activiteit	Opmerking	Projectvergunning vereist	Geen projectvergunning vereist
Schepping van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn	Genetische manipulatie van gameten of embryo's	Voor het scheppen van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn is een projectvergunning vereist.	
	Kruising van bestaande lijnen	Er is een <b>projectvergunning vereist</b> voor de schepping van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn door de <i>kruising tussen verschillende lijnen om een nieuwe genetisch gewijzigde lijn te scheppen</i> <b>waar het fenotype van de nieuwe lijn niet prospectief als niet-pathologisch kan worden bepaald, zoals vermeld in Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie (bijlage III, deel B, afdeling B – Gegevensinputcategorieën – punt 8) en hiervan moet opgave worden gedaan conform de statistische rapportageverplichtingen inzake het gebruik van dieren.</b>	Bij het scheppen van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn door kruising/terugkruising <b>van twee lijnen met een niet-pathologisch fenotype en waar redelijkerwijs kan worden verwacht dat de nieuwe lijn niet tot een pathologisch fenotype zal leiden</b> , is het mogelijk dat een projectvergunning niet vereist is. <b>In deze gevallen moet de bevoegde instantie de besluitvormingsbeginselen van de inrichting in aanmerking nemen en ervan overtuigd zijn dat er procedures bestaan die ervoor zorgen dat, indien deze voorspellingen onjuist blijken, de projectvergunning snel kan worden verkregen.</b>
	Mutagenese	Chemische blootstelling of bestraling wordt gebruikt om in kiemcellen willekeurige mutaties te induceren, die in veel gevallen schadelijk zijn voor nakomelingen. Voor de blootstelling van ouders en nakomelingen is een projectvergunning vereist.	

	Spontane schadelijke mutatie	Mutaties ontstaan spontaan bij alle dieren die worden gefokt en leiden in sommige gevallen tot pathologische kenmerken die van wetenschappelijk belang zijn. Wanneer dergelijke dieren voor een wetenschappelijk doel worden gehouden, gefokt, geleverd en/of gebruikt, is een projectvergunning vereist.	Schadelijke mutaties bij afzonderlijke dieren / nesten, die echter onmiddellijk worden gedood en waarbij het pathologische kenmerk wordt geïdentificeerd, en waarmee geen ouders meer worden gefokt.  Sommige ingeteelde wildtype-lijnen vertonen incidenteel pathologische kenmerken, zoals hydrocefalus bij B6-muizen. Deze lijnen worden niet in stand gehouden om hydrocefalus te onderzoeken. Alle dieren waarbij een dergelijk kenmerk wordt geïdentificeerd, worden onmiddellijk gedood. Er zullen inspanningen worden geleverd om de incidentie van het kenmerk door selectief fokken te verminderen.
<b>Instandhouding van een bestaande genetisch gewijzigde lijn</b>	<b>Fenotype van de lijn</b>	Fokken van een bestaande lijn met pathologisch fenotype  Lijnen met een welzijnsbeoordeling (zoals beschreven in deel 3) waaruit blijkt dat de lijn een risico op een pathologisch fenotype heeft boven de drempelwaarde van pijn, lijden, angst of blijvende schade gedurende het leven van het dier.  Voor het fokken van pathologische lijnen door heterozygoten x heterozygoten of heterozygoten x wild-type te kruisen om het risico op de expressie van een pathologisch fenotype te verminderen of te elimineren, is een vergunning vereist.	Fokken van een bestaande lijn met niet-pathologisch fenotype.  Lijnen met een welzijnsbeoordeling (zoals beschreven in deel 3) waaruit blijkt dat er wellicht geen schade zal worden berokkend boven de drempelwaarde van pijn, lijden, angst of blijvende schade gedurende het leven van het dier, bv. sommige groene fluorescerende eiwitlijnen (GFP-lijnen).  Indien dieren van een genetisch gewijzigde lijn met een niet-pathologisch fenotype (d.w.z. niet gefokt in het kader van een projectvergunning) nadelige effecten ondervinden, moet de welzijnsbeoordeling worden herzien en geactualiseerd, en moet de lijn worden heringedeeld als pathologisch. Aan de bevoegde instantie moet onmiddellijk toestemming worden



			gevraagd voor de instandhouding van de lijn en het fokken van verdere dieren.
Immunologisch h verzwakte lijnen	<b>Immunologisch verzwakte</b> lijnen zijn als gevolg van de genetische wijziging bijzonder gevoelig voor infecties en moeten in speciale huisvestingsvoorzieningen worden gehouden, zoals een specifieke bioveilige omgeving om ze te beschermen, en kunnen ook aanvullende zorg nodig hebben die verder gaat dan die welke voor conventionele dieren nodig is om hun gezondheid en welzijn te behouden. Dergelijke lijnen worden gedefinieerd als lijnen met een pathologisch fenotype waarvoor een projectvergunning vereist is; Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie, bijlage III, deel B, afdeling A – Algemene Bepalingen, punt 11. 7.		
Leeftijdsgebon den lijnen met een pathologisch fenotype	Pathologische fenotypen omvatten <b>leeftijdsgebonden genetisch gewijzigde lijnen</b> ; in Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie is in bijlage III, deel B, punt 11. 7 bepaald: “[...] <i>Het gaat daarbij onder andere om dieren die [...] aanvullende zorg [nodig hebben] die verder gaat dan die welke voor conventionele dieren nodig is om hun gezondheid en welzijn te behouden.</i> ”		
Cre/lox-lijnen	Voor het fokken <b>van gekruiste cre/lox-lijnen</b> voor het tot uitdrukking brengen van een pathologisch fenotype is een projectvergunning vereist.		Voor het fokken van niet-gekruiste cre/lox-lijnen waar geen pathologisch fenotype tot uitdrukking komt, is geen projectvergunning vereist.

	Geïnduceerde of onderdrukte lijnen	Er is een inductiemiddel toegediend om een pathologisch fenotype te “activeren”.	Lijnen waarin de genetische wijziging van het fenotype alleen actief is bij behandeling met inductiemiddelen (bv. tamoxifen, tetracycline enz.): deze worden geacht geen pathologisch fenotype te hebben tot het tijdstip van de inductie en zijn vóór de inductie niet onderworpen aan een vergunning.
		<p>Voor lijnen waarin een genetisch gebaseerd fenotype wordt onderdrukt door toediening van suppressiemiddelen (zoals tetracycline) terwijl zij geen pathologisch fenotype vertonen omdat er een specifieke maatregel moet worden genomen om de lijn niet-pathologisch te houden, is wel een projectvergunning vereist.</p> <p>In Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie is in bijlage III, deel B, afdeling A, punt 11. 7 bepaald: “[...] <i>Het gaat daarbij onder andere om dieren die [...] aanvullende zorg [nodig hebben] die verder gaat dan die welke voor conventionele dieren nodig is om hun gezondheid en welzijn te behouden.</i>”</p>	
	Reporterlijnen		De aanwezigheid van reporter genen in het genoom en moleculen afkomstig van deze genen leidt niet per se tot een pathologisch fenotype. Daarom is het fokken van lijnen waarin alleen reporter genen zijn geïntroduceerd, niet onderworpen aan een vergunning.

<b>Genetische karakterisering</b>	Invasieve weefselbemonstering	Weefselbemonstering door middel van oorknippen wanneer dit niet wordt uitgevoerd met het oog op identificatie/merking, bv. indien een alternatieve identificatiemethode, zoals microchips, wordt gebruikt.	Overtollig weefsel afkomstig van het identificeren/merken van een dier (bv. oormerken <b>maar met uitzondering van</b> het toppen van de staart of het knippen van vinnen).
		Weefselbemonstering door het toppen van de staart of het knippen van vinnen (geen geschikte methoden voor de identificatie/merking van individuen).	
		Weefselbemonstering door knippen van falanx / teenkootje wanneer deze methode niet voor identificatie/merking wordt gebruikt.	Overtollig weefsel afkomstig van het identificeren/merken door verwijdering van één enkele distale falanx, wanneer dit nog steeds als de meest verfijnde methode wordt beschouwd om afzonderlijke dieren, zoals pasgeboren knaagdieren, te identificeren.
		Bloedmonster (geen geschikte methode voor de identificatie/merking van individuen).	
			Weefsel verkregen door middel van een invasieve methode, maar pas nadat het overlijden is bevestigd (post mortem).
	Niet-invasief		Onder de drempelwaarde voor pijn, lijden, angst of blijvende schade (zoals gedefinieerd in artikel 3, punt 1), methoden zoals het gebruik van feces, het nemen van haarmonsters.

			Observatiemethoden bv. vachtkleur, uv-fluorescerend licht.
<b>Vasectomie</b>		Chirurgische ingreep bij mannetjes zodat ze gebruikt kunnen worden om schijnzwangerschappen op te wekken. Alleen voor de chirurgische procedure is een vergunning vereist (latere natuurlijke paring is geen procedure, zie hieronder).	
<b>Superovulatie</b>		Injecties die nodig zijn voor wetenschappelijke doeleinden en die de drempelwaarde van pijn, lijden, angst of blijvende schade overschrijden, en derhalve procedures zijn.	
<b>Embryotransfer</b>		Vereist chirurgische implantatie of de inbrenging van een buis via de cervix (niet-chirurgische embryotransfer) die de drempelwaarde van pijn, lijden, angst of blijvende schade overschrijden, en derhalve procedures zijn.	
<b>Natuurlijke paring</b>		Natuurlijke paring waarbij <b>een van beide ouders</b> een pathologisch fenotype heeft.  Als de kruising bijvoorbeeld een pathologisch fenotype genereert, is voor cre/lox-kruisingen een projectvergunning vereist voor de geboorte of het uit het ei komen van nakomelingen (artikel 3, punt 1).	Voor de kruising/terugkruising van twee lijnen met een niet-pathologisch fenotype en waar redelijkerwijs kan worden verwacht dat de nieuwe lijn niet tot een pathologisch fenotype zal leiden, is een projectvergunning niet vereist.  Als dieren die een vasectomie hebben ondergaan, na hun herstel gebruikt worden om te paren en een schijnzwangerschap te veroorzaken, is er geen sprake van een procedure.

<b>Rederivatie</b>		Wanneer rederivatie <b>uitsluitend voor wetenschappelijke doeleinden</b> wordt gebruikt, bv. wanneer de immunoreacties kunnen worden beïnvloed door de aanwezige ziekteverwekker(s), maar de gezondheid van de dieren niet in het gedrang komt.	Indien uitgevoerd ten behoeve van de <b>gezondheid en/of het welzijn</b> van de kolonie, d.w.z. wanneer het nodig is dat de ziekteverwekker wordt verwijderd omdat de dieren ziek worden indien dit niet gebeurt, bv. de MHV-infectie (Mouse Hepatitis Virus) bij muizen.
<b>Cryopreservatie</b>		Technieken waarbij voor wetenschappelijke doeleinden levende dieren worden gebruikt voor het cryopreserveren wanneer deze technieken worden uitgevoerd met het oog op de instandhouding van een lijn.	Indien uitgevoerd met het oog op de instandhouding van een lijn door het gebruik van ingevroren sperma van gedode dieren.

Of er voor individuele procedures al dan niet een projectvergunning is vereist, wordt vastgesteld op basis van het doel van de activiteit, d.w.z. aan de hand van de vraag of de activiteit wordt uitgevoerd voor wetenschappelijke doeleinden dan wel voor het welzijn van dat dier/of zijn kolonie. Hieronder volgt een nadere toelichting aan de hand van twee voorbeelden:

### Rederivatie

Microben kunnen pathogeen of commensaal zijn. Veel rederivatietoepassingen zijn vereist om commensalen te verwijderen die van invloed kunnen zijn op de wetenschap. Wanneer de rederivatie niet ten goede komt aan het welzijn van het dier/de dieren en wordt toegepast om dieren/kolonies van passende kwaliteit en consistentie te creëren of te houden met het oog op goede wetenschap, dan gebeurt dit voor wetenschappelijke doeleinden en moet de rederivatie voldoen aan de vereisten van de richtlijn, met inbegrip van de projectvergunning, de opleiding van betrokken personen enz. Indien de aangewezen dierenarts echter vaststelt dat het in het belang is van het welzijn van het dier of de kolonie waarop de rederivatie wordt toegepast, om ziekteverwekkers uit de kolonie te verwijderen, dan valt die verwijdering niet onder de definitie van een “procedure” en is er krachtens de richtlijn geen projectvergunning vereist. De verwijdering wordt dan uitgevoerd volgens de desbetreffende veterinaire wetgeving in de lidstaat. De besluitvorming, de gebruikte aantallen enz. moeten worden vermeld in de veterinaire gezondheidsdossiers (kader voor opleiding en training, module 24 24.15), en de procedures die worden uitgevoerd door dierenartsen of personen die zij hiertoe wettelijk kunnen machtigen (indien lokaal relevant). Dit biedt enige flexibiliteit, maar het besluit moet naar behoren worden gedocumenteerd en verdedigbaar zijn in het kader van de respectieve wetgeving.

### Cryopreservatie

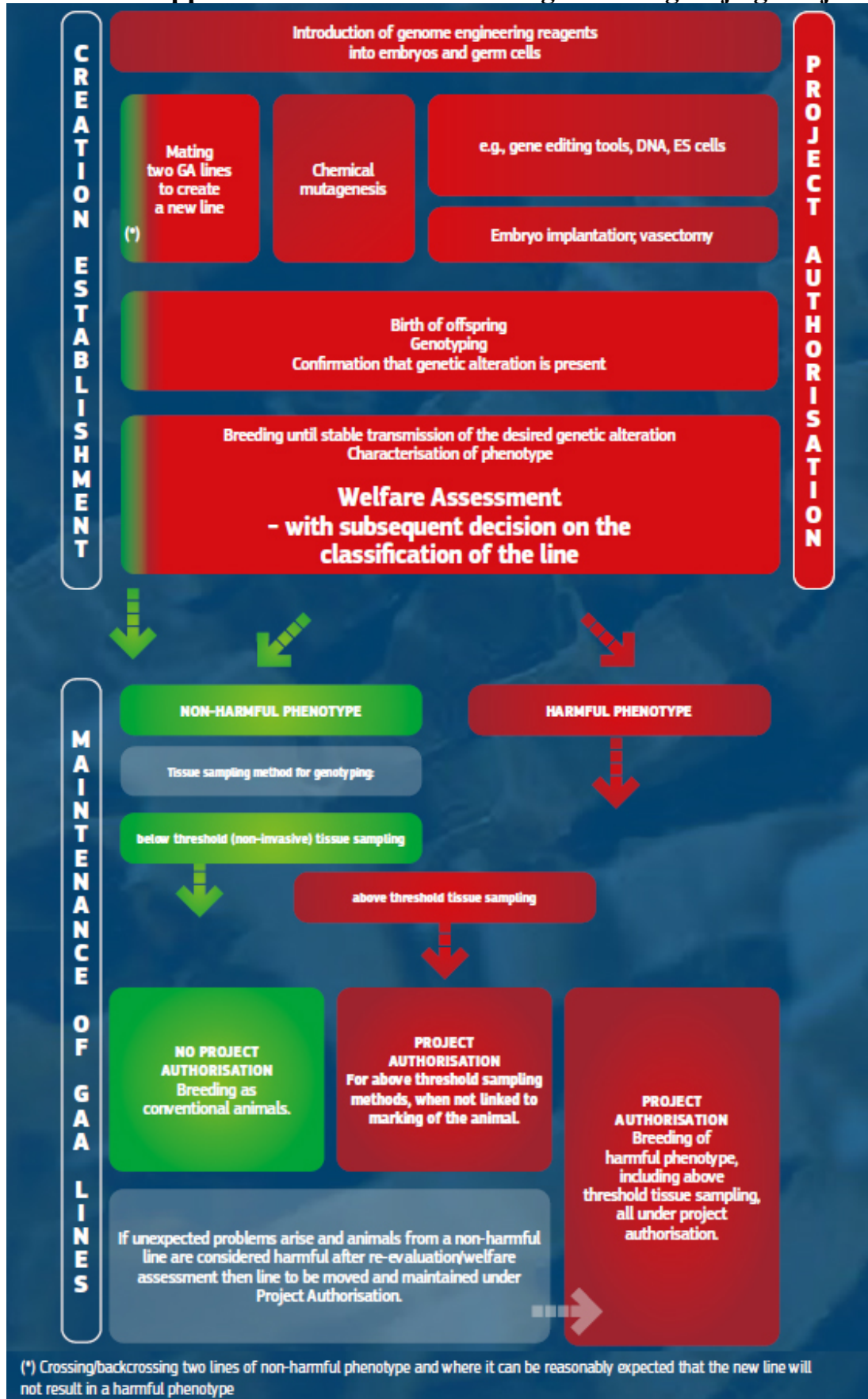
Cryopreservatie (superovulatie met pick-up van eicel of embryo na het doden, of de spermatoogst met het invriezen van gameten of embryo's, herstel van een specifieke genetisch gewijzigde lijn) wordt uitgevoerd met het oog op het behoud van de wetenschappelijke integriteit en geschiktheid van een genetisch gewijzigde lijn, wanneer bijvoorbeeld in de kolonie vastgestelde genetische drift moet worden voorkomen. Voor het gebruik van levende dieren voor cryopreservatie voor wetenschappelijke doeleinden is een projectvergunning vereist. Alleen wanneer cryopreservatie wordt uitgevoerd met ingevroren sperma van gedode dieren, valt het buiten de definitie van een “procedure”.

## **4. Stroomschema in verband met de vereisten voor een projectvergunning voor het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen**

Het stroomschema op de volgende pagina bevat de belangrijkste stappen van de schepping tot de bestemming en instandhouding van een genetisch gewijzigde lijn en de bijbehorende vereisten voor een projectvergunning; dit zijn de met rood aangegeven gebieden. Dit schema kan als poster worden gedownload op

[https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pubs\\_posters\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_posters_en.htm)

## Stroomschema in verband met de vereisten voor een projectvergunning voor het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen



## 5. Soorten projecten en vergunningsprocedures

Om de doelstelling van de richtlijn, namelijk een gelijk speelveld voor exploitanten in de hele Unie, te verwezenlijken, is een uniforme aanpak nodig voor het verlenen van projectvergunningen voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen. Ondanks inspanningen om een uniforme toepassing van de richtlijn te vergemakkelijken, is uit de feedback van gebruikers uit 2016 over de herziening van artikel 58 van de richtlijn<sup>5</sup> gebleken dat er aanzienlijke verschillen werden vastgesteld in de vergunningsprocedures voor projecten met betrekking tot de productie van genetisch gewijzigde dieren, gaande van een vereiste om voor elke nieuwe genetisch gewijzigde lijn een afzonderlijke projectaanvraag in te dienen tot de grotere flexibiliteit die wordt geboden door meerdere generieke projecten waarbij meerdere lijnen kunnen worden gecreëerd en in stand gehouden in het kader van één enkele projectvergunning, wat leidt tot verschillen in kosten en vertragingen bij het uitvoeren van onderzoek. In de reacties op de evaluatie werd ook gewezen op de moeilijkheden bij het verplaatsen van genetisch gewijzigde dieren tussen lidstaten ten gevolge van de uiteenlopende vergunningsbenaderingen en verschillende indelingen van de lijnen (pathologische tegenover niet-pathologische lijn), waardoor het dierenwelzijn in gevaar kan worden gebracht.

Sinds de vaststelling van de richtlijn zijn de genbewerkingstechnieken sterk geëvolueerd. Een van de belangrijkste veranderingen als gevolg van de invoering van CRISPR-cas9-technieken betreft de toegankelijkheid van de nieuwe technologieën en de snelheid van het creatieproces. Als gevolg van deze technologie kunnen meerdere lijnen worden gecreëerd in een fractie van de tijd die nodig was voor vroegere methoden en kunnen geleidelijk selecties worden gemaakt van de lijnen die voor verdere ontwikkeling moeten worden voortgezet. Deze ontwikkeling, die zich sinds de vaststelling van de richtlijn heeft voorgedaan, heeft een nog grotere impact op de desbetreffende administratieve procedures in lidstaten/regio's waar een project is goedgekeurd voor één enkele lijn in plaats van voor meerdere lijnen binnen een bepaald ziekte-/onderzoeksdomein.

In dit kader is het belangrijk eraan te herinneren dat een project gedefinieerd wordt als “een werkprogramma met een welomschreven wetenschappelijk doel”. De richtlijn vereist voorts dat de projectevaluatie wordt uitgevoerd met een mate van uitvoerigheid die past bij het soort project, waarbij een realistische inschatting van de schade en verwachte baten mogelijk is en de toepassing van de drie V's in het project wordt gewaarborgd.

In artikel 38 wordt aangedrongen op de nodige flexibiliteit met betrekking tot de mate van uitvoerigheid die vereist is voor de projectevaluatie, en artikel 40, lid 4, en in sommige gevallen artikel 42, bieden mogelijkheden om de administratieve procedures te vereenvoudigen. De schepping van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn verschilt van de instandhouding van een bestendige genetisch gewijzigde dierlijn voor productiedoeleinden. Er moet echter worden erkend dat projecten vaak zowel de schepping als de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen omvatten.

Een projectaanvraag moet derhalve voldoende uitvoerig zijn zodat de projectevaluatie overeenkomstig de verplichtingen van de richtlijn kan worden uitgevoerd en tegelijkertijd de



administratieve lasten voor zowel de exploitanten als de autoriteiten tot een minimum kunnen worden beperkt.

Wijzigingen van projecten voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen worden behandeld onder punt 7.

Activiteiten waarvoor een projectvergunning vereist is, zijn onder meer:

- het scheppen van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen (uitzondering: indien een nieuwe genetisch gewijzigde lijn wordt gecreëerd door kruising/terugkruising van **twee lijnen met een niet-pathologisch fenotype en** indien **redelijkerwijs kan worden verwacht** dat de nieuwe lijn **niet tot een pathologisch fenotype zal leiden**, is het mogelijk dat een projectvergunning niet vereist is);
- technieken die nodig zijn voor het scheppen van nieuwe lijnen, bv. vasectomie, superovulatie;
- de instandhouding van bestendige genetisch gewijzigde lijnen met een pathologisch fenotype;
- weefselbemonstering (ongeacht het fenotype van de lijn wanneer voor de genotypering gebruik wordt gemaakt van weefselbemonsteringsmethoden die de drempelwaarde overschrijden).

Het is dan ook belangrijk op te merken dat zelfs indien voor de instandhouding van een lijn met een niet-pathologisch fenotype geen projectvergunning is vereist, de inrichting waarschijnlijk wel een projectvergunning nodig heeft voor procedures zoals invasieve weefselbemonstering met het oog op genotypering.

### **Aanbevelingen**

Om de administratieve praktijken te harmoniseren en te vereenvoudigen en op die manier de administratieve lasten voor zowel de wetenschappelijke wereld als de autoriteiten te verminderen, en om ervoor te zorgen dat de drie V's worden nageleefd, moet aandacht worden besteed aan:

- het overstappen van projecten die alleen de schepping van afzonderlijke lijnen omvatten naar projecten **die lijnen scheppen voor een welomschreven ziekte domein of een ander gericht projectthema**;
- het combineren van alle activiteiten in verband met genetisch gewijzigde dieren, d.w.z. het scheppen, fokken, in stand houden en andere procedures in één enkel project;
- de mate van uitvoerigheid in de projectaanvraag:
  - enerzijds ervoor zorgen dat alle elementen die nodig zijn om te beoordelen of het project in overeenstemming is met de drie V's en om het dierenwelzijn te verbeteren (met inbegrip van verzorgings- en huisvestingsvereisten) voldoende worden behandeld;
  - anderzijds de gevraagde informatie beperken tot elementen die relevant zijn voor de schade-batenanalyse (met inbegrip van het voorgestelde hergebruik);

- het gebruik van meerdere generieke projecten als bedoeld in artikel 40, lid 4, van de richtlijn, bijvoorbeeld vergunningen voor meerdere lijnen die nodig zijn om de pathogenese van motorneuronziekte te onderzoeken, waarbij fenotypen vergelijkbaar zullen zijn, of anderszins kunnen worden beschreven in een geïntegreerd werkprogramma.

## **6. Belangrijkste elementen in een projectaanvraag voor projectevaluatie**

Bij de projectevaluatie moet worden gewaarborgd dat de vereisten van de richtlijn worden nageleefd, evenals alle vereiste elementen van bijlage VI bij de richtlijn en die betreffende de toepassing van de drie V's met betrekking tot deze activiteiten. Deel 3 van dit document bevat een aantal aanbevelingen over de wijze waarop de drie V's kunnen worden toegepast in het kader van de verschillende activiteiten in verband met de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen.

Het is belangrijk dat een projectaanvraag voldoende uitvoerig is zodat kan worden beoordeeld of die elementen naar behoren in aanmerking zijn genomen om een evaluatie mogelijk te maken.

Deel A van aanhangsel II bevat voorbeelden van het soort informatie dat vereist is voor een projectaanvraag voor het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde dieren, en deel B van aanhangsel II geeft een overzicht van de problemen en overwegingen die in aanmerking moeten worden genomen tijdens de projectevaluatie van een dergelijke aanvraag.

## **7. Wijzigingen van projectvergunningen**

In artikel 44 van de richtlijn is bepaald dat een wijziging van de projectvergunning alleen vereist is als een wijziging van het project negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn. Dergelijke wijzigingen van een project kunnen leiden tot een toename van het aantal dieren, de introductie van nieuwe soorten of een hogere ernstgraad dan oorspronkelijk werd toegelaten.

In het kader van projecten voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen zal de productie van nieuwe lijnen waarschijnlijk leiden tot een toename van de vereiste aantallen, en kan het uitvoeren van welzijnsbeoordelingen de ernstgraad wijzigen. Indien nieuwe lijnen voorspeld kunnen worden op het tijdstip van de aanvraag, kunnen deze als groep worden opgenomen, bv. lijnen die neuronen labelen of lijnen die tekenen van spierdystrofie vertonen. Veel projecten zullen echter tijdens hun levensduur moeten worden gewijzigd, bv. een toename van de vraag of veranderingen in/aanvullende wetenschappelijke richting.

Een ander voorbeeld is de noodzaak dat een proces snel inspeelt op wijzigingen als er bijkomende welzijnsproblemen zijn vastgesteld die verder gaan dan die welke aanvankelijk werden aangewezen. Twee voorbeelden:

1. Pathologische lijnen met een hogere ernstgraad dan verwacht (bv. ingeschat als lichte ernstgraad, maar in de praktijk wordt vastgesteld dat de dieren een matige ernst ervaren), of

2. Onverwachte schadelijke effecten in een lijn die oorspronkelijk als niet-pathologisch werd aangemerkt, met als gevolg dat de lijn in een projectvergunning moet worden opgenomen.

De structuur en de inhoud van de projectaanvragen en de voor de vergunningsprocedure vereiste uitvoerigheid kunnen een zeer grote invloed hebben op het aantal wijzigingen dat over een periode van vijf jaar nodig kan zijn.

### **Aanbevelingen**

- ☒ Houd rekening met de structuur en de belangrijkste elementen van de aanvraag om het aantal wijzigingen tot een minimum te beperken, met behoud van een voldoende mate van uitvoerigheid zodat de projectevaluatie kan worden uitgevoerd.
- ☒ Beperk de vereiste wijzigingen tot wijzigingen die negatieve gevolgen kunnen hebben voor het welzijn van het dier of tot wijzigingen die vereist zijn om de schadebatenanalyse opnieuw te beoordelen.

## **Deel 2: de drie V's bij het scheppen, fokken en in stand houden van genetisch gewijzigde dieren**

### **Toepassing van de drie V's bij het scheppen, in stand houden en fokken van genetisch gewijzigde dieren**

De drie V's (vervanging, vermindering en verfijning) moeten in alle stadia in aanmerking worden genomen, vanaf het begin van het project tot het scheppen, fokken en leveren van genetisch gewijzigde dierlijnen.

In dit deel 2 van de richtsnoeren wordt gewezen op gebieden waarop specifiek aandacht moet worden besteed aan de toepassing van de drie V's.

### **1. Beschikbaarheid van bestaande lijnen van genetisch gewijzigde dieren**

Er mag geen lijn worden gecreëerd indien deze, of een alternatief waarmee het wetenschappelijk resultaat kan worden bereikt, al beschikbaar is. Er zijn echter enkele problemen die de informatie over en de toegang tot reeds bestaande genetisch gewijzigde dierlijnen kunnen belemmeren.

Er bestaan verschillende gespecialiseerde databanken van bestendige genetisch gewijzigde lijnen. Voorbeelden van bestaande databanken zijn opgenomen in aanhangsel I. Zoals vaak het geval is, worden echter voortdurend nieuwe databanken opgezet, terwijl oudere databanken worden verwijderd of niet worden onderhouden. Bovendien is er geen geconsolideerd platform waarop verschillende organisaties of onderzoeksinstituten informatie over bestaande lijnen voor soorten en stammen kunnen delen.

Genetisch gewijzigde diermodellen worden niet noodzakelijkerwijs gedeeld tussen individuele onderzoeksgroepen binnen instellingen, en nog minder extern met onderzoeksgroepen buiten de eigen inrichting en/of het eigen land of via vrij toegankelijke databanken.

Er kunnen problemen zijn op het gebied van vertrouwelijkheid en/of intellectuele eigendom (IP), die de toegang tot technologieën en nieuwe genetisch gewijzigde dierlijnen vertragen of, in sommige gevallen, verhinderen.

De gezondheidstoestand is mogelijk niet geschikt. In dit geval moet worden besloten of het beter is door middel van rederivatie dieren met een geschikte pathogeen vrije status te verkrijgen of om de lijn opnieuw te scheppen.

#### **Aanbevelingen:**

- ☐ Om onnodige duplicatie te voorkomen, moeten de beschikbare databanken systematisch worden doorzocht op bestaande genetisch gewijzigde lijnen voordat besloten wordt een nieuwe lijn te scheppen. Duplicatie van een lijn zou uitsluitend mogen plaatsvinden indien hiervoor een specifieke wetenschappelijke rechtvaardiging is, er geen beschikbaarheid is of er een probleem is met de toegang tot een bestaande lijn.

- ☐ Het is belangrijk de status van de databanken die worden gebruikt voor het zoeken naar bestaande lijnen (ongeacht of deze voortdurend worden onderhouden) regelmatig opnieuw te bekijken en grondig te zoeken naar eventuele nieuwe databanken die inmiddels zijn ontwikkeld.
- ☐ Een gemeenschappelijk platform voor het delen van informatie over soorten en stammen van bestaande lijnen zou wederzijds voordelig zijn om de kosten van duplicatie (tijd en middelen) te verminderen en bij te dragen tot vermindering en verfijning.
- ☐ Onderzoeksgroepen en instanties voor dierenwelzijn zouden het interne gebruik van genetisch gewijzigde dieren moeten evalueren om ervoor te zorgen dat er binnen de inrichting geen duplicatie plaatsvindt. Wanneer algemeen gebruikte modellen door individuele groepen worden gehouden, maakt rationalisering tot één fokkolonie een betere planning mogelijk voor een efficiënter gebruik van dieren, vermindering van het overschot en meer controle over kwesties als genetische drift.
- ☐ Onderzoeksgroepen zouden de externe aanvoer van genetisch gewijzigde dieren moeten overwegen om duplicatie te vermijden die nodig is voor het fokken en beheren van genetisch gewijzigde kolonies, en die inherent is aan meerdere verspreide kolonies. Consolidatie van lijnen zoals die met specifieke recombinasen, conditionele allelen of reportergenen zou de efficiëntie verbeteren en het overschot op nationaal en internationaal niveau verminderen.
- ☐ De gebruikersgemeenschap zou zich moeten inspannen om de open uitwisseling van informatie over en de levering van bestaande genetisch gewijzigde lijnen tot wederzijds voordeel te verbeteren en de databanken waartoe zij toegang heeft, bij te werken.
- ☐ Er zou gebruik moeten worden gemaakt van standaarddescriptoren op basis van overeengekomen terminologie voor nomenclatuur (<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>) en welzijn (bv. [www.mousewelfareterms.org](http://www.mousewelfareterms.org)) voor het registreren van informatie over genetisch gewijzigde lijnen en bij het zoeken naar bestaande genetisch gewijzigde lijnen.
- ☐ Repositories (databanken en cryo-opslagfaciliteiten) zouden informatie moeten bevatten over fenotype, mutatiedesign, welzijns-, huisvestings- en verzorgingsbehoeften. Het zou de consistentie in Europa ten goede komen als er informatie wordt opgenomen over de vraag of de lijn aangemerkt is als met pathologisch of niet-pathologisch fenotype.
- ☐ De gebruikersgemeenschap op het gebied van genetisch gewijzigde dieren zou moeten overwegen strategieën te ontwikkelen om kwesties in verband met vertrouwelijkheid en/of intellectuele eigendom in kaart te brengen en op te lossen om onnodige duplicatie van genetisch gewijzigde lijnen te verminderen.
- ☐ Er zou een gestandaardiseerd informatiepakket moeten zijn dat de dieren vergezelt wanneer zij naar een nieuwe inrichting worden overgebracht (zie deel 4 van deze richtsnoeren).

## **2. Keuze van methoden voor het scheppen van nieuwe lijnen van genetisch gewijzigde dieren**

Er zijn nu een aantal methoden beschikbaar voor het aanmaken van nieuwe lijnen van genetisch gewijzigde dieren. De “traditionele” methoden voor genmanipulatie zijn grotendeels voorbijgestreefd door endonuclease gemedieerde genbewerkingstechnologieën waarvan CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas de belangrijkste is. Naarmate de technieken voor genetische manipulatie evolueren, zullen er onvermijdelijk nieuwe en meer gecontroleerde methoden worden gebruikt. Mozaïcisme, onvoorspelbare wijzigingen op de target-site en de off-targeteffecten blijven mogelijke problemen. Het kan nodig zijn specialisten in te schakelen om deze problemen op te lossen/tot een minimum te beperken. Willekeurige transgenese moet naar behoren worden gemotiveerd vanwege de onvoorspelbare resultaten van niet-gerichte integratie in het coderende of regulerende genoomsysteem. Embryonale stamcellen blijven echter een rol spelen in de aanmaak van nieuwe modellen, wanneer zij gericht zijn op complexe genoomwijzigingen, met name homologe recombinatie van langere delen van het genoom.

De CRISPR-cas9-technologie heeft de schepping van nieuwe genetisch gewijzigde dieren bevorderd en mogelijk gemaakt op een wijze die het voor veel wetenschappers eenvoudiger maakt om een nieuwe lijn te scheppen dan gebruik te maken van de vroegere methoden.

De wetenschappelijke behoefte zal in het algemeen bepalen welke methode zal worden gebruikt. Elke methode biedt verschillende uitdagingen en kansen, zowel voor de wetenschap als voor de toepassing van de drie V's, met name het vereiste aantal dieren. Het aantal dieren wordt ook beïnvloed door de complexiteit van het gewenste model, d.w.z. het aantal gelijktijdige genmanipulaties dat nodig is.

Er moeten systemen zijn voor het valideren van de betrokken genen en de regio's van de invoeging / verwijdering, en de foklijnen moeten altijd traceerbaar zijn met behulp van duidelijke documentatie.

Genotyperingstests moeten specifiek zijn voor de genetische wijziging van de stam (d.w.z. allelspecifiek) en niet voor een gemeenschappelijk transgen zoals CRE, GFP, neo enz., aangezien deze gensequenties gebruikelijk zijn in laboratoriumvoorraden en aan de hand van een generieke analyse niet kan worden vastgesteld of de stammen die ze bevatten, gemengd zijn.

### **Aanbevelingen:**

- ☐ Er zou moeten worden nagedacht over een manier om de precieze manipulatie met de gekozen methode voor het aanmaken van nieuwe lijnen te optimaliseren en ongewenste moleculaire gebeurtenissen te screenen en controleren. Indien er ter plaatse geen specialistische kennis op het gebied van genetische kwaliteitscontrole beschikbaar is om een doeltreffende en doelmatige productie te waarborgen, zou moeten worden overwogen deze aan anderen uit te besteden.

- ☐ Er zou zorgvuldig moeten worden bevestigd dat het betrokken gen aan de wetenschappelijke behoeften voldoet.
- ☐ Ongeacht de gekozen methode is een kwaliteitsborgingscomponent nodig om de gewenste mutatiestructuur te waarborgen tijdens het scheppen van nieuwe lijnen en ervoor te zorgen dat het fokprogramma deze naar verwachting handhaaft. Kwaliteitsborgingscomponenten zouden moeten worden beschouwd als een onderdeel van het behoud van de genetische integriteit van het geproduceerde model.
- ☐ Uitbreiding van het aanbod van dieren van lijnen die niet bestendig en/of goed gekenmerkt zijn, zou moeten worden vermeden.
- ☐ Om een goede genetische integriteit te waarborgen, zou gebruik moeten worden gemaakt van sequencing, robuuste genotyperingsprotocollen waarmee de lijn kan worden gevalideerd.

### **3. Verfijning in procedures met knaagdieren (muizen en ratten)**

Er zijn tal van mogelijkheden om verfijning toe te passen tijdens gebruikelijke procedures die worden uitgevoerd voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen. Aangezien het effect van deze elementen varieert (bv. afhankelijk van leeftijd of lijn), is het belangrijk dat keuzes met betrekking tot de onderstaande elementen per geval worden besproken en overwogen.

#### Superovulatie

- De achtergrondstam kan van invloed zijn op het aantal geproduceerde nakomelingen en dus op het aantal gebruikte dieren. De belangrijkste factor is echter de wetenschappelijke eis voor de laatste achtergrondstam waarop de genetische modificatie is vereist, teneinde de productie te optimaliseren en terugkruising te voorkomen.
- De productie van oöcyten en embryo's wordt ook beïnvloed door de leeftijd en het gewicht van de wijfjes. Voor superovulatie geeft een onvolgroeid wijfje meer oöcyten en verdient dit de voorkeur bij het genereren van oöcyten voor in-vitrofertilisatie (ivf) of embryo's voor cryopreservatie. Daarom worden jonge wijfjes die nog niet geovuleerd hebben, aanbevolen. De meeste eenheden zouden geen jonge (kleine) wijfjes met grote potentieel overkrachtige mannetjes koppelen.
- Voor cryopreservatie moet het gebruik van sperma van gedode mannetjes worden overwogen voordat embryo's worden gecreëerd of ingevroren. Het is een verfijndere methode en leidt tot een vermindering van het aantal dieren dat nodig is voor archivering.
- Er moet worden gezorgd voor een passend en zo verfijnd mogelijk hormoonstimuleringsregime, met inbegrip van een optimaal tijdschema/interval, een optimale leeftijd en een optimaal gewicht van de wijfjes, rekening houdend met zowel de wetenschappelijke behoeften als de behoeften op het gebied van dierenwelzijn.

#### Vasectomie

- Overwegingen voor het gebruik van steriele mannetjes:

- de totale paringprestaties van genetisch steriele (potentieel verminderde) dieren versus gevasectomiseerde dieren en
- het effect op de aantallen indien een fokkolonie in stand moet worden gehouden om de genetisch steriele mannetjes te leveren (wat kan leiden tot een toename van het aantal overtollige dieren, tenzij deze voor andere doeleinden worden gebruikt);
- indien gevasectomiseerde mannetjes moeten worden voorbereid, moet het recentste wetenschappelijke bewijs worden geraadpleegd om na te gaan of de scrotale incisie de voorkeur verdient boven de abdominale benadering;
- met het oog op efficiënte paring en de productie van schijnzwangerschappen bij wijfjes moeten de prestaties van de mannetjes worden gemonitord en zo nodig worden vervangen om kracht en doeltreffendheid te waarborgen.

#### Embryotransfer

- De keuze van een achtergrondstam heeft gevolgen voor het moederschap-/fokvermogen;
- de mannetjes die worden gebruikt om de schijnzwangerschap te induceren, moeten op leeftijd en gewicht worden geselecteerd om negatieve gevolgen voor het welzijn van de wijfjes te voorkomen;
- gebruik van chirurgische versus niet-chirurgische embryotransfer: hoewel niet-chirurgische embryotransfer de meest verfijnde methode lijkt te zijn, is deze momenteel niet geschikt voor embryo's in een zeer vroeg stadium (0,5 dagen na de bevruchting), waar de slaagkansen slecht zijn. Deze methode moet echter in aanmerking worden genomen voor latere pre-implantatiestadia van het embryo;
- chirurgische benadering: het is mogelijk om embryo's te implanteren via één enkele of een bilaterale incisie. De mogelijkheden moeten worden overwogen met advies van de aangewezen dierenarts, rekening houdend met de verwachte successen van elke aanpak en de verschillende gevolgen voor het welzijn.

#### Inductie en onderdrukking van genactiviteit

- Het feit dat het fenotype in induceerbare mutantenvlak voor het beoogde gebruik kan worden geactiveerd en niet gedurende het hele leven van het dier aanwezig is, kan bijdragen tot verfijning door de periode waarin de dieren pijn, lijden, angst of blijvende schade ondervinden, te verkorten. Er moet echter rekening mee worden gehouden dat stoffen die worden toegediend voor de onderdrukking en inductie van genexpressie (bv. tamoxifen) zelf ongewenste bijwerkingen kunnen veroorzaken, zoals gewichtsverlies;
- Wanneer een dier een pathologisch fenotype vertoont, moet het begin van een schadelijke eigenschap onder controle worden gehouden met een duidelijk omschreven verzorgingspakket en/of strikt toegepaste humane eindpunten.

## **4. Genetische karakterisering**

Genetische karakterisering is nodig om het gewenste genotype van het dier te bevestigen. Het is van essentieel belang dat karakterisering niet alleen plaatsvindt bij de schepping, maar ook om het vereiste genotype te behouden bij het fokken en de instandhouding. Er moet op worden toegezien dat accidentele kruising, met name in open kooien, wordt voorkomen. Daar is



onbedoelde besmetting mogelijk. Een goede opleiding van de onderzoekers, met inbegrip van goede behandelingspraktijken en het gebruik van veilige kooien, nauwkeurige selectie en registratie van de dieren, en de invoering van een degelijk informatiesysteem voor fokbeheer, moeten “accidentele” fokkerij tot een minimum beperken en het belang van genetische kwaliteit/drift benadrukken.

Genetische drift zal zich mettertijd voordoen. Regelmatige verversing tot een genetisch gecontroleerde voorgeschiedenis of vanuit gecryopreserveerde voorraden is de beste praktijk bij het beheer van alle genetisch gewijzigde lijnen. Bij het intern of met een leverancier scheppen van een lijn moet ervoor worden gezorgd dat er met een welomschreven achtergrond wordt gewerkt. Bij het ontvangen van dieren of het werken met dieren met een langere voorgeschiedenis (legacy-lijn) moeten deze grondig worden geanalyseerd voordat ze worden gebruikt om wetenschappelijke gegevens te genereren.

Het gebruik van panels voor genetische integriteit om de integriteit van de achtergrondstam te beoordelen, is vanuit het oogpunt van wetenschappelijke gegevens essentieel om verwarrende factoren te voorkomen. Deze zorg voor de genetische kwaliteit moet worden gerapporteerd en, in voorkomend geval, gepubliceerd en in de overdrachtsdocumentatie worden opgenomen om de ontvangende instellingen of organisaties te verzekeren van de kwaliteitscontrole die op een bepaald genetisch gewijzigd diermodel wordt toegepast.

Genetische karakterisering kan op een aantal verschillende manieren worden uitgevoerd, variërend van niet-invasieve methoden (bv. observatie) tot zeer invasieve methoden waarbij gebruik wordt gemaakt van weefselbemonstering (bv. knippen van staart of falanx (teenkootje)). De meest verfijnde methode moet worden gebruikt in overeenstemming met een nauwkeurig wetenschappelijk resultaat.

Monsters voor de verificatie van het genotype kunnen worden genomen van dieren die in de kolonie sterven of worden gedood, bijvoorbeeld overtollige dieren.

In sommige gevallen, zelfs indien invasief, kan het weefsel als bijproduct worden verkregen bij het merken van een dier, bv. oorknippen. Volgens de richtlijn valt het merken van het dier met het oog op identificatie niet onder de definitie van een procedure en is voor de uitvoering hiervan geen projectvergunning vereist.

Het EU-verslag over de uitvoering van de richtlijn bevatte voor het eerst enige informatie over de methoden die worden gebruikt voor de genetische karakterisering van genetisch gewijzigde dieren. Bij gebrek aan gegevens van voldoende kwaliteit over andere soorten kon echter alleen informatie over muizen worden geanalyseerd. Uit de resultaten bleek dat in 2017 meer dan de helft van de weefselmonsters werd verkregen als overschotmateriaal uit de identificatie/merking van het dier (89 % van het oorknippen en 11 % van het falanx-knippen). Een aanzienlijk deel van de dieren werd onderworpen aan invasieve bemonstering in het kader van een projectvergunning, waarbij het niet om overtollig weefsel van het merken ging, en het lijkt erop dat staartbiopsie binnen deze groep een gangbare methode is. Waarschijnlijk kan een groot deel daarvan onmiddellijk worden vervangen door een verfijndere methode.

Het gebruik van niet-invasieve bemonsteringsmethoden (onder de minimumdrempel voor pijn, lijden, angst of blijvende schade waarvoor een projectvergunning vereist is) was goed voor minder dan 2 % van alle bemonstering, waarbij voor het merendeel post-mortemmateriaal werd gebruikt, en in geringe mate gebruik werd gemaakt van observatie, blootstelling aan specifieke verlichtingsomstandigheden of haarbemonstering.

Wat de invasieve methoden voor weefselbemonstering in het kader van projectvergunningen betreft, waren staartbiopsie, gevolgd door oorbiopsie, het meest gebruikelijk (respectievelijk 65 % en 20 %). Distale-falanxbiopsie vertegenwoordigde echter nog steeds 13 % van de invasieve methoden. Het is belangrijk op te merken dat sommige lidstaten het gebruik van distale-falanxbiopsie voor weefselbemonstering niet langer toestaan of sterk ontmoedigen. Wanneer genotypering in de eerste levensweek moet worden uitgevoerd, kunnen amputatie van de distale falanx en het toppen van de staart de enige mogelijke methoden voor muizen zijn. Bij onvolwassen muizen zijn de pijnroutes niet volledig ontwikkeld. Er moet specifiek worden gemotiveerd waarom de gekozen methoden het meest verfijnd zijn.

Voor elke technologie geldt dat hoe meer ontwikkeld en gangbaar deze wordt, des te efficiënter deze kan worden toegepast. Snellere resultaten zijn essentieel voor een beter beheer van kolonies en een betere planning van studies, en om ervoor te zorgen dat de dieren doeltreffend worden gebruikt op een optimale leeftijd.

Andere punten die overwogen moeten worden om de effecten op het dier te verminderen en te verfijnen, zijn onder meer:

- het gebruik van fluorescerende markers (niet-invasief) om aan te geven wanneer het gen aanwezig is;
- het gebruik van weefsel van dieren die tijdens het quarantaine- of rederivatieproces zijn gedood;
- de bemonstering van dieren van geruimde fokkerijen;
- het afgenomen weefsel is zo klein mogelijk;
- de keuze van de analysemethode:
  - o een grotere nauwkeurigheid maakt een kleinere steekproefomvang mogelijk;
  - o met een betrouwbare methode is het niet nodig een tweede test/bemonstering te verrichten;
- een deel van het weefsel bijhouden voor het geval er een herbemonstering/heranalyse nodig is;
- de staartbiopsie, indien nodig, wordt uitgevoerd voordat de ossificatie en innervatie zich in een gevanceerd stadium bevinden (jonge dieren);
- er moet zo nodig gebruik worden gemaakt van lokale en/of algemene anesthesie en/of analgesie om te zorgen voor de meest verfijnde methode voor elke weefselbemonsteringsmethode;
- voor zebravissen maakt genotypering van larven het mogelijk dat ongeschikte overtollige dieren worden verwijderd voordat ze zich autonoom voeden;
- sommigen passen verfijning toe door middel van een snelle analyse waardoor de tijd dat de vissen afzonderlijk moeten worden gehuisvest, tot een of twee dagen wordt beperkt.

## **Aanbevelingen:**

- ☐ Waar mogelijk zouden niet-invasieve weefselbemonsteringsmethoden voor genotypering moeten worden gebruikt.
- ☐ Wanneer invasieve methoden nodig zijn, zouden de meest verfijnde (minst ernstige) methoden moeten worden gebruikt. Monsters nemen van staarten kan bijna altijd worden vervangen door een verfijndere methode, en vereist dan ook een grondige motivering om toestemming te verkrijgen.
- ☐ De verplichting om weefselbemonsteringsmethoden te verfijnen zou systematisch moeten worden aangepakt door personen die verantwoordelijk zijn voor kolonies, inrichtingen (bv. door instanties voor dierenwelzijn) en autoriteiten die belast zijn met de projectevaluatie.
- ☐ Wanneer invasieve methoden worden gebruikt voor de identificatie/merking van de dieren (bv. oorkerving/oorponsen), zouden deze overtollige weefsels moeten opleveren voor genotypering.
- ☐ De projectbeoordelaars zouden ervoor moeten zorgen dat het gebruik van invasieve methoden die niet voor het merken worden gebruikt, naar behoren wordt gemotiveerd.
- ☐ Instanties voor dierenwelzijn hebben een rol te spelen bij het verkrijgen en delen van informatie over nieuwe niet-invasieve weefselbemonsteringsmethoden (bv. niet-invasieve oculaire (traan-) monsters) en technieken om invasieve weefselbemonsteringsmethoden te verfijnen.
- ☐ Wanneer invasieve weefselbemonstering wordt toegepast, zou het gebruik van pijnstilling/verdoving moeten worden overwogen (rekening houdend met de mogelijke bijkomende schade als gevolg van de toepassing van de verdoving/pijnstilling).
- ☐ Het uitsluitende gebruik van distale-falanxbiopsie voor weefselbemonstering zou moeten worden stopgezet.
- ☐ Aangezien staartbiopsie, oorbiopsie en verwijdering van een teen of een deel daarvan de meest gebruikte methoden in de EU blijven, zou bij de inspecties systematisch moeten worden nagegaan of de meest verfijnde methoden voor identificatie/merking en weefselbemonstering worden gebruikt.
- ☐ Inrichtingen zouden systemen moeten ontwikkelen die een snelle uitslag van genotyperesultaten waarborgen.
- ☐ Inrichtingen zouden moeten nagaan of de verlening van genotyperingsdiensten binnen hun organisatie dan wel het gebruik van externe professionele genotyperingsdiensten doeltreffender en efficiënter is.

## **5. Welzijnsbeoordeling**

Aan de hand van een uitgebreide welzijnsbeoordeling worden welzijnsproblemen in kaart gebracht die kunnen worden aangepakt door de toepassing van verfijningsstrategieën (of verminderingsstrategieën), met inbegrip van de vaststelling van humane eindpunten.

Een welzijnsbeoordeling geeft informatie over de vraag of er al dan niet aanvullende eisen voor het houden en/of verzorgen nodig zijn. Deze beoordeling helpt ook bij het maken van een

onderscheid tussen pathologische en niet-pathologische lijnen en de indeling van pathologische lijnen volgens ernstgraad in de projectvergunning.

Onverwachte pathologische fenotypen kunnen worden veroorzaakt door de genetische wijziging die op het dier wordt toegepast. Voor een eenmalig effect/gezondheidsprobleem moet worden nagegaan of het al dan niet verband houdt met een genetisch effect als gevolg van de genetische manipulatie. Verdere diagnoses kunnen gerechtvaardigd zijn en de aangewezen dierenarts moet bij deze besprekingen worden betrokken. Herhaalde consistente tekenen die zich in een lijn ontwikkelen, wijzen echter in veel gevallen op een genetische oorsprong. Bovendien kunnen veranderingen in de omgeving ook van invloed zijn op de aard en het begin van klinische symptomen en de toepassing van humane eindpunten.

### **Aanbevelingen:**

- ☐ De aard en het tijdstip van de beoordelingen zouden moeten worden gebaseerd op de verwachte aard en aanvangstijd van de klinische gevolgen van de genmodificatie.
- ☐ Er zou zorgvuldig moeten worden toegezien op alle aspecten van het welzijn van de dieren en de gevolgen voor het welzijn van het dier moeten worden geregistreerd en op passende wijze worden bestreden.
- ☐ Bij de beoordeling zou het mogelijk moeten zijn het geneffect te scheiden van de normale achtergrond-/houderijeffecten, met inbegrip van de voortplantingsprestaties, bv. verliespercentages vóór het spenen.
- ☐ De overeenkomstige achtergrondstam of referentielijn zou moeten worden gebruikt als basisvergelijking om ervoor te zorgen dat fenotypen niet met achtergrondkenmerken worden verward.
- ☐ In geval van verandering van de leefomgeving (met inbegrip van een verandering van inrichting) zouden de welzijnsbeoordelingen moeten worden herhaald.
- ☐ Welzijnsbeoordelingen zouden moeten worden herhaald als er nieuwe aanhoudende tekenen in de lijn worden waargenomen (met inbegrip van een andere leeftijd van de dieren).

Het hoofdstuk over welzijnsbeoordelingssystemen (zie deel 3 van deze richtsnoeren) bevat meer gedetailleerde informatie over het aantal dieren en de klinische parameters die in de welzijnsbeoordeling moeten worden opgenomen, met standaardmodellen die kunnen worden gebruikt om de consistentie te verbeteren.

## **6. Fokken, verzorgen en in stand houden, en het beheer van overschot**

### Overschot tot een minimum terugdringen

In 2017 werden in de EU 12,6 miljoen dieren die voor wetenschappelijke doeleinden waren gefokt, gedood zonder te worden gebruikt. Bijna 49 % daarvan was afkomstig van het scheppen van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen of van de instandhouding van bestaande genetisch gewijzigde lijnen.

Sommige dieren worden specifiek voor hun organen en weefsels gefokt. Op basis van de informatie die momenteel in sommige lidstaten beschikbaar is, vertegenwoordigen deze dieren echter ongeveer 10 % van alle dieren die worden gefokt en gedood zonder in procedures te worden gebruikt. Momenteel is niet bekend welk deel van de dieren die voor hun organen/weefsels worden gefokt, genetisch wordt gewijzigd.

Richtsnoeren voor een optimaal koloniebeheer (bv. een optimaal aantal broedparen/trio's voor de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen, met inbegrip van fokplannen, aantal nesten enz.) dragen ertoe bij dat het aantal dieren tot een minimum beperkt blijft. Verschillende organisaties en lidstaten hebben nuttige richtsnoeren gepubliceerd over manieren waarop overschot tot een minimum kan worden beperkt en de efficiëntie van het fokken van genetisch gewijzigde dieren kan worden verbeterd.

Er zijn zelfbeoordelingsinstrumenten ontwikkeld om de efficiëntie van bepaalde aspecten van het fokken van genetisch gewijzigde dieren te evalueren. Er zijn een aantal gemeenschappelijke punten in de gepubliceerde richtsnoeren die tot doel hebben de efficiëntie van de productie te verbeteren en overschot tot een minimum te beperken.

Voor doeltreffend koloniebeheer moeten een aantal punten in overweging worden genomen die kunnen dienen als maatstaf voor een goede praktijk. Zo onder meer:

- voor elke kolonie een persoon aanwijzen als hoofdbeheerder van die kolonie;
- regelmatige evaluaties van de prestaties en het beheer van elke kolonie afzonderlijk en van alle kolonies in de inrichting;
- de koloniebeheerders opleiding en ondersteuning geven zodat zij beschikken over de nodige vaardigheden en deze up-to-date houden, en hen bijstaan in moeilijke situaties;
- voor elke kolonie specifieke, op de stam gerichte fokprestatie-indicatoren vaststellen en deze regelmatig/voortdurend monitoren;
- een methode bepalen voor de beoordeling van stamspecifieke tendensen, voorkeuren en fenotypen met het oog op de planning en het voorzien in optimale omstandigheden voor die stammen;
- rekening houden met de milieuvoorschriften voor elke stam en zo nodig stamspecifieke aanpassingen aanbrengen;
- nagaan welke de optimale strategie is voor de instandhouding van kolonies, en daarbij de genetische behoeften afwegen tegen praktische beperkingen;
- de optimale controles voor experimentele kruisingen overwegen;
- duplicatie van kolonies voorkomen door deze beschikbaar te stellen in alle onderzoeksgroepen;
- de grootte van de kolonies berekenen op basis van de aantallen die nodig zijn om aan de wetenschappelijke behoeften en de voortplantingsprestaties van de lijn te voldoen. De wetenschappelijke behoeften omvatten leeftijd, gewicht, geslacht en aantallen die in een specifiek tijdschema vereist zijn. Bij de voortplantingsprestaties zal rekening worden gehouden met het paringssucces, de omvang van het nest, de sterftcijfers, het genotype, het voortplantingsleven en de vervangingsstrategie voor fokkers;

- een beoordeling om vast te stellen of overtollige gefokte dieren kunnen worden gebruikt in andere studies of als orgaan-/weefselbron, met name in verband met wildtype-nakomelingen, bv. wildtype-nakomelingen met een geschikte achtergrond kunnen worden gebruikt voor de schepping van cellijnen of voor proefstudies over een ander project. Het is mogelijk dat daarvoor passende vergunningen moeten worden verleend;
- om de wetenschappelijke validiteit te verbeteren, moeten beide geslachten worden gebruikt wanneer het voor de proefresultaten niet vereist is om één enkel geslacht te gebruiken. Dit zal bijgevolg de verspilling van genetisch gewijzigde dieren verminderen.

Het gebruik van conditionele mutanten (bv. cre x lox) en van induceerbare mutanten (bv. door tamoxifen) kan bijdragen tot verfijning. Het feit dat het fenotype in induceerbare mutanten vlak voor het beoogde gebruik kan worden geactiveerd en niet gedurende het hele leven van het dier aanwezig is, kan bijdragen tot verfijning door de periode waarin de dieren pijn, lijden, angst of blijvende schade ondervinden, te verkorten.

Hoe complexer de lijnen worden (bv. dubbele of drievoudige mutaties), hoe lager de waarschijnlijke frequentie van de gewenste genetische combinatie. Dit leidt tot een toename van het aantal dieren met een ongeschikt genotype, waardoor het aantal overtollige dieren toeneemt. Hoewel sommige van deze andere genotypes vaak zullen worden gebruikt als controle voor het hoofdzakelijk onderzochte multigenotype, kan in deze gevallen zelfs bij geoptimaliseerd fokken een overschot worden verwacht. Het vermijden van lage Mendeliaanse ratio's voor de te onderzoeken dieren moet waar mogelijk in het fokprogramma worden geïntegreerd. Er moet aandacht worden besteed aan de fixatie van allelen, bijvoorbeeld door een allel homozygoot te maken, terwijl het andere heterozygoot blijft om de Mendeliaanse ratio terug te brengen van 1 op 16 naar 1 op 4 onderzoeksdieren.

Tot slot draagt het bewaren van ingevroren gameten en/of embryo's bij tot een vermindering van het aantal dieren dat wordt gefokt om lijnen in stand te houden die op dat ogenblik niet in procedures worden gebruikt. Daardoor kunnen onderzoekers ook gemakkelijker genetisch gewijzigde lijnen met elkaar delen, waardoor verdere mogelijkheden tot vermindering worden geboden.

### **Aanbevelingen:**

- ☐ In elke inrichting zou een persoon moeten worden aangewezen die ervoor zorgt dat de drie V's doeltreffend worden toegepast in het kader van de productie en het fokken van genetisch gewijzigde dieren.
- ☐ Er zou een coördinator voor genetisch gewijzigde dieren moeten worden aangesteld, met name in grotere inrichtingen met verschillende onafhankelijke wetenschappelijke programma's en/of dierenvoorzieningen, die het overzicht bewaart van de vraag naar en de beschikbaarheid van genetisch gewijzigde lijnen in de hele inrichting.
- ☐ Koloniebeheersystemen zouden een betere afstemming van het aanbod op de vraag mogelijk moeten maken en faciliteren.

- ☐ De efficiëntie van het fokken en produceren van genetisch gewijzigde lijnen/stammen zou kunnen worden gemonitord en verbeterd aan de hand van de ontwikkeling van interne benchmarks en het gebruik van regelmatige, periodieke zelfevaluaties binnen en tussen inrichtingen, bijvoorbeeld door instanties voor dierenwelzijn.
- ☐ Er zou regelmatig toezicht moeten worden gehouden op de genetische kwaliteit met het oog op de vroegtijdige opsporing van bijvoorbeeld genetische drift/accidentele besmetting en er zouden oplossingsstrategieën voorhanden moeten zijn.
- ☐ Bij het scheppen van nieuwe lijnen zouden passende achtergrondstammen moeten worden gebruikt om de noodzaak van terugkruising zoveel mogelijk te vermijden.
- ☐ Nakomelingen van genetisch gewijzigde ouders die als wild-type gegenotypeerd zijn, zouden in aanmerking moeten worden genomen voor gebruik/hergebruik voor andere doeleinden, bijvoorbeeld voor de levering van bloed/weefsels of voor educatieve of opleidingsdoeleinden om het “overschot” te verminderen.
- ☐ Wanneer complexe modellen met meerdere genetische wijzigingen nodig zijn, zou veel aandacht en planning moeten gaan naar fokstrategieën waarbij rekening wordt gehouden met de vermenging van verschillende genetische achtergronden, controles en fokaantallen.
- ☐ Tijdens processen van een inrichting of wetenschappelijke programma’s waarbij genetisch gewijzigde dieren worden geproduceerd, zouden de genetisch gewijzigde lijnen routinematig moeten worden opgeslagen als ingevroren gameten en/of embryo’s wanneer ze niet vereist zijn voor lopende experimenten.
- ☐ Genetisch gewijzigde lijnen zouden tussen inrichtingen moeten worden uitgewisseld met behulp van gameten en/of embryo’s in plaats van levende dieren.
- ☐ Er zou moeten worden overwogen gebruik te maken van commerciële fokkers, aangezien schaalvoordelen tot een algehele vermindering van de kolonies kunnen leiden.

#### Evenwicht tussen verfijning en vermindering

Door de instandhouding van pathologische homozygote lijnen zullen er minder dieren nodig zijn om aan de vraag te voldoen. Met pathologische lijnen die in heterozygote (het) kolonies in stand worden gehouden, zullen er minder dieren schade ondervinden, maar zullen er meer dieren nodig zijn om de kolonie in stand te houden. Het fokken van pathologische lijnen door het x het-kruising of het x wildtype-kruising vermindert het risico op de expressie van een pathologisch fenotype, maar daardoor zal wel het aantal dieren toenemen. Voor dergelijke kruisingen is nog steeds een vergunning vereist. Over het algemeen wordt ervan uitgegaan dat het gebruik van meer dieren met minder schade ethischer is.

#### **Aanbevelingen:**

- ☐ Wanneer alleen bij homozygote dieren welzijnsproblemen worden vastgesteld, zou het gebruik van heterozygote dieren voor fokdoeleinden moeten worden overwogen. Deze strategie kan het aantal overtollige dieren doen toenemen, maar zal het algemene lijden verminderen.

- ☐ Bij het fokken van complexe kruisingen van genetisch gewijzigde dieren zou de productiemethode zorgvuldig moeten worden gepland om het overschot tot een minimum te beperken.
- ☐ Beide geslachten zouden moeten worden gebruikt om de wetenschappelijke validiteit te verbeteren en verspilling in te perken, wanneer één enkel geslacht niet vereist is voor de proefresultaten.

### Cryopreservatie

Cryopreservatie heeft verschillende voordelen bij de exploitatie, bescherming en uitwisseling van genetisch gewijzigde lijnen.

Dit moet worden overwogen tijdens periodes waarin er geen dieren nodig zijn.

Cryopreservatie vergemakkelijkt en bevordert ook de uitwisseling van lijnen op een welzijnsvriendelijke manier omdat niet de levende dieren, maar wel de gameten of embryo's worden vervoerd. Deze techniek kan ook worden gebruikt om de gezondheidstoestand van een kolonie en, tijdens het actieve gebruik van de lijn, de genetische integriteit te verbeteren. Genetische drift valt stil door cryopreservatie. Er zijn geen dieren nodig voor de instandhouding van de lijn en bijgevolg draagt cryopreservatie bij tot een algehele vermindering van het potentiële overschot. Er zullen echter nog enkele dieren nodig zijn om de lijn te herstellen.

Cryopreservatie moet integraal deel uitmaken van het rampenplan van de faciliteit waar de genetisch gewijzigde dieren worden gefokt, voor het geval bijvoorbeeld een voorziening door brand wordt vernield of er in de kolonie een ernstige ziekte uitbreekt. In dergelijke gevallen moet voldoende ingevroren materiaal beschikbaar zijn om een nieuwe kolonie tot stand te brengen.

### **Aanbevelingen:**

- ☐ Alle partijen die betrokken zijn bij de productie en het fokken van genetisch gewijzigde dieren zouden toegang moeten hebben tot cryopreservatiediensten.
- ☐ De aantallen dieren en de welzijnskosten van de instandhouding van kolonies zouden moeten worden afgewogen tegen cryopreservatie.
- ☐ Fokkolonies en strategieën voor cryopreservatie zouden regelmatig opnieuw moeten worden bekeken als stammen niet langer nodig zijn.
- ☐ Ter ondersteuning van de verfijning en vermindering zou moeten worden overwogen bij voorkeur sperma in te vriezen in plaats van embryo's.
- ☐ Cryopreservatie zou moeten worden gebruikt om genetisch gewijzigde diermodellen eenvoudiger te verspreiden en te delen.



## **Deel 3: welzijnsbeoordelingssystemen voor de meest voorkomende genetisch gewijzigde soorten**

### **1. Inleiding**

Het antwoord op de vraag of er sprake is van een lijn met een niet-pathologisch of een pathologisch fenotype heeft rechtstreekse gevolgen voor de wettelijke voorschriften inzake het fokken en in stand houden van die lijn en de daarmee samenhangende rapportageverplichtingen. Deze worden nader besproken in de delen 1 en 5 van deze richtsnoeren.

Voor elke nieuw gecreëerde genetisch gewijzigde lijn is een welzijnsbeoordeling vereist, zodat alle nodige informatie voor de passende verzorging en huisvesting voor die lijn kan worden verstrekt. Bovendien vormt die beoordeling de basis voor een overdrachtsdocument, zodat alle kritieke informatie samen met de dieren wordt doorgegeven aan een nieuwe inrichting of een nieuwe wetenschappelijke groep binnen een inrichting. In combinatie met de voorspelde geneffecten op het dier (bijvoorbeeld verhoogde gevoeligheid voor diabetes of verhoogd infectierisico) is het tot slot mogelijk te bepalen of een bestendige genetisch gewijzigde lijn in eerste instantie kan worden ingedeeld als een lijn met een niet-pathologisch of een pathologisch fenotype.

Het succes van een welzijnsbeoordelingsschema hangt af van de selectie van indicatoren die

- gemakkelijk en op betrouwbare wijze herkenbaar zijn;
- doeltreffend zijn in het bieden van goede welzijnsmaatregelen;
- relevant zijn voor de soorten en stammen (indien van toepassing), het ontwikkelingsstadium en het wetenschappelijk onderzoek;
- praktisch uitvoerbaar zijn en het dier niet overmatig storen, en
- zich lenen voor consistente meting, interpretatie en analyse.

Een gemeenschappelijke aanpak voor de registratie van klinische waarnemingen is dan ook een wenselijk doel, aangezien dit zal bijdragen tot de ontwikkeling van een consistente aanpak van de indeling naar ernst. Hierdoor kunnen klinische bevindingen van verschillende studies eenvoudiger worden vergeleken en informatie worden verstrekt aan degenen die betrokken zijn bij de ernstbeoordeling waardoor de ernstgraad mogelijk kan worden verlaagd.

### **2. Algemene overwegingen**

Er mogen geen extra dieren worden gefokt voor de welzijnsbeoordeling. De beoordeling moet uitsluitend gebaseerd zijn op de observatie van het dier, en de dieren mogen geen ingrepen of andere manipulaties ondergaan die meer pijn, angst, lijden of blijvende schade kunnen veroorzaken dan het inbrengen van een naald.

Met elke nieuw geproduceerde genetische combinatie moet de resulterende lijn systematisch worden beoordeeld. Overeenkomstig Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie omvat de creatie van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn ook de kruising van bestaande genetisch gewijzigde lijnen om een nieuwe genetisch gewijzigde lijn te scheppen **waar het fenotype van de nieuwe lijn niet prospectief als niet-pathologisch kan worden bepaald.**

Waar mogelijk moet de welzijnsbeoordeling worden uitgevoerd op een wetenschappelijk en statistisch gerechtvaardigd aantal dieren, maar niet minder dan 14 dieren en van > 1 nest/legsel. Geslachtsverschillen in het fenotype moeten in aanmerking worden genomen voor de berekening van de steekproefgrootte als zij niet op wetenschappelijke basis kunnen worden uitgesloten. Als er geen genderafhankelijkheid van het genotype bekend is, beoordeel dan 7 wijfjes en 7 mannetjes. In de welzijnsbeoordeling moeten dieren van representatieve leeftijdsgroepen en relevante genotypen (heterozygoot en homozygoot) worden opgenomen.

Dieren met een overeenkomstige genetische achtergrond (bv. wild-type) of van een gedefinieerde referentielijn moeten als controledieren dienen.

Bij elke fenotypische afwijking die in de genetisch gewijzigde lijn wordt vastgesteld, moet worden vergeleken of deze voorkomt in de gedefinieerde referentielijn. Als de afwijking zich ook voordoet in de achtergrondstam, moet hiermee rekening worden gehouden. Met statistische tests moet worden berekend of het in de genetisch gewijzigde lijn waargenomen abnormaliteitsniveau significant hoger is dan bij de achtergrondstam (d.w.z. dat bepaald moet worden of een afwijking het gevolg is van de genetische modificatie). In gevallen waarin een fenotype dat het gevolg kan zijn van de genetische wijziging ook aanwezig is in de achtergrondstam, moet het aantal beoordeelde dieren waarschijnlijk worden verhoogd.

De gegevens moeten worden verkregen uit ten minste twee fokcycli van de generatie waarbij de overdracht van de genetische wijziging stabiel is.

Klinische waarnemingen kunnen niet altijd op betrouwbare wijze alle aandachtspunten identificeren die te maken hebben met de gevolgen van genetische manipulatie. Wanneer echter wetenschappelijk wordt verwacht dat de genetische wijziging negatieve gevolgen zal hebben voor het dierenwelzijn, moet al deze schade in aanmerking worden genomen en worden opgenomen in de definitieve bepaling of de lijn al dan niet pathologisch is. Alleen indien nodig en specifiek gemotiveerd in een projectvergunning mogen invasieve methoden worden gebruikt om aanvullende informatie te verkrijgen, bijvoorbeeld een bloedmonster om het glucosegehalte in een verondersteld diabetesmodel te bepalen.

Indien beschikbaar, moet rekening worden gehouden met aanvullende gegevens uit andere bronnen, bijvoorbeeld de resultaten van dierprocedures of van publicaties. Indien aanvullende informatie beschikbaar is, moet de welzijnsbeoordeling voor de desbetreffende lijn worden bijgewerkt.

Afhankelijk van de verwachte effecten kan het nodig zijn de mate en de frequentie van de monitoring te verhogen ten opzichte van de dagelijkse basismonitoring. De modellen in deel A

en deel B moeten worden gebruikt als basis voor de beoordeling en moeten worden aangevuld met de verwachte effecten van de genmanipulatie of als een onverwacht fenotype wordt waargenomen.

De resultaten van de welzijnsbeoordeling kunnen alleen betrekking hebben op de leeftijd(en) van de dieren op het tijdstip waarop de beoordelingen worden uitgevoerd en op de specifieke omgeving waarin de dieren zijn beoordeeld. Als er parameters veranderen, bv. leeftijd of omgeving (andere inrichting), moet de welzijnsbeoordeling worden bevestigd door aanvullende waarnemingen.

Er moeten nauwkeurige klinische en omgevingsgegevens worden bijgehouden en getoetst waar zich sterfgevallen voordoen, om verdere sterfte te helpen voorkomen. In voorkomend geval (bv. hoger dan verwacht sterftecijfer) moeten post-mortemonderzoeken worden uitgevoerd om de doodsoorzaak te helpen bepalen. Een toetsing van de vruchtbaarheid kan ook nuttig zijn om te beoordelen of de genetische modificatie al dan niet een effect heeft op bijvoorbeeld bevruchtingspercentages; dystocia; abortussen; doodgeboorten.

De beoordeling van individuele dieren moet worden gedocumenteerd en gerapporteerd met kwaliteitsvolle systemen die informatie-uitwisseling eenvoudig maken (meestal IT-ondersteund). In het geval van onvolgroeide dieren zoals vislarven, kan een groepsbeoordeling echter geschikter zijn. Om een consistente registratie van de beoordelingsresultaten te vergemakkelijken, zijn modellen ontwikkeld voor de meest gebruikte genetisch gewijzigde diersoorten (zie deel B).

Voorts is het van essentieel belang dat bij de overdracht van een genetisch gewijzigde lijn naar een andere onderzoeksgroep of naar een andere inrichting de tijdens de welzijnsbeoordelingen verkregen informatie wordt samengevat en gerapporteerd, zodat de 3V-beginselen onmiddellijk kunnen worden toegepast. Verdere richtsnoeren zijn opgenomen in het overdrachtsdocument voor genetisch gewijzigde dieren, met inbegrip van een gemeenschappelijk model voor verplaatsingen binnen en tussen lidstaten.

De resultaten van de welzijnsbeoordeling moeten het mogelijk maken de lijn als niet-pathologisch of pathologisch in te delen. Indien een genetisch gewijzigde lijn pathologisch wordt geacht, moet de beoordeling een passende indeling van de ernst (licht, matig, ernstig) op basis van bijlage VIII bij Richtlijn 2010/63/EU bevatten. Meer informatie is te vinden in het Werkdocument inzake een ernstbeoordelingskader (2012).

De welzijnsbeoordeling moet worden herzien en geactualiseerd naarmate meer informatie beschikbaar komt, met passende feedback aan de leverancier, de fokker en andere gebruikers, voor zover bekend.

Naarmate meer gegevens over meer dieren beschikbaar komen, moet de ernstclassificatie van de lijn worden herzien, met name voor lijnen die als niet-pathologisch worden aangemerkt, aangezien uit een groter aantal dieren een biologisch relevant fenotype met lage penetrantie kan blijken dat niet zichtbaar is in een kleinere steekproef.

Om een consistente aanpak te waarborgen, moet de welzijnsbeoordeling worden uitgevoerd door naar behoren opgeleid, bekwaam en ervaren personeel.

### 3. Deel A van het model voor de welzijnsbeoordeling voor alle soorten en tijdstippen

<b>Deel A</b>	<b>Model voor de welzijnsbeoordeling</b>
<b>Naam van de diersoort</b>	
<b>Beoordeelde lijn – Interne naam</b>	Naam die binnen de huisvestingsfaciliteit wordt gebruikt: vermeld indien van toepassing het stamnummer
<b>Beoordeelde lijn – Internationale naam</b>	De naam moet worden vermeld overeenkomstig de internationale nomenclatuurnormen <sup>6,7</sup> , indien beschikbaar.
<b>Fokstrategie</b>	Vermeld de voorkeursmethode voor de instandhouding van de kolonies, bv. heterozygoot x heterozygoot; heterozygoot x wild-type; homozygoot x homozygoot of andere vormen.  Algemene beoordeling van de voortplantingsprestaties, bv. mannetjes/wijfjes/gemiddelde nestgrootte/sterfte vóór het spenen/uitbroedingssucces, vergeleken met wildtype-controledieren.
<b>Achtergrondstam</b>	Indien bekend, moet de achtergrondstam worden gedefinieerd, bijvoorbeeld door de internationale naam te documenteren.
<b>Aard van de genetische wijziging</b>	Korte beschrijving van het type genetische modificatie, de gebruikte techniek en het target-schema <sup>8</sup> .  De genetische achtergrond van de wildtype-dieren moet worden genoemd.
<b>Informatie over de dieren op het moment van de beoordeling</b>	Leeftijd of ontwikkelingsstadium van de dieren, aantallen (geef aan of het om een raming gaat, bv. voor larvale vormen), en geslachtsverdeling
<b>Informatie over de huisvestingsomstandigheden op het moment van de beoordeling</b>	Type huisvesting en omgeving, bv. lichtregime, temperatuur, vochtigheid, milieuverrijking van kooien, waterkenmerken voor aquatische soorten (bv. temperatuur, pH, ammoniak), locatie in de diereenheid (bv. niveau kooi/tank) enz.
<b>Andere voor de beoordeling relevante informatie</b>	Alle andere informatie die van invloed kan zijn geweest op de welzijnsbeoordeling, bv. bouwwerkzaamheden, personeelwijzigingen, gezondheidstoestand op het moment van de beoordeling
<b>Overige relevante</b>	Publicaties, links naar websites

<sup>6</sup> International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice & Rat Genome and Nomenclature Committee, [Guidelines for nomenclature of mouse and rat strains](#), (2018).

<sup>7</sup> Zebrafish Nomenclature Committee (ZNC), [ZFIN Zebrafish Nomenclature Conventions](#), (2019).

<sup>8</sup> Voor het soort modificatie (vermeld kopienummer indien gekend en van toepassing), aangetast gen, overervingspatroon, geslachtsgebondenheid enz. en/of verwijst naar of voeg gedetailleerde beschrijving toe — idealiter een relevante publicatie over het genereren van de lijn (zie ook onder “Overige relevante informatie”)

<b>informatie</b>	
<b>Indeling naar ernst</b>	Op basis van bijlage VIII bij Richtlijn 2010/63/EU
<b>Bron</b>	Inrichting waar de dieren zijn geproduceerd of meest recentelijk werden gehouden
<b>Beoordelaar(s)</b>	
<b>Datum</b>	

## **4. Deel B van het model voor de welzijnsbeoordeling voor specifieke soorten**

### Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde knaagdieren

Specifieke aanbevelingen voor de welzijnsbeoordeling van knaagdieren:

- kort na de geboorte, rond het spenen en opnieuw na geslachtsrijpheid en oudere dieren waar later een ziekte wordt verwacht.
- Dieren met een overeenkomstige genetische achtergrond of een gedefinieerde referentielijn dienen als controledieren. Tijdens de besteding van een lijn zijn wildtype-nestgenoten, indien beschikbaar, bijzonder geschikt.
- Het kan nuttig zijn om een groeicurve voor de lijn te genereren.

Aanvullende overwegingen voor neonatale dieren en pasgeboren nestgenoten zijn opgenomen in de onderstaande tabellen.

**Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van knaagdieren**

**Voorkomen / lichaamsfuncties / omgeving / gedrag / procedurespecifieke indicatoren / vrije observaties**

Hoofdcategorieën	Aandachtsgebieden bij het observeren van de dieren	Indicatoren waar specifiek op moet worden gelet
<b>Voorkomen</b>	<b>Lichamelijke conditie</b>	Gewichtsverlies/-toename
		Zwaarlijvig
		Mager
		Score lichamelijke conditie, indien beschikbaar
	<b>Vacht en huid</b>	Rechtopstaan van het haar
		Onverzorgde vacht
		Vettige vacht
		Haarverlies
		Uitdroging – staande huidplooi
		Huidlaesies – zwelling; schurft; zweer; laesie/wond
		Ontlastings- of urinevlekken
	<b>Uitscheiding</b>	Oog; neus; urogenitaal; porfyrvinevlekken bij sommige diersoorten, bv. ratten
	<b>Ogen</b>	Verzonken of “dof”, of vergroot
		Gesloten/halfgesloten/gezwollen
		Schade/letsel aan het oog (bv. ulceratie van hoornvlies)
	<b>Mond</b>	Speekselafscheiding
Beetanomalie/overbeet		
<b>Overige</b>	“Pijngezicht” – bv. halfgesloten ogen en gezwollen neus bij muizen	
	Samentrekken van de buik	
	Gezwollen lichaamsdeel, bv. uitgezette maag	
<b>Lichaamsfuncties</b>	<b>Ademhaling</b>	Versnelde ademhaling (tachypneu)
		Zware ademhaling (hyperpneu)



		<p>Zeer zware ademhaling/ademhalingsmoeilijkheden (dyspneu, hijgen)</p> <p>Piepen of ander geluid bij het ademen</p>
	<b>Voedselinname</b>	Toegenomen/afgenomen
	<b>Waterconsumptie</b>	Toegenomen/afgenomen
	<b>Lichaamstemperatuur</b>	Toegenomen/afgenomen; gemeten lichaamstemperatuur indien beschikbaar (contact- of niet-contactthermometer); kleur van extremiteiten bij knaagdieren
	<b>Zintuigen</b>	Aangetast gezichtsvermogen, gehoor of evenwicht
<b>Leefomgeving</b>	<b>Leefruimte, met inbegrip van strooisel, nestmateriaal, verrijkingsvoorwerpen</b>	Aanwezigheid en consistentie van uitwerpselen
		Natte bedding, bv. door polyurie
		Aanwezigheid van bloed
		Of het dier verrijkingsvoorwerpen gebruikt, bv. nestmateriaal, kauwblokken
<b>Gedrag</b>	<b>Sociale interactie</b>	Verandering van normaal temperament — gespannen/agressieve interactie met andere dieren; angstgedrag (bv. duidelijke vluchtreacties, verstoppert)
		Geïsoleerd of teruggetrokken van andere dieren in sociale groep
	<b>Ongewenst gedrag</b>	Repetitief/stereotiep gedrag
		Barberen (knaagdieren), trichotillomanie
		Automutilatie
		Toegenomen agressie jegens mensen of andere dieren
	<b>Houding en mobiliteit</b>	Abnormale houding
		Abnormale gang; lamheid; gebrek aan beweging/lusteloosheid/weigering om te bewegen indien hiertoe gestimuleerd
		Ongecoördineerde bewegingen
		Opgebolde maagstreek; scheve kop
	<b>Overige</b>	Tremoren
		Epileptische aanvallen/stuip trekkingen/spasmen/zenuwtrekken
		Vocalisatie; spontaan of opgewekt. (NB: Knaagdieren vocaliseren doorgaans in het ultrasone bereik, dus moet met name op hoorbare vocalisaties worden gelet.)

		Sterfte (of vroegtijdig doden als gevolg van ongunstige symptomen) vóór de verwachte levensduur of de langste levensduur
<b>Procedurespecifieke indicatoren</b>	Deze worden bepaald op basis van het afzonderlijke project, de potentiële nadelige gevolgen hiervan en de hiervoor verwachte symptomen	In een multiple sclerose-model kan dit bijvoorbeeld omvatten: verlies van staarttonus, zwakke achterpoten, zwakke voorpoten, verlamming, verlies van blaasfunctie
<b>Vrije observaties</b>	Een welzijnsbeoordelingsschema moet altijd voorzien in de mogelijkheid om observaties van onverwachte negatieve welzijnseffecten te noteren.	

***Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van pasgeboren dieren totdat zij zijn gespeend***

<b>Criteria</b>	<b>Waar moet naar worden gekeken</b>
<b>Klinische symptomen</b>	bv. misvormingen, grootte, huidskleur, oedeem groei en abnormale/vertraagde ontwikkeling (bv. tijdstip waarop de ogen opengaan; groei van de vacht)
<b>Gedrags-symptomen</b>	bv. toegenomen activiteit, agressie, overmatige vocalisatie, lusteloosheid/geen reactie?
<b>Milia (alleen bij neonaten)</b>	Zijn er jongen die geen milia vertonen?

<b>Moederlijk gedrag</b>	Bewijzen van slecht moederschap (bv. kannibalisme, jongen verspreid in de kooi en niet teruggehaald, hoge verliezen vóór het spenen)?
<b>Nest</b>	grootte van het nest; homogeniteit van het nest

## Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde vissen (beenvissen, *Teleostei*)

Specifieke aanbevelingen voor de welzijnsbeoordeling van vissen:

de primaire welzijnsbeoordeling van genetisch gewijzigde vislijnen moet gericht zijn op de waarneming van zichtbare veranderingen in de vissen. Als er nieuwe wetenschappelijke inzichten in de pijnperceptie en het pijngerelateerd gedrag van vissen beschikbaar zijn, wordt hiermee rekening gehouden bij toekomstige updates van de welzijnsbeoordeling.

Deze leidraad is van toepassing op alle soorten beenvissen (*Teleostei*). De naam van de exacte soort van de beoordeelde lijn moet worden vermeld. Aanbevolen wordt de welzijnsbeoordeling van beenvissen in ten minste twee fasen uit te voeren:

- 1. In het larvale stadium op het ogenblik dat de dieren zich autonoom kunnen voeden**
- 2. Volwassen, geslachtsrijpe dieren**
- 3. Oudere dieren moeten worden beoordeeld wanneer later een ziekte wordt verwacht.**

De definitieve beoordeling van genetisch gewijzigde beenvissen moet worden gebaseerd op de waarnemingen tijdens, ten minste, deze ontwikkelingsstadia.

Het tijdstip waarop larven zich autonoom kunnen voeden hangt af van de vissoort (voorgesteld 5 dagen na de bevruchting voor zebravissen (*Danio rerio*) (bij een watertemperatuur van 28 °C) overeenkomstig het Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie, en 12 dagen na de bevruchting voor medaka (*Oryzias latipes*) en kan sterk verschillen afhankelijk van de voortplantingsomstandigheden (meestal watertemperatuur). In beginsel moet het tijdstip worden gebruikt waarop beide uiteinden van de darmen open zijn *en* de vis gewoonlijk actief voedsel tot zich neemt.

Het tijdstip van geslachtsrijpheid hangt ook af van de vissoort en de huisvestingsomstandigheden. De geslachtsrijpheid van zebravissen en rijstvissoorten (medaka) bedraagt ongeveer 12-16 weken bij een watertemperatuur van 28 °C.

Elke verandering als gevolg van de genetische manipulatie kan afhangen van de specifieke huisvestingsomstandigheden binnen een bepaalde faciliteit. De huisvestingsomstandigheden (met inbegrip van de voeding) moeten dan ook in aanmerking worden genomen bij de welzijnsbeoordeling, en moeten worden gedocumenteerd.

**Bij de welzijnsbeoordeling van genetisch gewijzigde beenvissen moeten de volgende beginselen worden gehanteerd:**

- De beoordeling is uitsluitend gebaseerd op de observatie van dieren in hun huisvestingsomgeving (bv. petrischaal, aquarium).
- Voor de beoordeling van volwassen, geslachtsrijpe vissen is het niet nodig dezelfde exemplaren te gebruiken als die voor de beoordeling in het larvale stadium, aangezien het doorgaans niet mogelijk is om larven permanent te markeren.

- Alle wijzigingen moeten worden beoordeeld met inachtneming van de specifieke achtergrond van het wild-type en met de huisvestingsomstandigheden van een bepaalde faciliteit, die beide moeten worden gedocumenteerd voor de definitieve welzijnsbeoordeling. Opmerking: de in de twee onderstaande tabellen vermelde wijzigingen worden geacht slechts incidenteel (tot 1 %) voor te komen bij wildtype-vissen, als deze overeenkomstig bijlage III bij Richtlijn 2010/63/EU in een goed onderhouden voorziening worden gehouden. Deze cijfers kunnen per inrichting verschillen.
- Om de sterftcijfers bij genetisch gewijzigde vissen op populatieniveau te beoordelen, moeten passende wildtype-sterftcijfers worden gebruikt.

**Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van vissen**

De waarnemingen zijn onderverdeeld in de onderstaande zes categorieën. Er zij op gewezen dat de ontwikkeling van vissen sterk afhankelijk is van de soort en de huisvestingsomstandigheden (bv. watertemperatuur en voeding). De waargenomen wijzigingen moeten altijd worden beoordeeld met inachtneming van de specifieke achtergrond van het wild-type en met de huisvestingsomstandigheden van een bepaalde faciliteit.

**Larve / voorkomen / lichaamsfunctie / gedrag / procedurespecifieke indicatoren / vrije observaties**

Hoofdcategorieën	Aandachtsgebieden bij het observeren van de dieren	Indicatoren waar specifiek op moet worden gelet
<b>Larve</b>	<b>Vóór het tijdstip van het zich autonoom voeden</b> Geef aan of er geraamde waarden zijn verstrekt	Gemiddelde omvang van het broedsel in aantal eitjes (of voorbeelden).
		Tijd tussen het paaien en het zich autonoom voeden (als de watertemperatuur verschilt van de normale huisvestingsomstandigheden moet de exacte watertemperatuur worden geregistreerd)
		Uit het ei komen als percentage van alle eitjes van een broedsel, bij voorkeur gedocumenteerd op 5 dagen na bevruchting voor zebravissen.
		Overlevingspercentages van larven bij het zich autonoom voeden (bv. voor zebravissen op 5 dagen na bevruchting, voor medaka op 12 dagen na bevruchting) als percentage van alle uitgekomen eitjes.
		Aangezien de overleving van larven zich in een later stadium stabiliseert, moet het overlevingspercentage van alle larven op een tweede tijdstip vóór de geslachtsrijping worden genoteerd (bv. voor zebravissen op 28 dagen na bevruchting).
	<b>Op het tijdstip van het zich autonoom voeden</b>	Morfologie; bv. geremde/abnormale ontwikkeling, grootte, huid, vinnen, elke vorm van zwelling, abnormale flexie, hartoedeem, ongeopende zwemblaas
	Zwemgedrag en -activiteit; bv. permanent op de bodem van het aquarium of dicht bij het oppervlak zwemmen, positie in het water	
<b>Aandachtsgebieden bij het observeren van volwassen, geslachtsrijpe beenvissen</b>		
<b>Voorkomen</b>	<b>Lichamelijke conditie</b>	Verschil in lengte / duidelijk kleinere / grotere omvang voor leeftijd (raming)

		Sterk vermagerd
		Zwaarlijvig / gezwollen
		Gewijzigde vorm bv. spinale afwijkingen
		Gewijzigde of ontbrekende vinnen (specificeer welke en hoe)
		Gewijzigde of ontbrekende kieuwdeksels (operculum)
	<b>Schubben- en huidconditie</b>	Veranderingen in schubben/huid
		Roodachtige huid
		Lichtere / donkerdere pigmentatie
		Andere veranderingen in huidskleur
		Zweren
		Plaatselijke zwelling / tumor
<b>Lichaamsfunctie</b>	<b>Ademhaling</b>	Toegenomen operculaire beweging
		Naar lucht happen aan wateroppervlak
	<b>Voedselinname</b>	Gewijzigd eetgedrag (specificeren)
	<b>Overige</b>	Specificeer
<b>Gedrag</b>	<b>Zwemgedrag</b>	Toegenomen / afgenomen activiteit (ook bij stimulatie)
		In rondjes / kurkentrekervorm / spiraalvorm zwemmen
		Wrijven tegen de zijkant/bodem van het aquarium, "stoten" langs de bodem van het aquarium
		Zwemmen op de bodem van het aquarium
	Zwemmen aan het wateroppervlak	
	<b>Sociale interactie</b>	Agressie
	<b>Overige kwesties met betrekking tot de populatie</b>	Verlies van neiging tot schoolvorming, zich afscheiden van de school
		Vruchtbaarheid, gespecificeerd voor mannetjes en wijfjes met inbegrip van de vatbaarheid om eitjes niet af te kunnen stoten.
		Sterfte (of vroegtijdig doden als gevolg van ongunstige symptomen) vóór de verwachte levensduur of de langste levensduur

<b>Procedurespecifieke indicatoren</b>	Deze worden bepaald op basis van het afzonderlijke project, de potentiële nadelige gevolgen hiervan en de hiervoor verwachte symptomen	
<b>Vrije observaties</b>	Een ernstbeoordelingsschema moet altijd voorzien in de mogelijkheid om observaties van onverwachte negatieve welzijnseffecten te noteren.	



#### ***Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van larvale vormen***

Larven worden uitsluitend beoordeeld aan de hand van observatie van de dieren, afhankelijk van de grootte ervan met behulp van microscopie, in een petrischaal of in een aquarium. Voor de welzijnsbeoordeling wordt een representatief aantal larven (en broedsels) gebruikt. Als aanvulling op de welzijnsbeoordeling moet rekening worden gehouden met specifieke aspecten van larven vóór het tijdstip waarop zij zich autonoom voeden.

#### ***Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van geslachtsrijpe, volwassen vormen***

Volwassen, (bij voorkeur) geslachtsrijpe vissen worden beoordeeld door de dieren in het aquarium te observeren. Indien mogelijk moeten alle geobserveerde vissen binnen één groep worden gehouden, aangezien het scheiden van de vissen voor de beoordeling extra stress zou veroorzaken.

Hoewel een afzonderlijke beoordeling van beide geslachten niet noodzakelijk wordt geacht, moeten beide geslachten in de evaluatie worden opgenomen. Als er aanwijzingen zijn dat de waargenomen afwijkingen geslachtsspecifiek zijn, moet de welzijnsbeoordeling van volwassen, geslachtsrijpe vissen afzonderlijk worden uitgevoerd voor mannelijke en vrouwelijke dieren.

## Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde boerderij- of minivarkens

Specifieke aanbevelingen voor de welzijnsbeoordeling van boerderij- of minivarkens:

de welzijnsbeoordeling moet dieren van representatieve leeftijdsgroepen omvatten:

- kort na de geboorte, rond het spenen (4-5 weken oud) en opnieuw na geslachtsrijpheid (ongeveer 4-6 maanden oud) en op bijkomende tijdstippen die passend worden geacht in een prospectieve beoordeling van de potentiële gevolgen van de genmodificatie, bv. wanneer er een leeftijdsafhankelijke ziekte begint;
- minimaal 7 beren en 7 zeugen bemonsterd uit meer dan één nest (het aantal nakomelingen in een nest van minivarkens is gering, en het aantal fokkers van genetisch gewijzigde dieren en het aantal dieren zijn over het algemeen kleiner dan voor andere soorten).

**Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van boerderij- of minivarkens**

**Voorkomen / lichaamsfuncties / omgeving / gedrag / procedurespecifieke indicatoren / vrije observaties**

Hoofdcategorieën	Aandachtsgebieden bij het observeren van de dieren	Indicatoren waar specifiek op moet worden gelet
Voorkomen	Lichamelijke conditie	Afwijkingen van de groeicurve
		Zwaarlijvig of groter
		Mager of kleiner
		Afwijkingen in de score voor lichamelijke conditie
	Vacht en huid	Afwijking in huidskleur
		Afwijkingen in huidtextuur
		Afwijkingen in de kwaliteit van het haar (bv. dikke vacht)
		Haarverlies of alopecia
		Blijvende plooi in de huid als gevolg van bv. uitdroging of verhongering
		Huidlaesies – zwelling; schurft; zweer; laesie/wond
		Dermatitis of eczeem
	Uitscheiding	Oog; neus; urogenitaal of diarree
	Ogen	Microftalmie
		Gezwellen of gesloten/halfgesloten
		Schade/letsel aan het oog (bv. ulceratie van hoornvlies of teken van blindheid)
	Mond	Spekselfafscheiding
Beetanomalie/overbeet		
Overige	Misvormingen (bv. skeletvervorming of afwijkingen zoals hydrocefalus)	
	Morfologische, neurologische of spier- en skeletafwijkingen	
	Gezwellen lichaamsdeel (bv. uitgezette maag) of tumoren	
Lichaamsfuncties	Ademhaling	Versnelde ademhaling (tachypneu)
		Zware ademhaling (hyperpneu)
		Zeer zware ademhaling/ademhalingsmoeilijkheden (dyspneu, hijgen)

		Piepen of ander geluid bij het ademen
	<b>Voedselinname</b>	Toegenomen/afgenomen
	<b>Waterconsumptie</b>	Toegenomen/afgenomen
	<b>Lichaamstemperatuur</b>	Toegenomen/afgenomen; gemeten lichaamstemperatuur indien beschikbaar (bv. contact- of niet-contactthermometer);
	<b>Zintuigen</b>	Aangetast gezichtsvermogen, gehoor of evenwicht
<b>Leefomgeving</b>	<b>Leefruimte, met inbegrip van strooisel, nestmateriaal, verrijgingsvoorwerpen</b>	Aanwezigheid en consistentie van uitwerpselen
		Overmatig urineren
		Aanwezigheid van braaksel of bloed
		Of het dier verrijgingsvoorwerpen gebruikt, bv. nestmateriaal, kauwblokken
<b>Gedrag</b>	<b>Sociale interactie</b>	Vertoont het dier het volledige repertoire van gedragingen die passend zijn voor de stam; met inbegrip van sociale interactie, wroeten, lopen, rennen, slapen
		Geïsoleerd of teruggetrokken van andere dieren in sociale groep
	<b>Ongewenst gedrag</b>	Repetitief/stereotiep gedrag
		Langdurige inactiviteit
		Toegenomen agressie jegens mensen of andere dieren
	<b>Houding en mobiliteit</b>	Abnormale houding (bv. biggen met spreidpoten)
		Abnormale gang; lamheid; gebrek aan beweging/lusteloosheid/weigering om te bewegen indien hiertoe gestimuleerd
		Ongecoördineerde of verminderde bewegingen of oriëntatieproblemen
		Opgebolde maagstreek; scheve kop
	<b>Overige</b>	Stijfheid of tremoren
		Epileptische aanvallen/stuip trekkingen/spasmen/zenuwtrekken
		Vocalisatie; spontaan of opgewekt
<b>Procedurespecifieke indicatoren</b>	Deze worden bepaald op basis van het afzonderlijke project, de potentiële nadelige	

	gevolgen hiervan en de hiervoor verwachte symptomen	
<b>Vrije observaties</b>	Een ernstbeoordelingssysteem moet altijd voorzien in de mogelijkheid om observaties van onverwachte negatieve welzijnseffecten te noteren.	

***Aanvullende overwegingen voor de welzijnsbeoordeling van pasgeboren dieren***

<b>CRITERIA</b>	<b>WAAR MOET NAAR WORDEN GEKEKEN</b>
<b>Huidskleur en uiterlijk van pasgeborenen</b>	Vertonen sommige biggen een abnormale huidskleur (bv. anemie, slechte circulatie)? Hebben ze een blijvende plooi in de huid (indicatie van uitdroging of verhongering)? Hebben zij een “harig” uiterlijk (indicatie dat het moeilijk is om de normale lichaamstemperatuur te handhaven)?
<b>Activiteit van pasgeboren dieren</b>	Is er sprake van abnormale activiteit? Zijn de pasgeboren dieren actief en bewegen zij zich vrij? Ademen ze normaal? Zijn de houdingen abnormaal (bv. biggen met spreidpoten)?
<b>Interactie van pasgeborenen met zeug en zuiggedrag</b>	Hebben de pasgeborenen biest gekregen? Zijn zij geïnteresseerd in en in staat om te zuigen en lijken zij een normale melkconsumptie te hebben? Zijn zij geïsoleerd van de zeug of de warmtebron? Zijn er gevechten en agressie rond de uier? Enig bewijs van slecht moederschap?
<b>Nest</b>	Was de drachtperiode volledig? Verliep het werpproces normaal? Eventuele afwijkingen met betrekking tot de grootte van het nest, de homogeniteit ervan, de ontwikkeling en groei van de biggen?

## Welzijnsbeoordelingsschema voor genetisch gewijzigde kippen

Specifieke aanbevelingen voor de welzijnsbeoordeling van kippen:

het is belangrijk om dieren van representatieve leeftijdsgroepen op te nemen.

- Houd rekening met de succespercentages bij het uitbroeden.
- Kort na het uitbroeden (gewoonlijk in de broedmachine) en op andere geschikte tijdstippen\*), volwassen, oudere dieren of maximumleeftijd.
- Minimaal 7 hanen en 7 hennen bemonsterd uit meer dan een legsel.
- Waar mogelijk een vergelijking met soortgelijke dieren die niet genetisch gewijzigd zijn.

\*) en op bijkomende tijdstippen die passend worden geacht in een prospectieve beoordeling van de potentiële gevolgen van de genmodificatie bv. wanneer er een leeftijdsafhankelijke ziekte begint.

Het is belangrijk om te weten of de vogel behoort tot een lijn voor legkippen of voor vleeskippen, aangezien dit gevolgen heeft voor het voederen en het fenotype en dit zelfs verschillen in leefomgeving en wijzigingen aan de voeding met zich mee kan brengen.

**Deel B Model voor een welzijnsbeoordeling van kippen**

**Voorkomen / lichaamsfuncties / omgeving / gedrag/ procedurespecifieke indicatoren / vrije observaties**

Hoofdcategorieën	Aandachtsgebieden bij het observeren van de dieren	Indicatoren waar specifiek op moet worden gelet
Voorkomen	Lichamelijke conditie / vorm / groei	Misvormingen, abnormale ontwikkeling, skeletvervorming, spreidpoten
		Afwijkingen van de groeicurve en verwachte grootte
		Lichamelijke conditie – specifiek voor legkippen / vleeskippen
		Gewichtsverlies/-toename
	Veren en huid	Abnormale ontwikkeling van de veren
		Slechte conditie van de veren / verformfaaide veren / vuile veren
		Kale plekken, verenpikken komt vaker voor dan verwacht
		Uitdroging – staande huidplooi
		Huidlaesies – fragiele huid / zwelling; schurft; zweer; laesie/wond
	Uitscheiding	Oog; neus; cloaca
	Ogen	Verzonken of “dof”
		Gesloten/halfgesloten/gezwellen
		Schade/letsel aan het oog (bv. ulceratie van hoornvlies)
	Snavel / spijsverteringsstelsel	Kroproblemen zoals een verstopte krop
Misvormde snavel, kam of lellen		
Overige	Kleur en bevolesheid van lellen en kam – bleek/rood/cyanotisch; stevig of zacht	
	Gezwellen lichaamsdeel, bv. uitgezette maag	
Lichaamsfuncties	Ademhaling	Versnelde ademhaling (tachypneu)
		Zware ademhaling (hyperpneu)
		Zeer zware ademhaling/ademhalingsmoeilijkheden (dyspneu, hijgen)
		Piepen of ander geluid bij het ademen
	Voedsel-/waterinname	Toegenomen/afgenomen

		Vermogen om bij het uit het ei komen voedsel en water te vinden zoals verwacht; hulp nodig of gezelschap van soortgenoten (controledieren) nodig
	<b>Lichaamstemperatuur</b>	Toegenomen/afgenomen; gemeten lichaamstemperatuur indien beschikbaar (bv. contact- of niet-contactthermometer); kleur van extremiteiten
	<b>Zintuigen</b>	Aangetast gezichtsvermogen, gehoor of evenwicht
	<b>Voortplanting</b>	Abnormaal percentage van levensvatbare embryo's bij het schouwen (lager dan de verwachte 90 %) Laag uitbroedpercentage door het niet kunnen openbreken van de eieren (vast in eierschaal) Legprestaties van de hennen, begin van legleeftijd, productie van eieren tijdens de legperiode, misvormingen van het ei, consistentie van de eierschaal, bederf van de eieren
<b>Leefomgeving</b>	<b>Leefruimte, met inbegrip van strooisel, nestmateriaal, verrijgingsvoorwerpen</b>	Aanwezigheid en consistentie van uitwerpselen
		Overmatige / ongebruikelijke bevuiling van het substraat
		Of het dier verrijgingsvoorwerpen gebruikt, bv. zandbad, roeststokken
<b>Gedrag</b>	<b>Sociale interactie</b>	Vertoont het dier het volledige repertoire van gedragingen die passend zijn voor de stam, met inbegrip van veren poetsen, lopen, rennen, krabben, nemen van stofbaden, roesten, vleugels kunnen uitslaan, foerageren
		Ongebruikelijke activiteit, zoals hyperactiviteit
		Verandering van normaal temperament
		Geïsoleerd of teruggetrokken van andere dieren in sociale groep
	<b>Ongewenst gedrag</b>	Gespannen/agressieve interactie met andere vogels; angstgedrag (bv. duidelijke vluchtreacties, verstoppen)
		Toegenomen vocalisatie bij behandeling
		Repetitief/stereotiep gedrag
		Veren pikken



		Langdurige inactiviteit (kan indicatie zijn van chronische stress of depressie (anhedonie) en/of ziekte/pijn) met name in combinatie met gebogen houding en/of verformfaaide of haveloze veren
		Toegenomen agressie jegens mensen of andere dieren
	<b>Houding en mobiliteit</b>	Abnormale houding, gebogen
		Oriëntatieproblemen
		Abnormale gang; lamheid; gebrek aan beweging/lusteloosheid/weigering om te bewegen indien hiertoe gestimuleerd
	<b>Overige</b>	Tremoren
		Stijfheid
		Epileptische aanvallen/stuip trekkingen/spasmen/zenuwtrekken
		Vocalisatie; spontaan of opgewekt.
		Sterfte (of vroegtijdig doden als gevolg van ongunstige symptomen) vóór de verwachte levensduur of de langste levensduur
<b>Procedurespecifieke indicatoren</b>	Deze worden bepaald op basis van het afzonderlijke project, de potentiële nadelige gevolgen hiervan en de hiervoor verwachte symptomen	
<b>Vrije observaties</b>	Een ernstbeoordelingsschema moet altijd voorzien in de mogelijkheid om observaties van onverwachte negatieve welzijnseffecten te noteren.	

## Deel 4: overdracht van informatie over het welzijn van genetisch gewijzigde dieren

### 1. Grondbeginselen

Wanneer genetisch gewijzigde dieren binnen en tussen inrichtingen worden overgebracht, is het belangrijk dat specifieke informatie over hun welzijnsbehoeften samen met de dieren wordt overgedragen. Op die manier kan iedereen die voor de dieren zorgt of de dieren gebruikt, inzicht krijgen in de specifieke eigenschappen van de dieren (of stammen of lijnen), die zij ontvangen samen met de bijzondere welzijnsvereisten voor deze dieren zodat zij onmiddellijk verfijning kunnen toepassen.

Deze informatie kan in verschillende vormen worden overgedragen, onder meer via een papieren document, een elektronisch bestand of een databank. Belangrijk is dat deze informatie op maat gesneden en zinvol is en gemakkelijk toegankelijk voor iedereen die op eender welke locatie voor een genetisch gewijzigd dier zorgt, zodat elk dier (of elke partij dieren) gedurende zijn hele leven op consistente wijze wordt verzorgd.

Welke informatie moet samen met de dieren worden overgedragen?

Naast alle relevante gegevens over de schepping, het fokken, de nomenclatuur en de genetische achtergrond (**deel A van de welzijnsbeoordeling**), moet een duidelijke beschrijving van het fenotype of alle andere tijdens de welzijnsbeoordeling waargenomen kenmerken (**deel B van de welzijnsbeoordeling**) worden opgenomen in de overdrachtsdocumenten.

Bij de overdracht van dieren van niet-pathologische lijnen is het van bijzonder belang dat informatie wordt gerapporteerd over de omstandigheden op grond waarvan de oorspronkelijke indeling is gemaakt, bv. gezondheidstoestand en leefomgeving, aangezien veranderingen van die omstandigheden de gevolgen van de genetische modificatie voor het welzijn van het dier kunnen beïnvloeden, zodat de indeling “niet-pathologisch” mogelijk in “pathologisch” moet worden gewijzigd.

Om passende huisvestings-, verzorgings- en monitoringpraktijken te bevorderen, is het bovendien van essentieel belang dat informatie over mogelijke fenotypisch-gerelateerde welzijnsproblemen met de desbetreffende verzorgings- en houderijvoorschriften worden gedocumenteerd samen met mogelijke verfijningsstrategieën (**Deel C – Verzorgings- en houderijvoorschriften**) en samen met de dieren worden verstrekt.

De volgende informatie moet worden opgenomen voor elk genotype dat kan ontstaan (d.w.z. heterozygoten en homozygoten) als gevolg van het fokken van dieren die zijn overgebracht naar een nieuwe leefomgeving.

Er moet relevante informatie worden verstrekt over:

- **fenotypen** — al dan niet aan kooi- of aquariumzijde waargenomen — met inbegrip van de levensfase/de leeftijd van de betrokken dieren;

- **dierenverzorging** — problemen in verband met het houden van de dieren die van invloed kunnen zijn op hun gezondheid en eventuele vereisten voor speciale dierenverzorging (bv. supplementen, verrijking enz.);
- **steriliteit** — problemen in verband met vruchtbaarheid, het werpen van jongen of het fokken;
- **stamgegevens** — nomenclatuur, genetische achtergrond, genotype-informatie.

## 2. Deel C – Model voor de verzorgings- en houderijvoorschriften bij overdracht van genetisch gewijzigde dieren

Deel C – Verzorgings- en houderijvoorschriften						
<p><b>Korte uitleg van het fenotype, met inbegrip van corrigerende maatregelen en eindpunten</b></p> <p>Vermeld fenotypische afwijkingen en waarneembare kenmerken die kunnen optreden, met vermelding van de leeftijd waarop zij optreden (bv. net na de geboorte/het uitkomen, bij het spenen, bij het zich autonoom voeden of tijdens de geslachtsrijping, op volwassen leeftijd of tijdens het fokken (het niet ontwikkelen van eieren, abortussen, abnormale foetussen enz.)</p>						
	Leeftijd	Wat voor symptomen	Mogelijke gevolgen voor het welzijn	Mogelijke behandelings-, interventie- en verfijningsstrategieën	Specifieke huisvesting of verzorging	Humaan eindpunt
<p><b>Klinische symptomen</b></p> <p>Met inbegrip van voorkomen, lichaamsfuncties en monitoring van leefomgeving</p>						

<b>Gedragssymptomen</b>						
<b>Fokprestaties met inbegrip van de levensvatbaarheid van jongen/nakomelingen</b>						
<b>Vroegtijdig overlijden</b>						

## Deel 5: rapportage van genetisch gewijzigde dieren

### 1. Algemeen rechtskader

De algemene rapportageverplichtingen zijn uiteengezet in artikel 54 van de richtlijn. De nadere vereisten zijn vastgelegd in Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie.

De richtlijn bevat twee soorten rapportageverplichtingen met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren:

- 1) Jaarlijkse statistische rapportage, met statistische gegevens over het gebruik van dieren, met inbegrip van het gebruik voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren. Voor activiteiten die onder de definitie van een “procedure” vallen, is een projectvergunning vereist, en dieren die in het kader van projecten worden gebruikt, vallen over het algemeen onder de jaarlijkse statistische rapportageverplichtingen.

Nadere voorschriften zijn opgenomen in bijlage III bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie.

- 2) Daarnaast moeten de lidstaten om de vijf jaar informatie verzamelen over de uitvoering van de richtlijn. Dit omvat twee specifieke gegevenscategorieën van fokkers en gebruikers van genetisch gewijzigde dieren over de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren en heeft betrekking op het laatste jaar van de vijfjarige rapportagecyclus:
  - alle andere dieren die niet zijn opgenomen in de jaarlijkse statistische rapportage, met inbegrip van de dieren die het resultaat zijn van de schepping en de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen (dieren die worden gefokt, gedood en niet gebruikt), en
  - representatieve informatie over weefselbemonsteringsmethoden voor de genetische karakterisering (genotypering) — deze dieren kunnen al dan niet ook in de jaarlijkse statistische verslagen zijn opgenomen, afhankelijk van de gebruikte weefselbemonsteringsmethode (zie bladzijde 70).

Nadere voorschriften zijn opgenomen in bijlage II bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie.

### 2. Stroomschema van de vereisten voor statistische en uitvoeringsrapportage voor de schepping, de instandhouding en het gebruik van genetisch gewijzigde dieren

Het stroomschema op de volgende pagina geeft een overzicht van de rapportagevereisten voor zowel de jaarlijkse statistische rapportage (donkerblauwe vakken) als de vijfjaarlijkse uitvoeringsverslagen (lichtgroene vakken).

Het stroomschema kan als poster worden gedownload op:

[https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pubs\\_posters\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_posters_en.htm)

<p><b>Jaarlijkse statistieken:</b></p> <p>de voor de <b>schepping</b> gebruikte dieren (inclusief ouderdieren) <b>worden</b> vermeld in de jaarlijkse statistieken onder het <b>doel van het fundamenteel/toegepast onderzoek</b> waarvoor de lijn wordt gecreëerd</p> <p>Enige uitzondering: <b>wildtype</b>-nakomelingen worden niet gerapporteerd in de jaarlijkse statistieken</p>	<p><b>Uitvoeringsverslag:</b></p> <p>om de vijf jaar tijdens het laatste jaar van de rapportagecyclus over de uitvoering van de richtlijn: de volgende verslagen hebben betrekking op de jaren 2022, 2027 en 2032</p> <p>Voor de <b>schepping</b> gebruikte dieren: vermeld alleen <b>genetisch normale, wildtype-nakomelingen</b> (indien deze niet in andere procedures worden gebruikt (en dus niet elders werden gerapporteerd)).</p>
<p><b>Welzijnsbeoordeling</b> — met de daaropvolgende beslissing over de indeling van de lijn</p>	

**NIET-PATHOLOGISCH FENOTYPE**

**PATHOLOGISCH FENOTYPE**

**Weefselbemonsteringsmethode voor genotypering:**

bemonstering van weefsels **onder** de drempelwaarde (niet-invasief)

bemonstering van weefsels **boven** de drempelwaarde

Geen projectvergunning	Projectvergunning	Projectvergunning
<p><b>Uitvoeringsverslag:</b></p> <p>Alle <u>ongebruikte</u> dieren die zijn gedood en <b>niet genotypeerd</b> via een invasieve methode.</p>	<p><b>Jaarlijkse statistieken onder "instandhouding van kolonies...":</b></p> <p>Alle <u>niet-gebruikte</u> dieren die zijn gedood <b>en</b> via een invasieve methode zijn <b>genotypeerd</b> (niet uitgevoerd voor het merken)</p>	<p><b>Jaarlijkse statistieken onder "instandhouding van kolonies...":</b></p> <p>Alle <u>niet-gebruikte</u> dieren die zijn gedood <b>en</b> die een <b>pathologisch fenotype</b> hebben <u>vertoond en/of</u> zijn genotypeerd via een invasieve methode (niet uitgevoerd voor het merken)</p>
		<p><b>Uitvoeringsverslag:</b></p> <p>Alle <u>niet-gebruikte</u> dieren die zijn gedood <b>zonder</b> een pathologisch fenotype <b>te hebben vertoond en niet</b> via een invasieve methode zijn genotypeerd</p>

Dieren die niet worden gedood en nog steeds worden gebruikt in procedures

**Projectvergunning**

**Jaarlijkse statistieken:** Alle dieren die in procedures worden gebruikt, worden na voltooiing van de procedure en voor **het doel waarvoor die procedure is uitgevoerd, in de jaarlijkse statistieken gerapporteerd.**



### 3.1. Jaarlijkse statistische rapportage

#### Wettelijke voorschriften met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren en jaarlijkse statistische rapportagevereisten

Bijlage III bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie behandelt in

- Deel A de te gebruiken gegevenscategorieën;
- Deel B algemene instructies en instructies voor de specifieke gegevenscategorieën.

In de jaarlijkse statistische rapportage worden dieren slechts **eenmaal** aan het einde van een procedure gerapporteerd — doorgaans wordt dit gedaan door de projecthouder die het “gebruik” voltooit. Voor de statistische rapportage is het belangrijk een onderscheid te maken tussen “gebruik”, “verder gebruik” en “hergebruik” (meer informatie in het [werkdocument inzake specifieke artikelen van Richtlijn 2010/63/EU](#)<sup>9</sup>).

#### Rapportage van dieren die worden gebruikt voor het scheppen van genetisch gewijzigde lijnen

Alle genetisch gewijzigde lijnen worden aangevraagd voor een specifiek wetenschappelijk doel. Procedures voor het scheppen van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen moeten worden gerapporteerd in verband met het specifieke onderzoeksgebied waarvoor de lijn wordt gecreëerd. Er moet dan ook overleg plaatsvinden en documentatie worden uitgewisseld tussen degenen die de lijn aanvragen en degenen die nieuwe lijnen scheppen, om de nauwkeurigheid van de rapportage door de projectleider te waarborgen.

- “Schepping” is de ontwikkeling van een nieuwe lijn van genetisch gewijzigde dieren door bewuste/opzettelijke genetische modificatie (bv. genetische invoeging/verwijdering/bewerking, chemische mutagenese of een andere manipulatie van een gameet of embryo, of door de kruising van twee reeds bestaande lijnen).

Zoals beschreven in deel 1, punt 3, van deze richtsnoeren, wordt de schepping van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn in beginsel als een procedure beschouwd. De bij de schepping gebruikte dieren worden vermeld in de jaarlijkse statistieken, behalve de nakomelingen die gegenotypeerd zijn via niet-invasieve methoden en die wildtype-nakomelingen blijken te zijn, d.w.z. geen genetische mutatie vertonen. Dergelijke wildtype-dieren zullen alleen in het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag worden gerapporteerd — zie blz. 65.

Er geldt een uitzondering bij de kruising/terugkruising van **twee lijnen met een niet-pathologisch fenotype** en waar **redelijkerwijs kan worden verwacht** dat de nieuwe lijn **niet** tot een pathologisch fenotype zal leiden; in dat geval is het mogelijk dat een projectvergunning niet vereist is en worden deze dieren vervolgens niet vermeld in de jaarlijkse statistische verslagen — **tenzij** er invasieve genotyperingsmethoden zijn gebruikt.

Bij het rapporteren van dieren in de jaarlijkse statistieken is het belangrijk om elk van de ouderdieren en de nakomelingen afzonderlijk in aanmerking te nemen, aangezien elk dier

---

<sup>9</sup> [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pdf/Consensus\\_document.pdf](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Consensus_document.pdf)

verschillend kan worden gerapporteerd afhankelijk van bijvoorbeeld het vertoonde genotype en fenotype en het lot (zie onderstaande tabel).

#### Rapportage van dieren die worden gebruikt voor de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen

Zodra de lijn bestendig is, moet de rapportage, na voltooiing van de welzijnsbeoordeling en de indeling in de categorieën niet-pathologisch/pathologisch en volgens de ernstgraad (met inbegrip van de heterozygoten en homozygoten), worden ingedeeld in de categorie “Instandhouding van kolonies van bestendig genetisch gewijzigde dieren die niet in andere procedures worden gebruikt”, tenzij zij worden overgedragen voor verder gebruik in wetenschappelijke procedures die dat genotype vereisen.

Dieren van een lijn die als **niet-pathologisch** is ingedeeld, worden in het statistisch jaarverslag gerapporteerd wanneer invasieve genotyperingsmethoden worden gebruikt en het dier wordt gedood en wanneer het in leven wordt gehouden en tot een **niet-beoogd** genotype behoort. Dit wordt gerapporteerd als eerste gebruik. Dieren met het **beoogde genotype** die verder worden gebruikt in wetenschappelijke procedures waarvoor dat genotype vereist is, worden pas aan het einde van de gehele procedure van dat verdere gebruik gerapporteerd.

Dieren van een bestendige lijn die als **pathologisch** is ingedeeld, moeten in de jaarlijkse statistieken worden gerapporteerd, d.w.z. dieren die schade tot uiting brengen en/of dieren die aan invasieve genotyperingsmethoden zijn onderworpen en dat jaar zijn gedood zonder vervolgens in een wetenschappelijke procedure te worden gebruikt.

Nadere informatie over de rapportagevereisten is te vinden in de tabel op de volgende bladzijde.

#### Rapportage van dieren die tussen procedures, projecten, inrichtingen en/of lidstaten worden verplaatst

Wanneer dieren tussen projecten en/of tussen inrichtingen (binnen of tussen lidstaten) worden verplaatst, moet met het oog op nauwkeurige rapportage aan het einde van de levensduur/procedure (“gebruik”) bij de overbrenging informatie over de dieren worden verstrekt, namelijk of er sprake is van dieren

- die in de eerste inrichting geen procedure hebben ondergaan;
  - indien gebruikt in een wetenschappelijke procedure, door de ontvanger te rapporteren aan het einde van die procedure;
  - [NB: Dieren die in de ontvangende inrichting geen procedure hebben ondergaan, worden niet in de jaarlijkse statistieken gerapporteerd. Zij moeten echter worden gerapporteerd door de inrichting waar zij zijn gedood indien zij zijn gedood in het registratiejaar voor het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag — zie punt 3.2].
- die verder worden gebruikt (bv. gegenotypeerd aan de hand van een invasieve methode om het juiste genotype te bevestigen en overgebracht voor gebruik in een wetenschappelijke procedure waarbij dat genotype vereist is);
  - door de ontvanger te rapporteren aan het einde van de procedure;

- of die een “gebruik” hebben voltooid (bv. gegenotypeerd aan de hand van een invasieve methode waarbij is vastgesteld dat het dier niet van het beoogde genotype is) en voor hergebruik worden overgedragen;
  - zowel te rapporteren door de eerste gemachtigde gebruiker die de dieren als eerste gebruik heeft gegenotypeerd, als door de ontvanger aan het einde van het hergebruik.

In de volgende twee tabellen worden typische procedures in het kader van de instandhouding van genetisch gewijzigde dieren opgesomd en wordt een beslissingsschema gegeven om te bepalen of het dier al dan niet onder instandhouding moet worden gerapporteerd in de jaarlijkse statistieken.

1. De eerste tabel bevat dieren die zijn gefokt van een bestendige genetisch gewijzigde lijn met een **niet-pathologisch fenotype**.
2. De tweede tabel bevat dieren die zijn gefokt van een bestendige genetisch gewijzigde lijn met een **pathologisch fenotype**.

1. DIEREN AFKOMSTIG VAN DE INSTANDHOUDING VAN EEN BESTENDIGE LIJN MET EEN NIET-PATHOLOGISCH FENOTYPE

Wat is het genotype van het dier?	Heeft het dier te lijden gehad van schadelijke effecten die toe te schrijven zijn aan de genotypering?	Is de genotypering van het dier uitgevoerd met behulp van een invasieve weefselbemonsteringsmethode die niet is gebruikt voor identificatie <sup>10</sup>	Is het genotype bevestigd zoals verwacht?	Is het dier onderworpen aan andere procedures dan instandhouding of weefselbemonstering? <sup>11</sup>	Werd het dier tijdens het rapportagejaar gedood zonder dat het in andere procedures is gebruikt?	Moet het dier door de (inrichting) projecthouder in de jaarlijkse statistieken worden gerapporteerd voor de instandhouding van de genetisch gewijzigde lijn?	Opmerkingen	Gerapporteerde werkelijke ernst
Niet genetisch gewijzigd	Neen	Neen	Niet vereist	Neen	Ja	NEEN	Slechts om de 5 jaar te rapporteren als onderdeel van het uitvoeringsverslag	Niet vereist
Niet genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Niet vereist	Neen	Ja	JA	Informatie over de ernst van de afzonderlijke weefselbemonstering is pas vereist in het jaar voorafgaand aan het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag. Niettemin wordt aanbevolen om bij de weefselbemonsteringsmethode ook de ernst ervan te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag te vergemakkelijken.	De hoogste ernstgraad als gevolg van de weefselbemonstering
Genetisch gewijzigd	Neen	Neen	Niet relevant	Neen	Ja	NEEN	<b>Genetisch gewijzigde dieren – niet-pathologische lijn:</b> slechts om de 5 jaar te rapporteren als onderdeel van het uitvoeringsverslag	Niet vereist
Genetisch gewijzigd	Onverwacht Ja	Neen	Niet relevant	Neen	Ja	NEEN	Indien zich bij meerdere dieren schadelijke effecten voordoen, moet de welzijnsbeoordeling worden herhaald en moet zo nodig een herindeling van de niet-pathologische naar de pathologische lijn worden overwogen.  Bij herindeling naar een pathologische lijn, is voor de instandhouding van de lijn een projectvergunning vereist.	Niet vereist

<sup>10</sup> Dit verwijst naar alle invasieve weefselbemonsteringsmethoden waarbij het weefsel niet is verkregen door het merken van het dier.

<sup>11</sup> In het zeldzame geval waarin embryotransfer alleen nodig is om commensale organismen uit een fokkolonie te verwijderen (d.w.z. niet ten behoeve van de gezondheid of het welzijn van de kolonie, maar voor een wetenschappelijk doel) moeten de betrokken procedures (bv. embryotransfer, superovulatie waar nodig) worden opgenomen in de jaarlijkse statistieken met de ernstgraad die is geregistreerd als de hoogste ernstgraad ten gevolge van de genoemde procedure.

							Slechts om de 5 jaar te rapporteren als onderdeel van het uitvoeringsverslag	
Genetisch gewijzigd	Onverwacht Ja	Ja	Niet relevant	Neen	Ja	JA	Indien zich bij meerdere dieren schadelijke effecten voordoen, moet de welzijnsbeoordeling worden herhaald en moet zo nodig een herindeling van een niet-pathologische naar een pathologische lijn worden overwogen.  Bij herindeling naar een pathologische lijn, is voor de instandhouding van de lijn een projectvergunning vereist.	
Genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Niet relevant	Neen	Ja	JA	Aanbevolen wordt de weefselbemonstering met de bijbehorende ernst te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag, dat naast de jaarlijkse statistieken voor deze dieren nodig zal zijn, te vergemakkelijken.	De hoogste ernstgraad als gevolg van de weefselbemonstering
Genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Ja	Neen	Neen	NEEN	De invasieve weefselbemonstering (als het <b>verwachte fenotype wordt bevestigd</b> en het dier niet wordt gedood) vormt het eerste deel van <b>een verder gebruik</b> ; de eindgebruiker registreert het dier <u>in de jaarlijkse statistieken</u> wanneer het eindgebruik is voltooid.	De ernstgraad van de weefselbemonstering moet aan de eindgebruiker worden meegedeeld om in aanmerking te worden genomen voor de uiteindelijke gerapporteerde werkelijke ernst.
Genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Ongeschikt genotype	Neen	Neen	JA	De invasieve weefselbemonstering (als het <b>verwachte fenotype niet wordt bevestigd</b> en het dier niet wordt gedood) wordt beschouwd als <b>het eerste gebruik</b> van dat dier; <b>elk volgend gebruik wordt als hergebruik beschouwd</b> .  Aanbevolen wordt de weefselbemonstering met de bijbehorende ernstgraad te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag te vergemakkelijken.	De hoogste ernstgraad als gevolg van de weefselbemonstering

2. DIEREN AFKOMSTIG VAN DE INSTANDHOUDING VAN EEN BESTENDIGE LIJN MET EEN PATHOLOGISCH FENOTYPE

Wat is het genotype van het dier?	Heeft het dier te lijden gehad van schadelijke effecten die toe te schrijven zijn aan de genotypering?	Is de genotypering van het dier uitgevoerd met behulp van een invasieve weefselbemonsteringsmethode? <sup>12</sup>	Is het genotype bevestigd zoals verwacht?	Is het dier onderworpen aan andere procedures dan instandhouding of weefselbemonstering? <sup>13</sup>	Werd het dier tijdens het rapportagejaar gedood zonder dat het in andere procedures is gebruikt?	Moet het dier door de (inrichting) projecthouder in de jaarlijkse statistieken worden gerapporteerd voor de "instandhouding" van genetisch gewijzigde dieren?	Opmerkingen	Gerapporteerde werkelijke ernst
Niet genetisch gewijzigd	Neen	Neen	Niet vereist	Neen	Ja	NEEN	Slechts om de 5 jaar te rapporteren als onderdeel van het uitvoeringsverslag	N.v.t.
Niet genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Niet vereist	Neen	Ja	JA	Aanbevolen wordt de weefselbemonstering met de bijbehorende ernstgraad te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag te vergemakkelijken	De hoogste ernstgraad als gevolg van de weefselbemonstering
Genetisch gewijzigd	Neen	Neen	Niet relevant	Neen	Ja	NEEN	Slechts om de 5 jaar te rapporteren als onderdeel van het uitvoeringsverslag	N.v.t.
Genetisch gewijzigd	Ja	Neen	Niet relevant	Neen	Ja	JA		Hoogste ernstgraad als gevolg van de schadelijke effecten door de genotypering
Genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Niet relevant	Neen	Ja	JA	Aanbevolen wordt de weefselbemonstering met de bijbehorende ernstgraad te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag te vergemakkelijken	De hoogste ernstgraad als gevolg van de weefselbemonstering
Genetisch gewijzigd	Ja	Ja	Niet relevant	Neen	Ja	JA	Aanbevolen wordt de weefselbemonstering met de bijbehorende ernstgraad te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag te vergemakkelijken	Hoogste ernstgraad, rekening houdend met de resultaten van de schadelijke effecten door de genotypering en die van weefselbemonstering

<sup>12</sup> Dit verwijst naar alle invasieve weefselbemonsteringsmethoden waarbij het weefsel niet is verkregen door het merken van het dier.

<sup>13</sup> In het zeldzame geval waarin embryotransfer alleen nodig is om commensale organismen uit een fokkolonie te verwijderen (d.w.z. niet ten behoeve van de gezondheid of het welzijn van de kolonie, maar voor een wetenschappelijk doel) moeten de betrokken procedures (bv. embryotransfer, superovulatie waar nodig) worden opgenomen in de jaarlijkse statistieken met de ernstgraad die is geregistreerd als de hoogste ernstgraad ten gevolge van de genoemde procedure.

Genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Ja	Neen	Neen	NEEN	Het dier wordt niet gedood, maar ondergaat invasieve weefselbemonstering die <b>het eerste deel van een verder gebruik vormt; de eindgebruiker registreert het dier in de jaarlijkse statistieken wanneer het gebruik is voltooid.</b>	Het dier heeft wel/geen nadelige effecten ondervonden als gevolg van de genotypering. De hoogste ernstgraad, rekening houdend met de effecten van zowel de genotypering als de weefselbemonstering moet aan de eindgebruiker worden meegedeeld om in aanmerking te worden genomen voor de uiteindelijke gerapporteerde werkelijke ernst.
Genetisch gewijzigd	Ja	Ja	Ja	Neen	Neen	NEEN	Het dier wordt niet gedood, maar ondergaat invasieve weefselbemonstering die <b>het eerste deel van een verder gebruik vormt; de eindgebruiker registreert het dier in de jaarlijkse statistieken wanneer het gebruik is voltooid.</b>	Het dier heeft wel/geen nadelige effecten ondervonden als gevolg van de genotypering. De hoogste ernstgraad, rekening houdend met de effecten van zowel de genotypering als de weefselbemonstering moet aan de eindgebruiker worden meegedeeld om in aanmerking te worden genomen voor de uiteindelijke gerapporteerde werkelijke ernst.
Genetisch gewijzigd	Neen	Ja	Ongeschikt genotype	Neen	Neen	JA	De invasieve weefselbemonstering (als het <b>verwachte fenotype</b> niet <b>wordt bevestigd</b> en het dier niet wordt gedood maar in leven wordt gehouden voor gebruik in een andere studie waarvoor dat genotype nodig is, of een studie waar het genotype niet belangrijk is) wordt beschouwd als <b>het eerste gebruik</b> van dat dier; <b>elk volgend gebruik wordt als hergebruik beschouwd.</b>  Aanbevolen wordt de weefselbemonstering met de bijbehorende ernstgraad te noteren om het vijfjaarlijkse uitvoeringsverslag te vergemakkelijken	De hoogste ernstgraad als gevolg van de weefselbemonstering

## 3.2. Uitvoeringsverslag om de vijf jaar

### Wettelijke voorschriften voor de lidstaten met betrekking tot de uitvoeringsverslagen inzake genetische gewijzigde dieren

Op grond van bijlage II bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie is vijfjaarlijkse rapportage verplicht met betrekking tot twee afzonderlijke gebieden waarbij genetisch gewijzigde dieren betrokken zijn. Het gaat om:

- dieren die worden gefokt, gedood en niet gebruikt, en die het resultaat zijn van de schepping of instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen;
- dieren die een weefselbemonstering hebben ondergaan, ongeacht de methode die voor het verkrijgen van het weefsel is gebruikt.

De uitvoerige wettelijke voorschriften zijn opgenomen in de delen C.2 en D.3.1 van bijlage II bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie.

#### Dieren die worden gefokt, gedood en niet gebruikt

De richtlijn schrijft voor dat om de vijf jaar een exacte telling moet gebeuren van alle dieren die nodig zijn ter ondersteuning van onderzoek en tests in de EU. Die tellingen worden enerzijds verkregen op basis van de jaarlijkse statistische gegevens voor dat jaar, waarin alle dieren zijn opgenomen die in procedures zijn gebruikt, en worden, anderzijds, om het totale aantal vast te stellen, om de vijf jaar aangevuld door tellingen van alle andere gefokte, gedode en niet in procedures gebruikte dieren. Deze categorie omvat zowel conventionele dieren als dieren die afkomstig zijn van de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren.

Vergeleken met de gegevens van 2017 is het in de toekomstige rapporten vereist dat dieren die gedood werden voor het verkrijgen van organen/weefsel afzonderlijk worden geïdentificeerd.

Het is belangrijk dat de informatie die voor deze gegevenscategorie wordt verstrekt, niet alleen door **gebruikers maar ook door fokkers van dieren wordt gerapporteerd**.

Bij het rapporteren van dieren die het gevolg zijn van de schepping of het fokken van genetische gewijzigde dierlijnen is het met het oog op het uitvoeringsverslag belangrijk om elk van de ouders en de nakomelingen afzonderlijk in aanmerking te nemen, aangezien elk daarvan verschillend kan worden gerapporteerd afhankelijk van het gedemonstreerde genotype en fenotype.

Bij het fokken van een genetisch gewijzigde dierlijn moet deze als genetisch gewijzigd worden gerapporteerd, tenzij bevestigd is (bv. door genotypering, vachtkleur) dat het geen genetisch gewijzigde lijn is.

De lidstaten gebruiken verschillende methoden om deze gegevens te verzamelen. Om de fokkers- en gebruikersgemeenschap meer duidelijkheid te verschaffen, hebben sommige lidstaten ervoor gekozen deze gegevens jaarlijks te verzamelen.

De Europese Commissie heeft een vrijwillig instrument gecreëerd om deze gegevens nauwkeurig te kunnen verzamelen aan de hand van een Excel-template ("User/breeder data



template for MS Implementation Report”, recordtype IR2). Dit kan worden gebruikt om jaarlijkse gegevens te registreren.

De rapportagevereisten worden uitvoerig beschreven in de tabel op bladzijde 68. Aangezien de rapportage-instrumenten van land tot land kunnen verschillen, wordt in de tabel echter alleen verwezen naar de instrumenten die de Commissie ter beschikking stelt.

#### **Aanbevelingen:**

- De lidstaten zouden ervoor moeten zorgen dat de respectieve bevoegde instanties en de wetenschappelijke wereld op de hoogte zijn van en beschikken over de juiste en up-to-date instrumenten voor het verzamelen van gegevens over dieren die worden gefokt, gedood en niet gebruikt vóór het begin van het vijfde jaar van de vijfjarige rapportagecyclus.

#### Weefselbemonstering

In tegenstelling tot de *exacte telling* van alle gefokte, gedode en niet-gebruikte dieren moeten de lidstaten *representatieve* gegevens over weefselbemonstering verstrekken. Het verslag over weefselbemonstering is niet bedoeld om het totale aantal dieren vast te stellen die een weefselbemonstering hebben ondergaan. In plaats daarvan kan met deze gegevens op EU-niveau een analyse worden gemaakt van de soorten, het aandeel van de verschillende gebruikte weefselbemonsteringsmethoden en de daarmee samenhangende ernstgraden zodat de vorderingen bij de toepassing van de drie V's voor weefselbemonstering kunnen worden beoordeeld.

De manier waarop “representatieve gegevens” worden geïnterpreteerd en verzameld, verschilt sterk van lidstaat tot lidstaat. Om verwarring bij de gebruikersgemeenschap te verminderen en de rapportageverplichtingen te vereenvoudigen, hebben sommige lidstaten ervoor gekozen alle gegevens jaarlijks en bij alle fokkers en gebruikers te verzamelen. Andere lidstaten hebben alleen gegevens verzameld voor het laatste jaar van de vijfjarige rapportagecyclus. In sommige gevallen zijn gegevens verzameld bij alle inrichtingen, in andere slechts bij een representatief aantal inrichtingen. In sommige gevallen zijn bij alle betrokken inrichtingen gedeeltelijke gegevens verzameld (bv. gedurende zes maanden tijdens de verslagperiode). In de daaropvolgende vijfjaarlijkse uitvoeringsverslagen worden de criteria vermeld die de lidstaten gebruiken om gegevens te selecteren en in te dienen om ervoor te zorgen dat de verstrekte informatie representatief is. De lidstaten moeten deze criteria tijdig vaststellen en aan de wetenschappelijke wereld meedelen.

Net als bij de gegevens over dieren die worden gefokt, gedood en niet gebruikt, wordt informatie over weefselbemonstering door **zowel gebruikers als fokkers van dieren** gerapporteerd.

In tegenstelling tot de rapportage van gefokte, gedode en niet-gebruikte dieren, kunnen sommige dieren die in het kader van weefselbemonstering worden gerapporteerd, ook worden opgenomen in de jaarlijkse statistische rapportage, hetzij wanneer een dier andere wetenschappelijke procedures heeft ondergaan (zelfs als het weefselmonster is genomen met

behulp van een niet-invasieve methode, of wanneer voor genetische karakterisering overtollig weefsel van het merken is gebruikt), hetzij als gevolg van het gebruik van een invasieve weefselbemonsteringsmethode bij het dier.

Informatie is vereist voor alle soorten die een weefselbemonstering hebben ondergaan. Voor elke soort moeten de betrokken aantallen per gebruikte methode en, indien invasief, de daarmee verband houdende verdeling naar ernst worden gerapporteerd.

Om het verzamelen van gegevens over weefselbemonsteringsmethoden en de daarmee verband houdende ernstgraden te vergemakkelijken, heeft de Europese Commissie twee vrijwillige, aanvullende instrumenten gecreëerd:

- voor **de dieren die in de jaarlijkse statistieken worden gerapporteerd**, aanvullende optionele velden (X-Z) in de Excel-template voor jaarlijkse statistische rapportage om informatie over weefselbemonstering te verzamelen; en

X	Y	Z
<b>Method of tissue sampling</b>	<b>Specify other method</b>	<b>Severity of genotyping</b>
[IG1] Invasive genotyping: blood sampling		
[IG2] Invasive genotyping: ear biopsy		
[IG3] Invasive genotyping: tail biopsy		
[IG6] Invasive genotyping: fin biopsy		
[IG4] Invasive genotyping: toe clipping		
[IG5] Invasive genotyping: other		
[ST1] Surplus tissue from the marking of an animal via ear punch		
[ST2] Surplus tissue from the marking of an animal via toe clipp		

- voor **dieren die niet in de jaarlijkse statistieken worden gerapporteerd**, kan een optioneel Excel-werkblad met aanvullende gebruikersgegevens (“User/breeder data template for MS Implementation Report”, recordtype IR1) worden gebruikt om niet-invasieve weefselbemonstering en het gebruik van overtollig materiaal uit de identificatie/merking van het dier te registreren.

A	J	K
Entry data		
<b>Record type *</b>	<b>Method of tissue sampling</b>	<b>Specify other method</b>
[IR1] Tissue sampling (non-invasive genotyping or from surplus tissue)		
	[ST1] Surplus tissue from the marking of an animal via ear punch	
	[ST2] Surplus tissue from the marking of an animal via toe clipping	
	[NG1] Non-invasive genotyping: hair sampling	
	[NG2] Non-invasive genotyping: observation under special lighting	
	[NG3] Non-invasive genotyping: post mortem	
	[NG4] Non-invasive genotyping: other	

Deze aanvullende instrumenten zullen, wanneer zij samen worden gebruikt, een nauwkeurige rapportage bevorderen. Indien het ene of het andere instrument wordt weggelaten, moet in plaats daarvan een ander nationaal instrument beschikbaar worden gesteld om ervoor te zorgen dat alle nodige informatie voor het uitvoeringsverslag wordt geregistreerd en gerapporteerd.

Wanneer de bovenvermelde instrumenten in een lidstaat worden gebruikt, wordt in de onderstaande tabel aangegeven welke van de instrumenten in welke gevallen moet worden gebruikt, hoe de werkelijke ernst in verband met de weefselbemonstering moet worden gerapporteerd en wie dit moet doen.

**RAPPORTAGE VAN WEEFSELBEMONSTERINGSMETHODEN VOOR HET VIJFJAARLIJKE UITVOERINGSVERSLAG  
MET BEHULP VAN DE DOOR DE EUROPESE COMMISSIE BESCHIKBAAR GESTELDE INSTRUMENTEN**

Genotyperingsmethode	Het dier is gedood na de weefsel bemonstering	Het dier is gebruikt in een (eerste/verdere/andere) <sup>1</sup> procedure nadat weefselmonster is genomen		Rapportage via optioneel Excel-werkblad <sup>14</sup>  - recordtype: [R1] weefselbemonstering	Rapportage door toevoeging van relevante informatie aan het jaarlijkse statistische verslag - kolommen X-Z	Opmerkingen
		Door dezelfde inrichting	Door een andere inrichting			
Niet-invasieve methode of van overtollig weefsel afkomstig van het merken van het dier <sup>2</sup>	Ja	Neen	Neen	JA		Gerapporteerd door de inrichting waar het dier gegenotypeerd en gedood is.

<sup>14</sup> Optioneel Excel-template: "User/breeder data template for MS Implementation Report".

<b>Niet-invasieve methode</b> of van <b>overtollig weefsel</b> afkomstig van het merken van het dier <sup>2</sup>	Neen	Ja	Neen		JA	Informatie over weefselbemonstering wordt toegevoegd in kolommen X-Y in de jaarlijkse statistische rapportage, wanneer het gebruik van dat dier in een procedure is voltooid
<b>Niet-invasieve methode</b> of van <b>overtollig weefsel</b> afkomstig van het merken van het dier <sup>2</sup>	Neen	Neen	Ja	JA		Rapportage van de weefselbemonsteringsmethode gebeurt door de <b>inrichting waar het dier weefselbemonstering heeft ondergaan</b>
<b>Invasieve weefselbemonsteringsmethode</b> – niet van overtollig weefsel afkomstig van het merken van het dier	Ja	Neen	Neen		JA	Weefselbemonstering wordt gerapporteerd als het enige gebruik in de jaarlijkse statistische rapportage in het kader van instandhouding of schepping – de werkelijke ernst van de weefselbemonstering wordt gerapporteerd in beide kolommen “T” en “Z” <sup>3</sup>
<b>Invasieve weefselbemonsteringsmethode</b> – niet van overtollig weefsel afkomstig van het merken van het dier	Neen	Ja in een verder gebruik waarbij dit genotype vereist is	Neen		JA	Voor dit dier worden 2 ernstgraden gerapporteerd: het belangrijkste gebruik en de weefselbemonstering. De werkelijke ernst van de gehele procedure (met inbegrip van de impact van de invasieve genotypering) wordt gerapporteerd in kolom “T”. De ernst in kolom “Z” mag alleen betrekking hebben op de werkelijke ernst van de weefselbemonstering <sup>3</sup>
<b>Invasieve weefselbemonsteringsmethode</b> – niet van overtollig weefsel afkomstig van het merken van het dier	Neen	Ja in een andere procedure, waarbij het specifieke genotype niet vereist is	Neen		JA	De invasieve weefselbemonstering is het eerste “gebruik” en het daaropvolgende gebruik is “hergebruik”. De eerste gebruiker moet in de kolommen “T” en “Z” de werkelijke ernst van de weefselbemonstering rapporteren. Weefselbemonstering wordt gerapporteerd als het eerste gebruik in de jaarlijkse statistische rapportage in het kader van de instandhouding of schepping <sup>3</sup>
<b>Invasieve weefselbemonsteringsmethode</b> – niet van overtollig weefsel afkomstig van het merken van het dier	Neen	Neen	Ja, in een verder gebruik waarbij dit genotype vereist is		JA	Weefselbemonstering wordt pas aan het einde van de gehele procedure gemeld door de inrichting die dat “gebruik” heeft voltooid. Voor dit dier worden 2 ernstgraden gerapporteerd: het belangrijkste gebruik en de weefselbemonstering. De werkelijke ernst van de gehele procedure (met inbegrip van de impact van de invasieve genotypering) wordt gerapporteerd in kolom “T”. De ernst in kolom “Z” mag alleen betrekking hebben op de weefselbemonstering <sup>3</sup> . Informatie over de invasieve weefselbemonstering (de methode en werkelijke ernst) had samen met het dier moeten worden ontvangen.

<b>Invasieve weefselbemonsteringsmethode</b> – niet van overtollig weefsel afkomstig van het merken van het dier	Neen	Neen	Ja, in een andere procedure, waarbij het specifieke genotype <b>niet vereist</b> is		JA	Weefselbemonstering wordt gerapporteerd als het “eerste gebruik” door de inrichting waar het weefselmonster is genomen van het dier (in het kader van de schepping of instandhouding) – de werkelijke ernst in de kolommen “T” en “Z” verwijst daarom naar de werkelijke ernst van de weefselbemonstering <sup>3</sup> . Informatie dat het dier het eerste gebruik reeds heeft voltooid, moet het dier vergezellen. De voorwaarden voor hergebruik zijn van toepassing.
--	------	------	---	--	----	--

1. Eerste gebruik: de weefselbemonstering werd uitgevoerd met behulp van een niet-invasieve methode of met gebruikmaking van overtollig weefsel afkomstig van het merken van een dier, zodat de bemonstering niet als een procedure wordt beschouwd en elke volgende procedure als eerste gebruik wordt beschouwd.

Verder gebruik: met een invasieve methode is een weefselmonster van het dier genomen, het beoogde genotype is bevestigd en het dier is gebruikt (= verder gebruik) in een procedure waarbij dat genotype vereist was.

Hergebruik in een andere procedure: met een invasieve methode is een weefselmonster van het dier genomen (= eerste gebruik), maar vervolgens gebruikt in een procedure waarbij het beoogde genotype niet nodig was.

2. Niet-invasieve weefselbemonstering/gebruik van overtollig weefsel afkomstig van het merken van een dier wordt niet als een procedure/gebruik van een dier beschouwd.
3. De werkelijke ernst die in kolom “Z” wordt gerapporteerd, mag alleen betrekking hebben op de werkelijke ernst van de weefselbemonstering in tegenstelling tot de werkelijke ernst die is gerapporteerd in kolom “T”, die het hoogste niveau van ernst moet weerspiegelen dat het dier tijdens het volledige gebruik ervaart (d.w.z. met inbegrip van de effecten van het genotype, genotypering en het niveau van ernst tijdens andere elementen van de procedure).

#### **Aanbevelingen:**

- De lidstaten zouden de respectieve bevoegde instanties en de wetenschappelijke wereld tijdig in kennis moeten stellen van de bemonsteringscriteria voor “representatieve gegevens” voor het verzamelen van gegevens over weefselbemonstering.
- De lidstaten zouden ervoor moeten zorgen dat de respectieve bevoegde instanties en de wetenschappelijke wereld beschikken over up-to-date instrumenten en informatie over de vereisten voor het verzamelen van gegevens over weefselbemonstering.

## Aanhangsels

### **Aanhangsel I: voorbeelden van databanken van genetisch gewijzigde lijnen**

Links gecontroleerd in maart 2020.

1. Niet-uitputtende lijst van voorbeelden van databanken over genetisch gewijzigde lijnen:
  - <http://www.informatics.jax.org/>
  - <https://www.infrafrontier.eu/>
  - <https://archive.har.mrc.ac.uk/index>
  - <https://www.mousephenotype.org/>
  - <http://zfin.org/>
  - <https://www.xenbase.org/gene/static/geneNomenclature.jsp>
2. Website voor screening op menselijke genen en genetische aandoeningen:  
<https://omim.org>

## **Aanhangsel II: projectaanvraag en -evaluatie voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen**

### Inleiding

De artikelen 36 tot en met 44 van Richtlijn 2010/63/EU bevatten de vereisten voor projectvoorstellen, projectevaluaties en projectvergunningen.

**Deel A** van dit aanhangsel (gebaseerd op bijlage VI bij de richtlijn) is zowel voor projectaanvragers als -beoordelaars bedoeld. Het beschrijft de informatievereisten die van bijzonder belang zijn voor een aanvraag voor de schepping en/of instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen.

Artikel 37 bepaalt welke elementen in een aanvraag van een vergunning voor een project moeten worden opgenomen, namelijk:

- het projectvoorstel,
- een niet-technische samenvatting van het project, en
- informatie over de in bijlage VI bij de richtlijn genoemde elementen.

**Deel B** van dit aanhangsel is voornamelijk bedoeld voor projectbeoordelaars. De nadruk ligt op het projectevaluatieproces, waarbij de aandacht wordt gevestigd op de belangrijkste overwegingen en op de wijze waarop deze tijdens de evaluatie kunnen worden aangepakt. Dit deel is ook van belang voor projectaanvragers, aangezien het een beter inzicht biedt in hetgeen tijdens het evaluatieproces moet worden overwogen om ervoor te zorgen dat aan de verplichtingen van de richtlijn wordt voldaan.

Nadere informatie over de vereisten van de richtlijn is te vinden in de [EU-leidraad voor projectevaluatie en retrospectieve beoordeling](#).

### Deel A: voorbeelden ter illustratie van de essentiële informatie die vereist is in een projectaanvraag inzake genetisch gewijzigde dieren

#### Het projectvoorstel

Het voorstel bevat de belangrijkste wetenschappelijke kwesties die zullen worden behandeld, met inbegrip van het doel van het project (zoals uiteengezet in artikel 5). Het projectvoorstel omvat het indienen van de aanvraag bij de bevoegde instantie, met gegevens over de geplande werkzaamheden en een aanvraag van toestemming daarvoor. Waar passend en toegestaan in de betrokken lidstaat, moet het gebruik van meerdere generieke projecten ([https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pdf/Consensus\\_document.pdf](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pdf/Consensus_document.pdf)) en van vereenvoudigde administratieve procedures zoals beschreven in respectievelijk artikel 40, lid 4, en artikel 42 worden overwogen.

Bij het fokken en in stand houden van uitsluitend genetisch gewijzigde lijnen met een niet-pathologisch fenotype, maar met behulp van invasieve weefselbemonsteringsmethoden, is een projectvergunning vereist. Een dergelijk project kan eenvoudig zijn, waarbij de nadruk vooral ligt op de verfijning en de indeling naar de verwachte ernst van deze procedures.

Projecten voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren zijn over het algemeen noodzakelijk voor fundamenteel of toegepast onderzoek. In dergelijke projecten moet de huidige stand van de kennis worden beschreven waarop dit project zal voortbouwen. In voorkomend geval moeten doelstellingen worden opgenomen die door eerdere projecten zijn bereikt, en de specifieke doelstellingen die aan de hand van dit project moeten worden verwezenlijkt. Het wetenschappelijke dossier moet beknopt worden gepresenteerd en moet worden ondersteund door belangrijke referenties/literatuuronderzoek. Hoewel het niet mogelijk zal zijn gedetailleerde wetenschappelijke doelstellingen te verstrekken wanneer genetisch gewijzigde lijnen worden gecreëerd voor anderen, moet de aanvrager informatie over de te scheppen lijnen en het doel ervan inwinnen bij de gebruikers/kopers van de dieren wanneer dit niet bekend is.

In het voorstel wordt uitgelegd waarom het niet mogelijk is de wetenschappelijke doelstellingen te verwezenlijken zonder gebruik te maken van genetisch gewijzigde dieren, hoe die dieren zullen worden gebruikt, waarom de nieuwe genetisch gewijzigde lijnen nodig zijn en wordt bevestigd dat er geen andere geschikte lijnen beschikbaar zijn. Het kan nodig zijn een systeem op te zetten voor dienstverleningsprojecten (zie hieronder) waarbij informatie wordt verstrekt door klanten die vervolgens wordt getoetst.

#### De niet-technische samenvatting van het project

Het model voor de niet-technische projectsamenvatting is opgenomen in bijlage I, deel A, bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie, en richtsnoeren voor de indiening zullen in een later stadium beschikbaar zijn op [https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/pubs\\_guidance\\_en.htm](https://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/pubs_guidance_en.htm)

#### Lijst van in artikel 37, lid 1, punt c), en bijlage VI bedoelde elementen

De onderstaande tabel bevat een overzicht van de elementen uit bijlage VI die in aanmerking moeten worden genomen in een projectaanvraag. Ze worden hieronder verder uitgewerkt in het kader van genetisch gewijzigde dieren om ervoor te zorgen dat de aanvraag de projectbeoordelaars voldoende informatie verschaft om te kunnen overwegen of toelating moet worden aanbevolen.

	<b>Element uit bijlage VI</b>	<b>Genummerde alinea's waar dit hieronder wordt besproken</b>
I.	Relevantie en rechtvaardiging van het volgende: a) het gebruik van dieren inclusief hun herkomst en geschat aantal en de betrokken soorten en levensstadia;	1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 2, 3



	b) de procedures.	1, 2
II.	Toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning van het gebruik van dieren in procedures.	1f, 1g, 1h, 3
III.	Gepland gebruik van verdoving, pijnstilling en andere pijnverlichtingsmethoden.	3c(i)
IV.	Vermindering, vermijding en verlichting van alle vormen van dierlijk lijden van geboorte tot dood, waar passend.	3c, 1f, 1g, 1h
V.	Gebruik van humane eindpunten.	3c(v)
VI.	Experimentele of observatiestrategie en statistisch model gebruikt om, waar passend, het aantal dieren, hun pijn, lijden en angst en de milieueffecten, tot een minimum te beperken.	3,4,5
VII.	Hergebruik van dieren en het cumulatieve effect op het dier.	3b(iv), 3c(vii)
VIII.	De voorgestelde indeling naar ernst van de procedures.	4
IX.	Vermijden van niet-gerechtvaardigde duplicatie van procedures, waar passend.	3a(i)
X.	Omstandigheden waarin de dieren zullen worden gehuisvest, gehouden en verzorgd.	3c(iv)
XI.	Methoden voor het doden.	3c(vi)
XII.	Bekwaamheid van de bij het project betrokken personen.	6a, 6b

De onderstaande elementen hebben betrekking op zowel de schepping als de instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen, met de bedoeling deze in hetzelfde project te combineren, en moeten in voorkomend geval worden gebruikt. De volgorde is niet gelijk aan de volgorde van de bovenstaande lijst, maar kan gemakkelijker worden gevolgd bij het opstellen van een projectaanvraag.

Momenteel kunnen het scheppen, het fokken en het gebruik van genetisch gewijzigde dieren in Europa in de onderstaande vier categorieën worden ingedeeld:

- 1. Wetenschappelijk project dat het fokken, de instandhouding en het gebruik van dieren omvat, en eventueel de schepping van nieuwe lijnen** (met inbegrip van de kruising van bestaande genetisch gewijzigde lijnen). Alle relevante informatie zal beschikbaar zijn voor de aanvrager en de aanvraag- en evaluatieprocedures moeten eenvoudig zijn.
- 2. Dienstverleningsproject van het type A – Fokken en instandhouding van bestendige genetisch gewijzigde pathologische lijnen voor de bevoorrading van wetenschappelijke onderzoeksgroepen**, bv. ob/ob- en lepr-muizen. Deze zullen vaak op commerciële basis worden gefokt en gehouden, vaak buiten de inrichting die er gebruik van zal maken. De nadelige effecten van de lijnen zullen bekend zijn, zodat de schade gemakkelijk in aanmerking kan worden genomen.
- 3. Dienstverleningsproject van het type B** – In dit geval wordt het scheppen, fokken en in stand houden van genetisch gewijzigde dieren verricht als centrale dienstverlening

**binnen een onderzoekinstelling.** Alle relevante informatie is gemakkelijk beschikbaar bij de opdrachtgevende wetenschapper en de feedback aan de dienstverlener is eenvoudig.

4. **Dienstverleningsproject van het type C** – In dit geval is een groep met een hoog niveau van deskundigheid gevestigd in een inrichting die **niet verbonden is aan de wetenschappelijke gebruiker/onderzoekinstelling** en die volledig commercieel kan zijn. In dit geval worden genconstructen verzonden met het verzoek om nieuwe dierlijnen te scheppen en alle vereiste activiteiten uit te voeren om een bestendige genetisch gewijzigde lijn te produceren, die dan gewoonlijk voor fokken en instandhouding naar de gebruiker wordt gestuurd. De primaire functie van dit soort projecten is **het scheppen van nieuwe lijnen uit genconstructen.**

Deze lijst van projectcategorieën is niet uitputtend en er zijn andere combinaties van processen mogelijk.

De volgende tekst heeft betrekking op enerzijds wetenschappelijke projecten en anderzijds dienstverleningsprojecten.

### 1. Relevantie en rechtvaardiging van de procedures

Er is achtergrondinformatie nodig om inzicht te krijgen in de context van de aanvraag binnen de relevante wetenschappelijke gebieden (of minder vaak, het regelgevingskader).

- a. Het algemene doel van de schepping en/of instandhouding van genetisch gewijzigde lijnen moet duidelijk zijn, zodat de te verwachten resultaten de basis vormen voor de beoordeling van de baten die het project waarschijnlijk zal opleveren. Zorg ervoor dat de achtergrondinformatie specifiek is en een overzicht geeft van het gebruiksgebied, met vermelding van de wetenschappelijke, medische, veterinaire of forensische noodzaak ervan. Gebruik referenties (en/of regelgevingsrichtsnoeren) en resultaten van eerdere werkzaamheden om de belangrijkste punten te ondersteunen.

Beschrijf voor dienstverleningsprojecten de dienst die u zult verlenen en hoe de dienstverlening de gebruikers ten goede komt, in termen van extra voordeel ten opzichte van het zelf doen. Het moet duidelijk zijn welk(e) doel(en) relevant is/zijn voor het project, en er moet mogelijk informatie van klanten worden verkregen om het doel te bepalen en te bewijzen dat er een redelijke verwachting bestaat dat het fokken van de dieren baten oplevert.

- b. **Doel** – in verband met projecten voor de schepping en instandhouding van genetisch gewijzigde dieren kunnen procedures alleen voor welbepaalde doeleinden worden toegestaan (artikel 5 van de richtlijn). Uit de in de aanvraag verstrekte informatie moet duidelijk blijken welke van deze doeleinden van toepassing zijn:

- a) fundamenteel onderzoek;
- b) omzettinggericht of toegepast onderzoek met een van de volgende doelstellingen:

- i) de vermindering, voorkoming, diagnose of behandeling van ziekten, gezondheidsstoornissen of andere afwijkingen, dan wel de gevolgen daarvan, bij mensen, dieren of planten;

- ii) de beoordeling, opsporing, regulering of wijziging van fysiologische toestanden bij mensen, dieren of planten; of
- iii) het welzijn van dieren en de verbetering van de productieomstandigheden voor dieren die voor landbouwdoeleinden worden gefokt;
- c) elke onder b) genoemde doelstelling, tijdens de ontwikkeling, vervaardiging of beproeving van de kwaliteit, doeltreffendheid en veiligheid van geneesmiddelen, levensmiddelen en diervoeders en andere stoffen of producten;
- d) bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier;
- e) onderzoek gericht op het behoud van de soort;
- f) hoger onderwijs of opleiding voor het verwerven, op peil houden of verbeteren van beroepsvaardigheden;
- g) forensisch onderzoek.

De doeleinden d) tot en met g) worden zeer zelden gerapporteerd met betrekking tot het gebruik van genetisch gewijzigde dieren. Als u genetisch gewijzigde dieren wilt scheppen voor de doeleinden d) tot en met g), is het raadzaam contact op te nemen met uw nationale/regionale/bevoegde instantie om na te gaan of het doel correct is toegewezen. Voor projecten die alleen betrekking hebben op de instandhouding van bestaande lijnen, moet “instandhouding” worden geselecteerd in de niet-technische samenvatting van het project en in de statistische rapportage. Het is echter belangrijk dat het algemene gebruiksgebied wordt toegelicht in de projectaanvraag en in de niet-technische samenvatting van het project.

### c. Doelstellingen van het project

Voor een wetenschappelijk project moeten de wetenschappelijke doelstellingen van het project duidelijk worden vermeld. De overgrote meerderheid (> 95 %) van nieuwe genetisch gewijzigde lijnen wordt geproduceerd ten behoeve van fundamenteel onderzoek (de rest voor omzettinggericht/toegepast onderzoek). Dergelijke lijnen worden gebruikt ter ondersteuning van projecten die zijn goedgekeurd om specifieke doelstellingen in een wetenschappelijke discipline te onderzoeken. Dit kan bijvoorbeeld een neurologisch project zijn om de genen te onderzoeken die betrokken zijn bij demyelinisatie (zenuwdegeneratie) met als doel strategieën te ontwikkelen voor de behandeling van slepende ziekten zoals multiple sclerose. In het kader van dat project kan een vergunning worden gevraagd voor de ontwikkeling van een aantal nieuwe genetisch gewijzigde lijnen om de pathogenese (oorzaken) van demyelinisatie te onderzoeken. Een dergelijk project kan alle procedures omvatten die nodig zijn voor het scheppen en in stand houden van deze dieren, en vervolgens het wetenschappelijk gebruik ervan in het kader van één welbepaald werkprogramma.

Voor een wetenschappelijk project zou de aanvraag betrekking moeten hebben op kwesties zoals:

- Waarom zijn dergelijke dieren/lijnen nodig?

- Waarom werd die bepaalde soort gekozen?
- Voor welke studies zullen ze worden gebruikt?
- Welke wetenschappelijke resultaten/doelstellingen zullen worden bereikt door deze dieren te produceren?
- Waarom is elk van de gevraagde procedures voor het scheppen, fokken/in stand houden van deze genetisch gewijzigde lijnen nodig?

Als er sprake is van een dienstverleningsproject, moeten in de aanvraag ook doelstellingen worden omschreven in verband met de hoge kwaliteit van de dienstverlening die anderen in staat moet stellen wetenschappelijke baten te bieden.

**d.** Wanneer de nodige deskundigheid voor de ontwikkeling van genetisch gewijzigde dieren beschikbaar is (binnen de onderzoeksinstelling als een dienstverleningsproject van het type B, of in een andere instelling als een dienstverleningsproject van het type C), kan er een projectaanvraag zijn om nieuwe genetisch gewijzigde lijnen te scheppen om tegemoet te komen aan de behoeften van meerdere onderzoeksgroepen. Daarbij moet worden overwogen om deze deskundigheid aan te wenden voor een efficiënte dienstverlening om tegemoet te komen aan de behoeften van zowel de interne als de bredere wetenschappelijke gemeenschap. Voor een dienstverleningsproject moet de aanvraag betrekking hebben op kwesties zoals:

- de vraag naar de dienstverlening;
- de soorten die zullen worden aangeboden en de relevante ervaring met elk van deze soorten;
- hoe de aanvrager (vóór de schepping/instandhouding) het gebruik en het doel van de dieren zal bepalen;
- welke voordelen deze dienst zou bieden aan eindgebruikers;
- waarom elk van de gevraagde procedures voor het scheppen, fokken/in stand houden van deze genetisch gewijzigde lijnen nodig is.

**e.** Indien passend en toegestaan in de betrokken lidstaat, kunnen projecten met betrekking tot genetisch gewijzigde dieren worden goedgekeurd als meerdere generieke projecten in de zin van artikel 40. Voor dergelijke meerdere, door dezelfde gebruiker uitgevoerde generieke projecten moet voor elke nieuwe lijn nog altijd het doel van de procedures, zoals voorgeschreven in artikel 5 van de richtlijn (zie punt 1b hierboven), correct in de vergunningsvoorwaarden worden vastgesteld en gedocumenteerd. Voor dienstverleningsprojecten moet de interne operationele procedure van de klant voor de opdracht in verband met nieuwe lijnen in de aanvraag worden beschreven, met inbegrip van de organisatie, het beheer en de beoordeling van verzoeken binnen de inrichting. Uit deze procedures moet blijken dat er sprake is van goed bestuur en dat het interne besluitvormingsproces aan een kwaliteitscontrole wordt onderworpen. In deze gevallen waarborgt de interne procedure dat de ontwikkeling van de nieuwe lijn degelijk wordt beheerd zodat de lokale procedures volstaan om aan de vereisten van de projectvergunning te voldoen. Een degelijk beheer van documenten en informatie is van essentieel belang en moet erop gericht zijn dat de documentatie van de besluitvorming voor elke lijn achteraf

beschikbaar en toegankelijk is voor inspectie/toetsing door de bevoegde instantie, zodat de doeltreffendheid van het interne toezicht gewaarborgd blijft. Het is belangrijk dat in de aanvraag en daaropvolgende vergunning het verwachte totale aantal dieren en de bijbehorende ernstgraden volledig zijn vermeld. Na het scheppen van een nieuwe lijn en de bestending ervan moeten deze bestendige lijnen vaak in stand worden gehouden. Voordat de dieren worden verplaatst met het oog op verder gebruik in een project van een gebruiker, moet dan ook een project worden overwogen waarin schepping en instandhouding worden gecombineerd. Wanneer alleen de instandhouding van bestendige lijnen noodzakelijk is, mogen deze worden gefokt en in stand gehouden in het kader van een gespecialiseerd fok-/instandhoudingsproject (dienstverleningsproject van het type A) voordat zij aan een andere gebruiker worden geleverd voor verder gebruik in het kader van diens goedgekeurde project. De vergunning voor dienstverlening kan betrekking hebben op meerdere generieke projecten, maar het is onwaarschijnlijk dat dit ook geldt voor de projectvergunning van de eindgebruiker.

- f. Voor wetenschappelijke projecten moet worden nagegaan of het doeltreffender zou zijn de lijnen te laten produceren in een gespecialiseerde inrichting waar de efficiëntie mogelijk groter is en het dan ook niet nodig zou zijn procedures zoals vasectomie, superovulatie of embryo-ontvangst op te nemen in het project voor wetenschappelijk gebruik.
- g. Voor wetenschappelijke projecten met lijnen die niet binnen dezelfde onderzoeksinstelling worden gecreëerd, moet rekening worden gehouden met vervoersstress, die tot een minimum moet worden beperkt wanneer gameten/embryo's niet kunnen worden ingevoerd/binnengebracht uit de andere inrichting. Wanneer een gespecialiseerde dienst wordt gebruikt, wordt de kwaliteit van de bron als hoog beschouwd, maar het is aan de klant om een zorgvuldigheidsonderzoek te verrichten.
- h. Er moet worden besproken of er off-targeteffecten kunnen optreden en de observatiestrategie om deze op te sporen moet worden opgenomen (deel 2, punt 2).

## 2. Betekenis en effect van mogelijke voordelen

In de aanvragen moet een duidelijk antwoord worden gegeven op de volgende vragen:

- a. Welke voordelen brengt de productie van de genetisch gewijzigde lijnen met zich mee?
- b. Wie profiteert er van de resultaten?
- c. Hoe profiteren zij of welk effect zullen de resultaten van **dit project** hebben?
- d. Wanneer (waar mogelijk) zullen de voordelen worden behaald?

Wanneer een vergunning wordt aangevraagd voor een project dat bedoeld is om meerdere, mogelijk diverse, genetisch gewijzigde lijnen te produceren voor verschillende onderzoeksdoeleinden (doorgaans dienstverleningsprojecten), en dat meerdere generieke projecten omvat, kunnen de belangrijkste voordelen erin bestaan de klanten een doelmatige en doeltreffende dienst van hoge kwaliteit te bieden die wordt verleend door zeer ervaren

specialisten die nauwkeurige, hoogwaardige genetisch gewijzigde dieren leveren met zo weinig mogelijk dieren en zo weinig mogelijk schade voor het welzijn van de dieren.

Voor toepassingen voor de schepping (en instandhouding) van genetisch gewijzigde lijnen ten behoeve van fundamenteel onderzoek (wetenschappelijke projecten) moet een verbintenis tot verspreiding van de resultaten worden aangegaan.

Voor aanvragen in verband met de vergunning van dienstverlening moet een verbintenis worden aangegaan om het overschot tot een minimum te beperken en waar mogelijk lijnen te delen.

### **3. Vaststelling/opname van methoden ter vervanging, vermindering en verfijning van het gebruik van dieren in procedures**

Uitvoerige informatie over de wijze waarop de drie V's worden aangepakt, is te vinden in deel 2 van deze leidraad. Het is van essentieel belang dat aanvragers in hun aanvraag aantonen dat alle relevante aspecten in aanmerking zijn genomen.

Hieronder worden enkele voorbeelden van belangrijke elementen besproken.

#### **a. Vervanging**

In de aanvraag moet duidelijk worden gemaakt waarom het gebruik van de dieren noodzakelijk is, welke alternatieven er in overweging zijn genomen en waarom die alternatieven niet kunnen worden gebruikt. In dit deel moeten de werkzaamheden met betrekking tot de dieren ook in het kader van het algemene wetenschappelijke programma worden geplaatst, d.w.z. welke alternatieven worden er gebruikt voor aspecten van het project en welke bijdragen leveren die alternatieven.

Het kan bijvoorbeeld gaan om:

- i. zoekactiviteiten die zijn verricht of nog zullen worden verricht om na te gaan of de lijnen elders beschikbaar zijn/komen, zodat onnodige duplicatie wordt voorkomen;
- ii. overwegingen om diersoorten te gebruiken die buiten de werkingssfeer van de richtlijn vallen, zoals *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans*.

#### **b. Vermindering**

Dit omvat de overweging van experimentele of observatie-/fokstrategieën om het aantal dieren tot een minimum te beperken. Statistische modellen spelen zelden een rol in de **schepingsfase** van genetisch gewijzigde dieren. Een goed koloniebeheer waarbij vraag en aanbod op elkaar zijn afgestemd, is echter van cruciaal belang voor vermindering. Voorbeelden van te behandelen kwesties:

- i. nagaan welke gentechnologie het meest geschikt is om de wetenschappelijke doelstelling zo efficiënt mogelijk te verwezenlijken;
- ii. hoe zal de monitoring van het aantal dieren, gameten, nakomelingen enz. worden gebruikt om dieren op efficiënte wijze te scheppen en te fokken;

- iii. nagaan of cryopreservatie geschikt is zodat er minder levende dieren in stand moeten worden gehouden;
- iv. bijzonderheden over voorstellen voor hergebruik van dieren en het cumulatieve effect daarvan op de dieren — bv. wildtype-nakomelingen die zijn gegenotypeerd met behulp van een invasieve methode, en die vervolgens worden gebruikt voor superovulatie om wildtype-eicellen te verkrijgen voor genetische manipulatie;
- v. gebruik van dieren voor organen/weefsels;
- vi. verduidelijking van de wijze waarop het gespecificeerde aantal gevraagde dieren is geraamd, bv. het aantal te fokken/te scheppen lijnen, het gevraagde aantal dieren dat een chirurgische ingreep ondergaat enz.

### c. Verfijning

Het volstaat niet om in het algemeen op te merken dat verfijningen zullen worden toegepast. Aanvragers moeten toelichten hoe het gebruik van dieren in de geplande procedures zal worden verfijnd, met inbegrip van de vermindering, vermijding en verlichting van elke vorm van dierenleed, van geboorte tot dood, in voorkomend geval, met inbegrip van:

- i. het geplande gebruik van verdoving, pijnstilling en andere pijnverlichtingsmethoden voor chirurgische procedures die nodig zijn voor het creëren van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn: bv. vasectomie, chirurgische embryotransfer;
- ii. de levensstadia waarin de dieren worden gebruikt — met inbegrip van het gebruik van zeer jonge wijfjes voor het fokken/het oogsten van eicellen;
- iii. de keuze van de weefselbemonsteringsmethoden — gebruik van overtollige weefsels van het merken of indien invasieve methoden worden voorgesteld, motivering waarom niet-invasieve methoden ongeschikt zijn en welke methoden van lokale verdoving/pijnstilling zullen worden gebruikt;
- iv. de omstandigheden waarin de dieren zullen worden gehuisvest, gehouden en verzorgd — bv. immunogecompromitteerde dieren zullen in beschermende omstandigheden worden gehouden om de kans op infectie te verkleinen, gebruik van specifiek voedsel, bv. langere tijd mestvoer in liquide vorm voor jongen die te klein zijn voor hun leeftijd, hogere huisvestingstemperatuur voor kale/haarloze dieren;
- v. het gebruik van humane eindpunten — vooral belangrijk voor pathologische fenotypen, met name wanneer schade een grote impact heeft. Leeftijdsgerelateerde humane eindpunten kunnen significant zijn – bv. doden vóór de leeftijd van 6 maanden wanneer [fenotype] voor het eerst wordt waargenomen;
- vi. de methoden voor het doden — de keuze van de methode voor het doden moet de meest verfijnde methode zijn, bv. de methode van bijlage IV die wordt gebruikt om recipiënte moederdieren te doden na het spenen van door chirurgische implantatie geproduceerde jongen. In sommige gevallen, wanneer weefsels van genetisch gewijzigde dieren vereist zijn, kan het

- nodig zijn een niet in bijlage IV vermelde methode als uitzondering op te nemen in een fok- en instandhoudingsvergunning indien dit het enige “gebruik” is. Voor niet in bijlage IV vermelde methoden moet een specifieke rechtvaardiging worden gegeven, bv. het gebruik van perfusiefixatie is in sommige wetenschappelijke gevallen vereist voor het behouden van de microanatomie;
- vii. een ander lot dat de dieren hebben ondergaan — het lot van de dieren die niet langer voor het fokken worden gebruikt, het hergebruik van wildtype-dieren;
  - viii. beschrijving van de bestaande procedures die ervoor moeten zorgen dat verfijningstechnieken die in de loop van het project naar voren komen, worden toegepast.

#### **4. Indeling naar ernst van de procedures**

Zodra de procedures zijn afgerond en alle toe te passen verfijningen zijn uitgevoerd, moet het mogelijk zijn om aan elke procedure de verwachte ernstgraad toe te kennen.

Voor wetenschappelijke projecten wordt bij de vaststelling van de verwachte ernst ook rekening gehouden met de ernst van het verdere gebruik en met de effecten van de lijn zelf. In sommige gevallen, wanneer het bij de vergunning niet om fokken of instandhouding gaat, moet worden besproken hoe de ernstgraad tot op het ogenblik dat de fokker de dieren levert zal worden verkregen, aangezien daarover in het kader van de “werkelijke ernst” verslag moet worden uitgebracht op het einde van de procedure.

De aanvraag moet informatie bevatten over de procedures die zullen worden toegepast bij het scheppen en in stand houden van genetisch gewijzigde lijnen, de schadelijke effecten die kunnen worden veroorzaakt en de methoden die zullen worden gebruikt om de effecten op de dieren tot een minimum te beperken.

Voor projecten voor dienstverlening van het type A moet rekening worden gehouden met de schade van invasieve genotypering die niet voor identificatie wordt gebruikt, en de schade van instandhouding die zelf effecten zal hebben op het welzijn van de genetisch gewijzigde lijnen.

Voor projecten voor dienstverlening van het type B en C moet niet alleen rekening worden gehouden met de schade als beschreven voor projecten voor dienstverlening (fokkerij en instandhouding) van het type A, maar ook met de schade die voortvloeit uit de scheppingsprocedures (met inbegrip van de onvoorspelbaarheid van schade voor nieuwe genetisch gewijzigde lijnen).

Voor elke procedure moet een indeling naar ernst worden voorgesteld, die de hoogste verwachte ernst weerspiegelt. Informatie over het doelgen moet het mogelijk maken een gefundeerd besluit te nemen over het waarschijnlijke worstcasescenario voor elk individueel dier. Alleen wanneer geen gefundeerd besluit kan worden genomen, moet bij wijze van voorzorgsmaatregel de verwachte ernstgraad worden aangemerkt als “ernstig”. In dat geval



moeten vroege eindpunten worden beschreven om de schade tot het noodzakelijke minimum te beperken.

Voor de procedures die op de dieren worden toegepast, is informatie vereist over

- de frequentie/duur van de procedures;
- de waarschijnlijkheid van schadelijke effecten;
- de ernstgraad en methodologie om de ernst tot een minimum te beperken;
- het monitoringstelsel; protocollen voor de welzijnsbeoordeling;
- humane eindpunten en triggers voor interventies.

Voor routinematig vereiste procedures zoals embryotransfer, superovulatie, chirurgische implantatie van embryo's, en nakomelingen die met pathologisch fenotype zijn geproduceerd of invasieve weefselbemonstering, moeten de mogelijke schadelijke effecten worden toegelicht, evenals de methoden die zijn gebruikt om deze te verminderen, zoals pijnstilling, en moet ervoor worden gezorgd dat de meest verfijnde methoden worden gebruikt.

Bij het creëren van nieuwe lijnen moet rekening worden gehouden met de mogelijke negatieve gevolgen voor de nakomelingen. Deze kunnen worden geanticipeerd aan de hand van informatie over de genen die worden gewijzigd, of aan de hand van informatie over andere lijnen met soortgelijke modificaties. Op sommige lijnen kunnen zich echter onverwachte negatieve effecten voordoen — wanneer deze verder gaan dan de voorspelde ernst, kan het nodig zijn om het project aan te passen.

De ernstgraad moet worden toegewezen overeenkomstig de respectieve toewijzingscriteria in deel II en de voorbeelden in bijlage VIII, en de EU-richtsnoeren inzake een ernstbeoordelingskader, die een voorbeeld bevatten van een genetisch gewijzigde lijn ([model 6, blz. 62](#)).

Naast de maximale ernstgraden voor elke procedure (indeling naar de verwachte ernst) is het belangrijk aan te tonen wat de realistisch verwachte schade is van het gehele project, waarbij rekening wordt gehouden met alle procedures in het hele project. Dit zal de projectbeoordelaar helpen bij het uitvoeren van de schade-batenanalyse. De tabel van de niet-technische samenvatting van het project kan dienen als samenvatting:

Welke soorten en aantallen dieren zullen naar verwachting worden gebruikt? Wat zijn de verwachte ernstgraden en de aantallen dieren in elke ernstcategorie (per soort)?	Soort	Geraamde totaalantallen	Geraamde aantallen naar ernstgraad			
			Terminaal	Licht	Matig	Ernstig
	Muizen	5 400	0	5 000	300	100
	Zebravissen	10 500	0	7 500	2 500	500

## 5. Milieueffect

De milieueffecten moeten waar passend worden verminderd — dit is zelden of nooit van belang voor dit soort projecten, tenzij dat genetisch gewijzigde dieren niet mogen worden vrijgelaten.

## 6. Schade-batenanalyse

In hun schade-batenanalyse bepalen de beoordelaars in welke mate het waarschijnlijk is dat de beoogde baten zullen worden gerealiseerd. In de aanvraag moet worden aangetoond dat de baten groter zijn dan de schade.

- a. Het gebied van genetisch gewijzigde dieren evolueert snel en vereist specifieke kennis en deskundigheid van de bij het project betrokken personen. Dit is een aanvulling op de algemene bekwaamheidsvereisten en verschaft de nodige informatie om de kans op succes te kunnen beoordelen. Het gaat daarbij om vaardigheden, kennis en ervaring om het project doelmatig en doeltreffend te laten verlopen, met inbegrip van ervaring op grond waarvan de methode voor genmanipulatie/-bewerking kan worden gekozen en de integriteit van de lijnen in stand kan worden gehouden zodra deze zijn bestendigd. De eerdere staat van dienst van de onderzoeksgroep en de kwaliteit en betrouwbaarheid van de werkzaamheden die tot het project hebben geleid, zijn relevant. Hoewel voorafgaande ervaring niet noodzakelijk is, is de slaagkans van een nieuwe onderzoeker kleiner en moeten de beoordelaars dit in aanmerking nemen in de schade-batenanalyse, rekening houdend met de deskundigheid die beschikbaar is voor het project. Aan onderzoekers die hun eerste stappen zetten op dit gebied, zal geen vergunning worden ontzegd, maar de slaagkans van wat zij aanvragen moet wel voldoende groot zijn. Uit aanvragen voordienstverleningsprojecten, waaronder projecten die zijn aangemerkt als meerdere generieke projecten, moet blijken dat er voldoende vaardigheden en ervaring zijn om te beslissen of werk dat door anderen wordt aangevraagd (voor type B binnen, of type C buiten de inrichting) rechtmatig kan worden uitgevoerd in het kader van het voorgestelde project (zie deel 1 voor voorbeelden van de soorten besluiten die de aanvrager eventueel moet nemen).
- b. Het aantal succesvolle resultaten zal waarschijnlijk ook toenemen als het project beschikt over voldoende middelen, op het gebied van personeel, faciliteiten en financiering.
- c. Bij aanvragen voor specifieke wetenschappelijke gebieden is het eenvoudiger om aan te tonen dat de baten groter zullen zijn dan de schade. Dat kan moeilijker zijn als de aanvraag betrekking heeft op een meervoudig generiek project. In dit geval moet de waarde van de dienst zelf worden aangetoond, samen met de waarschijnlijke baten die de in het kader van de projectvergunning opgenomen genetisch gewijzigde lijnen voor de wetenschap zullen opleveren.

Deel B: voorbeeld ter illustratie van de evaluatie van voorstellen voor projecten met genetisch gewijzigde dieren

Dit is een proces in twee stappen. Wanneer een beoordelaar advies uitbrengt over de aanvraag, moet hij of zij controleren of de hierboven beschreven informatie in de aanvraag is opgenomen. Dit is de in punt 1 hieronder beschreven verificatie. Wanneer alle informatie is opgenomen, kan de evaluatie worden voortgezet (zie punt 2 hieronder), maar zonder voldoende informatie kan er geen volledige evaluatie plaatsvinden. Voor elk relevant onderdeel moet een kruisverwijzing worden gemaakt naar de bovenstaande elementen om te waarborgen dat de verstrekte informatie van voldoende kwaliteit is om een besluit te kunnen nemen over elk criterium en om te waarborgen dat de informatie aan de wettelijke vereisten voldoet. De onderstaande overwegingen en uitkomsten variëren voor de soorten vergunningen zoals beschreven in deel A. In sommige gevallen zijn vragen en voorbeelden van evaluatieresultaten van toepassing op alle soorten vergunningen. Er worden enkele voorbeelden gegeven waar er verschillen zijn.

1. Bij de projectevaluatie moet worden **geverifieerd** of het project aan de volgende criteria voldoet:

	Vereiste criteria voor de projectevaluatie:	Overwegingen over de wijze waarop projectbeoordelaars aan de verificatievereisten kunnen voldoen	Voorbeelden van evaluatieresultaten met betrekking tot de vereiste essentiële elementen
a)	het project is vanuit wetenschappelijk of onderwijskundig oogpunt verantwoord of wettelijk vereist;	Voor wetenschappelijke projecten heeft de projectbeoordelaar voldoende informatie nodig om te kunnen beslissen of de wetenschap de moeite waard is.  <b>OF</b> Voor dienstverleningsprojecten, met inbegrip van meerdere generieke projecten, hebben de beoordelaars voldoende informatie nodig over: – de manier waarop de rechtvaardiging van het gebruik van dieren tijdens de levenscyclus van het project zal worden bepaald op basis van een lijn/groep per lijn/groep, en	Dit project zal dieren opleveren met mutaties in routes waarvan bekend is of waarvan wordt aangenomen dat zij verband houden met de ontwikkeling van de demyelinisatie. De aldus geproduceerde dieren zullen worden gebruikt om de routes verder te beschrijven, in de hoop dat therapeutische targets kunnen worden aangewezen voor toekomstige ontwikkeling. Naar verwachting zullen verschillende van deze targets worden aangewezen binnen de termijn van vijf jaar waarin dit project plaatsvindt. Deze targets zullen aan andere wetenschappers en potentiële farmaceutische/biotechbedrijven worden bekendgemaakt door publicatie in wetenschappelijke tijdschriften. Voor deze werkzaamheden is er een sterke wetenschappelijke fundering. De groep heeft tot op heden in gerenommeerde tijdschriften gepubliceerd en duidelijk bewijs

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- de manier waarop de wetenschappelijke (of andere) baten zullen worden vastgesteld en</li> <li>- het voordeel dat voortvloeit uit een gespecialiseerde dienst voor anderen.</li> </ul>	<p>geleverd van vooruitgang in de afgelopen vijf jaar, wat erop wijst dat de slaagkans groot is.</p> <p><b>OF</b></p> <p>Voor een dienstverleningsproject van het type A zijn alle te fokken en in stand te houden lijnen bestendige lijnen die verband houden met obesitas. Er is toegezegd dat dieren alleen aan erkende inrichtingen zullen worden geleverd als er een projectvergunning voor deze werkzaamheden is verleend en het vergunningsnummer van het project is verstrekt. Deze groep heeft ervaring met efficiënte fokprocessen die vraag en aanbod op elkaar afstemmen.</p> <p><b>OF</b></p> <p>Voor een dienstverleningsproject van het type B en C is de aanvrager een gerenommeerde deskundige op het gebied van transgene technologie die heeft bijgedragen tot richtsnoeren voor beste praktijken op dit gebied. Alle gevraagde procedures zijn de afgelopen tien jaar uitgevoerd en er zijn bewijzen van verfijningen en maatregelen waardoor het aantal overtollige dieren werd verminderd. Deze groep heeft veel verbeteringen gerealiseerd ter waarborging van de kwaliteit van de lijnen en de genetische integriteit. Er worden systemen voor goed bestuur beschreven die ervoor zorgen dat een nieuwe lijn niet reeds elders beschikbaar is en dat de baten van de productie van elke lijn groter zijn dan de verwachte schade als gevolg van de vereiste scheppingsprocedures. De productie van elke lijn wordt gefinancierd door de klant, en hierbij wordt gecontroleerd of de klant een legitieme wetenschapper/gebruiker is met een hoge verwachting van kwalitatief hoogstaande wetenschappelijke resultaten. Modellen waarop de interne procedures worden geregistreerd moeten alle informatie bevatten die nodig is voor</p>
--	--	--	--

			de besluitvorming en er wordt vermeld dat deze modellen beschikbaar zullen zijn voor inspectie.
b)	de doeleinden van het project rechtvaardigen het gebruik van dieren; en	Het besluit in dit verband omvat een afweging van de verwachte baten en een bepaling van het mogelijke gebruik van alternatieven.	<p>Aangezien demyelinisatie een aantal ziekten veroorzaakt die van jongs af aan leiden tot een handicap, en vaak tot vroegtijdig overlijden, en aangezien dit project de mogelijkheid biedt om potentiële therapeutische targets te identificeren die betere resultaten opleveren, zijn de schepping, het fokken, de instandhouding en het gebruik van genetisch gewijzigde dieren voor dit doel gerechtvaardigd.</p> <p>De aanvrager heeft aangetoond dat hij alternatieve methoden heeft gezocht maar niet gevonden, en de beoordelaars zijn het met hem eens dat er geen alternatieve methoden zijn die het gebruik van genetisch gewijzigde dieren voor dit project kunnen vervangen.</p>
c)	het project is zo opgezet dat de procedures zo humaan en milieuvriendelijk mogelijk kunnen worden uitgevoerd.	De beoordelaar moet ervan overtuigd zijn dat er geen verfijningen kunnen worden opgenomen (waarbij nog steeds de resultaten op het gebied van wetenschap/onderwijs/regelgeving kunnen worden behaald). Milieueffecten zullen waarschijnlijk niet relevant zijn voor dit soort projecten.	Er wordt voldoende informatie verstrekt over de monitoring van de dieren op tekenen van demyelinisatie en er zijn passende eindpunten opgenomen voor de uit te voeren evaluatie (zie hieronder).
<p><i>In sommige gevallen zullen eerdere versies van het project onvoldoende informatie bevatten om deze kwesties te kunnen verifiëren. In deze gevallen moeten specifieke opmerkingen met betrekking tot de tekortkomingen aan de aanvrager worden teruggezonden met het verzoek de aanvraag aan te vullen/te wijzigen. In de meeste gevallen moeten die opmerkingen worden gecombineerd met alle aanvullende informatie die nodig is om de evaluatie van het project te kunnen afronden.</i></p>			

2. De projectevaluatie omvat in het bijzonder:

	Vereiste elementen voor de projectevaluatie:	Voorbeelden van overwegingen over de wijze waarop projectbeoordelaars aan de evaluatievereisten kunnen voldoen	Voorbeelden van evaluatieresultaten met betrekking tot de vereiste essentiële elementen
a)	<p>een beoordeling van de doelstellingen van het project en de voorspelde wetenschappelijke baten of educatieve waarde;</p>	<p>De projectbeoordelaar moet aan de hand van de informatie in de aanvraag bepalen of de wetenschap de moeite waard is. Bijvoorbeeld: zal de schepping van de beschreven genetisch gewijzigde dieren inzicht verschaffen in het ziekteproces of de gevolgen ervan? Is het waarschijnlijk dat, als er kennis beschikbaar is, dit zal leiden tot vorderingen in de richting van therapieën voor patiënten met deze ziekte? Zullen de modellen geldig zijn? Wat zou er verloren gaan als deze werkzaamheden niet worden uitgevoerd?</p> <p><b>OF</b></p> <p>Welke voordelen heeft het gebruik van een centrale dienst voor dienstverleningsprojecten met meerdere generieke projecten?</p> <p>Zullen schepping en instandhouding doeltreffender en doelmatiger zijn, als het op deze manier gebeurt? Zijn er voordelen voor het welzijn van de dieren?</p> <p>Is de besluitvorming over de te produceren lijnen degelijk? Wordt de rechtvaardiging van het gebruik van dieren bepaald op basis van een lijn/groep per lijn/groep, en hoe worden de wetenschappelijke (of andere) baten van elke lijn vastgesteld?</p>	<p><i>Voor een wetenschappelijk project:</i></p> <p>in het kader van dit project worden lijnen van genetisch gewijzigde muizen gecreëerd die vervolgens zullen worden gebruikt om de routes in verband met de afzetting van myeline en/of daarmee verband houdende ontstekingsprocessen te onderzoeken. Naar verwachting zal onze kennis hierdoor vorderingen maken. Die grotere kennis zal als input dienen voor mogelijke behandelingen. Hoewel tijdens dit project geen ontwikkeling van de behandeling wordt verwacht, zal er aanzienlijke kennis aan de literatuur worden toegevoegd, zodat anderen hun aandacht zullen kunnen richten op aannemelijke targets die de kwaliteit en kwantiteit van het leven van deze patiënten op lange termijn kunnen verbeteren.</p> <p><i>Of</i></p> <p><i>Voor een dienstverleningsproject:</i></p> <p>dit team moet aan de hand van zijn vaardigheden een doelmatige en doeltreffende dienst verlenen voor de schepping en instandhouding van hoogwaardige genetisch gewijzigde lijnen, die de basis zullen vormen voor de ontwikkeling van wetenschap, zowel fundamenteel als toegepast op specifieke ziektegebieden. Er wordt vermeld dat elke lijn alleen zal worden geproduceerd na zorgvuldige afweging van de specifieke baten (binnen de context van het afgebakende ziektegebied) die zich waarschijnlijk zullen voordoen, en dat de productiedoeleinden zullen worden gedefinieerd zoals vermeld in artikel 5 en vervolgens kunnen worden gerapporteerd zoals beschreven in Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU van de Commissie.</p>
b)	<p>een beoordeling van de vraag of het</p>	<p>Elk van deze aspecten moet afzonderlijk worden bekeken. Verwijst de aanvrager naar de databanken die</p>	

	<p>project in overeenstemming is met de vereiste</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i. vervanging</li> <li>ii. vermindering</li> <li>iii. verfijning</li> </ul>	<p>zijn vermeld in (<i>deel 2; bijlage 1</i>) of toont hij/zij op een andere wijze aan dat hij/zij op de hoogte is van de 3 V's op dit gebied?</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i. Is er gezocht naar reeds bestaande lijnen? Is er vastgesteld dat schepping noodzakelijk is? Zijn de beoordelaars op de hoogte van relevante alternatieve methoden die door de aanvrager niet als ongeschikt worden uitgesloten? Zijn de beoordelaars van mening dat de aanvrager op geldige en volledige wijze motiveert waarom dieren vereist zijn?</li> <li>ii. Geeft de aanvrager adequaat aan hoe hij/zij het aanbod op de vraag zal afstemmen? Worden er strategieën voor koloniebeheer besproken die suggereren dat er een gedegen kwaliteitscontrole zal zijn en dat overtollige dieren tot een minimum zullen worden beperkt en/of waar nodig zullen worden hergebruikt?</li> </ul> <p><u>Voor wetenschappelijk projecten:</u> geeft de tekst in de aanvraag de garantie dat er zo weinig mogelijk dieren zullen worden gebruikt om degelijke wetenschappelijke kennis te verkrijgen?</p> <p>OF</p> <p><u>Voor dienstverleningsprojecten:</u> geeft de tekst in de aanvraag de garantie dat er zo weinig mogelijk dieren zullen worden gebruikt om vraag en aanbod op elkaar af te stemmen?</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>i. <u>Voor een wetenschappelijk project:</u> deze groep doet veel werk door gebruik te maken van cellijnen en gemengde culturen, maar omdat zenuwweefsel een complexe interactie van celtypen is, kunnen zelfs de meercellige, structureel gerichte in-vitrotechnieken op dit moment niet alle onderzochte bestanddelen reproduceren.</li> </ul> <p><u>Voor alle projecttypen:</u> de groep heeft referentiedatabanken die zullen worden doorzocht naar reeds bestaande lijnen.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ii. <u>Voor alle projecttypen:</u> er zijn strategieën beschreven die erop wijzen dat alle passende maatregelen, zoals fokbeheer van de achtergrondstam en de kolonies, zullen worden genomen om de aantallen tot een minimum te beperken en tegelijkertijd de genetische integriteit en de vermindering van genetische drift in de geproduceerde lijnen te waarborgen.</li> </ul> <p><u>Voor wetenschappelijke projecten en dienstverleningsprojecten van type B en type C:</u> cryopreservatie wordt besproken. Uit de (scheppings-) productiegegevens blijkt duidelijk dat de systemen even efficiënt zijn als die van andere groepen of in veel gevallen zelfs beter. De afgelopen vijf jaar zijn er aanwijzingen dat de praktijken zijn geactualiseerd en verbeterd om deze efficiëntie verder te verhogen en overschotten terug te dringen. Verwacht wordt dat dit de komende vijf jaar zal worden voortgezet.</p>
--	---	--	--

	<p>iii. Aan de hand van overwegingen in punt 1 c) is geverifieerd dat de meest humane methoden worden gebruikt. Dit deel moet hierop voortbouwen en de beoordelaars moeten in staat zijn de verwachte effecten van elk van de opgenomen procedures te bepalen. De aanvrager moet de procedures en de nadelige effecten daarvan voor de dieren hebben toegelicht, zodat de totale schade voor de dieren kan worden vastgesteld.</p> <p><u>Voor alle projecten:</u> de beoordelaar moet bepalen of er voldoende verfijningen worden toegepast bij het fokken van dieren met pathologische fenotypen. De beoordelaar moet overwegen of zich onverwachte nadelige effecten in nieuwe genetisch gewijzigde lijnen zouden kunnen voordoen.</p> <p><u>Voor dienstverleningsprojecten van het type B en het type C en relevante wetenschappelijke projecten:</u> of er voldoende verfijningen moeten worden aangebracht bij superovulatie, vasectomie en transplantatie van embryo's in recipiënte dieren; de beoordelaar moet inzicht krijgen in de relevante percentages van dieren die lijden, hoezeer en hoelang zij lijden, rekening houdend met de toe te passen verfijningen en eindpunten. Bladzijde 23 <a href="#">van het werkdocument over projectevaluatie en beoordeling achteraf</a> kan van nut zijn.</p>	<p>iii. <u>Voor een wetenschappelijk project:</u> wanneer gedemyeliniseerde genetisch gewijzigde lijnen moeten worden gebruikt, wordt een zwakte verwacht, tenzij deze wordt bestreden/voorkomen door de voorgestelde ziekte wijzigende teststoffen. Voor controledieren en wanneer het testproduct niet doeltreffend is, wordt de stadiëring beschreven en worden de stadia afgestemd op de voor elk van de doelstellingen vereiste wetenschappelijke output, waarbij verwacht wordt dat 80 % van de dieren van deze genetisch gewijzigde lijnen zal worden gedood bij het begin van de voorpootzwakte, die zich uit in een verminderde grijpkracht. 20 % wordt gehouden tot de eerste definitieve tekenen van zwakte van de achterpoten. Geen van beide stadia heeft een waarneembaar effect op het vermogen om te eten, te drinken of zich te verzorgen. Wanneer de achterpoten zwak zijn, wordt de bewegingsvrijheid verkleind. Wanneer zwakte van de voorpoten is waargenomen, worden de dieren vier keer per dag gecontroleerd om ervoor te zorgen dat deze zwakte van beperkte duur zal zijn (niet meer dan 18 uur).</p> <p>Op grond van de beschikbare uitvoerige informatie over de veiligheid van deze testgeneesmiddelen kan worden gesteld dat de effecten van de toediening slechts van lichte en voorbijgaande aard zullen zijn dankzij de toedieningsmethode.</p> <p>EN/OF</p> <p><u>Voor wetenschappelijke en dienstverleningsprojecten:</u> het genotype van de meeste fokdieren mag geen schade veroorzaken, op voorwaarde dat de in de aanvraag beschreven bioveiligheidsbarrière intact blijft, wat in het verleden steeds het geval is geweest. Sommige dieren zouden zwak zijn als zij langer dan zes maanden zouden worden gehouden, maar de voor gebruik bestemde dieren moeten op de leeftijd van zes weken worden overgebracht naar project/protocol x en zullen tot die tijd volgens</p>
--	--	---



		<p>Deze kennis moet worden meegenomen in het volgende deel, zodat de indeling naar ernst kan worden bepaald.</p>	<p>beoordeling aan koozijde als normaal worden beoordeeld. Fokdieren van deze lijn worden op of vóór de leeftijd van zes maanden vervangen.</p> <p>De welzijnsrapporten van genetisch gewijzigde dieren moeten voor elke lijn met een pathologisch fenotype worden bijgehouden met het oog op een goede monitoring en communicatie.</p> <p><u>Voor relevante wetenschappelijke projecten en voor dienstverleningsprojecten B en C:</u></p> <p>omdat de door de aangewezen dierenarts bepaalde monitoring van de grimasschalen met passende pijnstilling wordt toegepast, kan voor alle dieren een goede pijnbestrijding worden verwacht, zodat de effecten van implantatie en vasectomie licht zouden moeten zijn en de normale gedragingen binnen 24 uur volledig moeten zijn hersteld.</p> <p>Superovulatie veroorzaakt tijdelijke pijn bij elk dier bij elk van de injecties, maar de impact moet minimaal zijn.</p>
c)	<p>een beoordeling van de indeling van het project naar de ernst van de procedures;</p>	<p>De aanvrager moet een advies geven over de indeling naar de verwachte ernst van elk van de procedures. De projectbeoordelaars moeten de ernst van elke procedure (of reeks procedures) controleren of bepalen en herindelen, zodat deze in overeenstemming is met bijlage VIII, en aangepast aan het specifieke geval in kwestie overeenkomstig deel II van die bijlage, en eventuele aanvullende richtsnoeren van de EU en/of de lidstaten. Indien dit een controleproces is, moet worden bevestigd dat de ingediende indelingen correct zijn.</p>	<p>Wij [de beoordelaars] zijn het eens met het standpunt van de aanvrager met betrekking tot de ernstgraden die zijn toegewezen aan de meeste van de genoemde procedures. Er is echter enige discussie geweest over de waarschijnlijke ernstgraad van sommige van de demyeliniserende lijnen, met name wanneer de verandering en ingrepen leiden tot progressie naar de ernstige klinische aandoening. Wij zijn overtuigd door de argumenten die werden aangevoerd met betrekking tot de monitoring, de stadiëring en de toepassing van vroege eindpunten in stadia, en gezien de relevante vergelijkingsinformatie in bijlage VIII, de EU-richtsnoeren inzake ernstvoorbeelden en de nota van Zintsch<sup>15</sup> zijn wij van mening dat aan procedure x de verwachte ernst “matig” moet worden toegekend in plaats</p>

<sup>15</sup> Zintsch A, Noe E, Reißmann M, Ullmann K, Krämer S, Jerchow B, Kluge R, Gösele C, Nickles H, Puppe A, Rüllicke T, [Guidelines on severity assessment and classification of genetically altered mouse and rat lines](#), (2017).

			<p>van “ernstig”, de door de aanvrager toegekende ernst. Wij zijn het ermee eens dat de procedures y en z “ernstig” zijn. Het (wetenschappelijke en technische) personeel heeft veel ervaring met deze tekenen en de beschreven detectie zal naar verwachting goed zijn.</p> <p>OF</p> <p>Voor een dienstverleningsproject van het type B:</p> <p>wij zijn het eens met het standpunt van de aanvrager met betrekking tot de ernstgraden die zijn toegewezen aan de vermelde procedures. De in stand gehouden lijnen zullen de matige ernst niet overschrijden aangezien deze lijnen meer dan zes weken voordat zich ernstigere tekenen kunnen voordoen, zullen worden overgedragen aan de gebruiker. Er worden toezeggingen gedaan dat transporten van dieren vergezeld gaan van welzijnsbeoordelingen, zodat de eindgebruiker op passende wijze verslag kan uitbrengen. Onverwachte nadelige effecten zullen leiden tot humane doding.</p>
d)	<p>een schade-batenanalyse van het project, waarbij wordt nagegaan of de schade in de vorm van lijden, pijn en angst van de dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat, met inachtneming van ethische overwegingen, en op termijn voordelen</p>	<p><b>Dit moet gebeuren nadat ALLE andere aspecten van de evaluatie zijn voltooid, aangezien alle informatie op dezelfde manier moet worden behandeld.</b></p> <p>De beoordelaars moeten de bladzijden 25-27 van het <a href="#">Werkdocument over projectevaluatie en beoordeling achteraf</a> bekijken. De beoordelaars moeten ervoor zorgen dat de baten in verband met het wetenschapsgebied van het programma realistisch en specifiek zijn voor de beschreven procedures voor het scheppen, fokken en gebruiken (indien inbegrepen) van genetisch gewijzigde dieren.</p> <p>Waar relevant moet een evaluatie worden gemaakt van de voordelen van een centrale dienst die gebruik maakt van de deskundigheid en de staat van dienst van de groep in plaats van andere doorgaans minder gekwalificeerde</p>	<p>Voor een wetenschappelijk project:</p> <p>deze aanvrager heeft in het verleden nog geen vergunning gekregen, maar heeft met deze soorten gewerkt in een andere groep die op dit gebied ervaring heeft, waardoor de slaagkans groter is. Alle vereiste opleidingen zijn gevolgd, zoals beschreven in het kaderdocument voor opleiding en training. Het team is klein, maar wij verwachten dat de beschreven doelstellingen kunnen worden gehaald. Bij zoekopdrachten in PubMed op de aanvrager komen enkele publicaties op dit gebied naar voren, onder meer in twee zeer gerenommeerde tijdschriften.</p> <p>Het beschreven niveau van toezicht en gebruik van scorebladen moet ervoor zorgen dat passende eindpunten worden toegepast om de schade te beperken tot het in deze aanvraag beschreven maximum. De aanvrager heeft zich ertoe verbonden nieuw personeel op te leiden voor de stadiëring van de ziekte en de medewerkers te begeleiden totdat zij bekwaam zijn.</p>

<p>kan opleveren voor mens, dier of milieu;</p>	<p>groepen die de schepping, het fokken en de instandhouding uitvoeren.</p> <p>De beoordelaar van de projectaanvraag moet nagaan welke schade de dieren in de loop van het project waarschijnlijk kunnen/zullen ondervinden.</p> <p>Bij de hierboven besproken schade moet rekening gehouden worden met</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- de waarschijnlijkheid van schadelijke effecten bij nakomelingen, met name bij de schepping;</li> <li>- het monitoringstelsel; protocollen voor de welzijnsbeoordeling, met inachtneming van de voorgestelde verfijningen;</li> <li>- de ernstgraad en methodologie om de ernst tot een minimum te beperken;</li> <li>- humane eindpunten en triggers voor interventies;</li> <li>- de frequentie/duur van de procedures.</li> </ul> <p>Om de waarschijnlijke totale schade als gevolg van het project te kunnen beoordelen, moeten de beoordelaars ook rekening houden met het totale aantal gevraagde dieren, de aantallen waarvan wordt verwacht dat zij bij de verwachte ernst (maximaal) zullen lijden en de percentages die in mindere mate zullen lijden.</p> <p>De slaagkans moet worden beoordeeld door rekening te houden met de beschikbare kennis en vaardigheden en met de vraag of de groep mogelijk de verfijningen zal toepassen en deze naar behoren zal monitoren. Eerdere publicaties over en/of productie van genetisch gewijzigde dieren zijn relevant. Zijn er nieuwe ontwikkelingen voorgesteld die wellicht minder kans van slagen hebben</p>	<p>Voorgesteld wordt om in dit project maximaal 5 400 muizen en 10 000 zebavissen te gebruiken, ~ 400 voor chirurgische ingrepen en de rest voor fokdoeleinden. Verwacht wordt dat slechts ongeveer 20 % van de fokdieren matige en mogelijk 4 % ernstige symptomen zullen vertonen, en dat een groot deel normaal zal lijken bij beoordeling aan kooi-/aquariumzijde.</p> <p>Volgens ons zullen de voordelen, namelijk grotere kennis over het effect van de manipulatie van route p op het demyelinisatieproces, die via publicaties, presentaties en samenwerking zal worden verspreid, zwaarder wegen dan de beschreven voorspelde schade.</p> <p>Voor een dienstverleningsproject, type B:</p> <p>deze aanvrager heeft een bewezen staat van dienst met betrekking tot een doeltreffende en doelmatige productie van door klanten gevraagde lijnen. Terugkerende klanten getuigen van deze kwaliteit, met name wanneer men bedenkt dat er goedkopere opties zijn. Bij zoekopdrachten in PubMed op een klein aantal van de lijnen die de afgelopen vijf jaar zijn gecreëerd en geleverd, blijkt dat er in prestigieuze tijdschriften wetenschappelijke output van hoge kwaliteit is die de wetenschappelijke wereld op verschillende gebieden ten goede komt. De groep is betrokken bij het opleiden van wetenschappers op het gebied van genetische integriteit en het fokken van lijnen om de meest robuuste wetenschap te waarborgen.</p> <p>Dit is een kwalitatief hoogstaand team dat heeft aangetoond te kunnen bijdragen aan het doelmatig en doeltreffend leveren van genetisch gewijzigde lijnen aan degenen die minder in staat zijn dergelijke lijnen van hoge kwaliteit aan te bieden. Het niveau van toezicht, opleiding en gebruik van scorebladen waarborgt dat passende eindpunten worden toegepast om schade te beperken tot niet meer dan het in deze aanvraag beschreven maximum. Voorgesteld wordt om in dit project maximaal 5 400 muizen en 10 000 zebavissen te gebruiken, ~ 400 voor chirurgische ingrepen en de rest voor fokdoeleinden. Verwacht wordt dat slechts ongeveer 20 % van de</p>
---	---	---

		<p>dan gevestigde methoden? In sommige gevallen kunnen bij een kleinere slaagkans de potentiële effecten van de baten als er toch succes wordt behaald, zeer groot zijn — bijvoorbeeld nieuwe technieken.</p>	<p>fokdieren matige en mogelijk 4 % ernstige symptomen zullen vertonen, en dat een groot deel normaal zal lijken bij beoordeling aan kooi-/aquariumzijde.</p> <p>Voor een bewezen capaciteit om bij te dragen aan het doelmatig en doeltreffend leveren van genetisch gewijzigde lijnen aan degenen die minder in staat zijn dergelijke lijnen van hoge kwaliteit te leveren. Het niveau van toezicht, opleiding en gebruik van scorebladen waarborgt dat passende eindpunten worden toegepast om schade te beperken tot niet meer dan het in deze aanvraag beschreven maximum. Voorgesteld wordt om in dit project maximaal 5 400 muizen en 10 000 zebrafissen te gebruiken, ~ 400 voor chirurgische ingrepen en de rest voor fokdoeleinden. Verwacht wordt dat slechts ongeveer 20 % van de fokdieren matige symptomen zal vertonen, en dat een groot deel normaal zal lijken bij beoordeling aan kooi-/aquariumzijde.</p> <p>Wij zijn van mening dat het inzetten van dit hoogwaardige team voor deze dienstverlening aan andere wetenschappers baten oplevert voor de wetenschap, voor vermindering en voor het dierenwelzijn die zwaarder wegen dan de beschreven verwachte schade.</p>
e)	een beoordeling van de wetenschappelijke motiveringen bedoeld in:		
	art. 6 – Methoden voor het doden	Het is onwaarschijnlijk dat er andere specifieke motiveringen/vrijstellingen vereist zijn dan die welke in eender welk project vereist zijn.	
	art. 7 – Bedreigde diersoorten	Waarschijnlijk niet relevant voor projecten met genetisch gewijzigde dieren.	
	art. 8 – Niet-menselijke primaten	Niet gebruikelijk, maar indien aangevraagd is een zorgvuldige motivering vereist (zie <a href="https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/research_and_innovation/ege/ege_ethics_of_genome_editing_opinion_publication.pdf">https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/research_and_innovation/ege/ege_ethics_of_genome_editing_opinion_publication.pdf</a> ).	

	art. 9 – In het wild gevangen dieren	Niet relevant voor deze projecten.	
	art. 10 – In bijlage I genoemde soorten moeten voor gebruik in procedures zijn gefokt, tenzij op basis van een wetenschappelijke motivering een afwijking wordt toegestaan	Indien aangevraagd is een zorgvuldige motivering vereist.	
	art. 11 Zwerfdieren en verwilderde exemplaren van huisdiersoorten	Waarschijnlijk niet relevant voor projecten met genetisch gewijzigde dieren.	
	art. 12 Procedures moeten in een inrichting worden uitgevoerd	Er is geen reden om dit soort projecten buiten een inrichting uit te voeren. Er bestaat andere wetgeving inzake de inperking van genetisch gewijzigde dieren.	
	art. 14 Gebruik van verdoving en pijnstilling	Dit kan specifiek aan bod komen in het deel over verfijning en/of met nadelige effecten van protocollen. Projectbeoordelaars moeten bepalen of het duidelijk is dat verdoving en pijnstilling worden gebruikt bij chirurgische procedures voor de schepping (embryorecipiënten, vasectomie). Ook voor genotypering, tenzij de methode tijdelijk is en de verdoving/pijnstilling traumatischer zou zijn.	Er worden duidelijke beschrijvingen gegeven van de soorten verdoving/pijnstilling, samen met monitoringsystemen, met inbegrip van grimasschalen. Er wordt beschreven dat het advies van de aangewezen dierenarts per geval is ingewonnen. De dierenarts heeft blijk gegeven van goede en actuele kennis van de moderne praktijken op dit gebied. Dit geeft het vertrouwen dat er optimale verdovings- en pijnstillingsprotocollen voor de dieren worden gevolgd.  Voor het oormerken is verdoving overwogen en dit zou in dit geval traumatischer zijn dan de procedure zelf waarbij ervaren medewerkers één oorponsing uitvoeren, een mening die wij delen.

	art. 16 – Hergebruik	<p>Alle dieren die voor gebruik worden gefokt, worden overgedragen naar een gebruiksprotocol (verder gebruik en geen hergebruik). Hergebruik kan zich voordoen, bijvoorbeeld dieren die via een invasieve methode gegenotypeerd zijn en wildtype-dieren blijken te zijn, maar die niet als controle zijn vereist. Het zou om vermindering gaan als deze dieren voor een ander doel kunnen worden gebruikt. Indien daarom wordt verzocht, moet duidelijk worden aangetoond dat aan de voorwaarden van artikel 16 zal worden voldaan (ernstvoorwaarden en onderzoek door een dierenarts).</p>	<p>Het is ongebruikelijk dat hergebruik van sommige wildtype-dieren wordt gepland. Hoewel er wordt gegenotypeerd door oorknippen, gebruikt deze groep ID-chips om de rapportage van continue monitoring te vergemakkelijken en daarom wordt de methode voor weefselbemonstering voor genotypering als gebruik beschouwd. De wildtype-dieren waaraan een werkelijke lichte ernst is toegekend en die zullen worden hergebruikt, zullen worden onderzocht door de aangewezen dierenarts, die meedeelt of de algemene gezondheidstoestand van de dieren volledig is hersteld. Alleen als aan deze twee criteria is voldaan, is hergebruik toegestaan voor procedures waarvan het hoogste ernstniveau matig is. Dit stemt overeen met de wettelijke vereisten en kan worden toegestaan.</p>
	art. 33 Verzorgings- en huisvestingvereisten moeten worden nageleefd	<p>Naast de naleving van bijlage III bij de richtlijn voor alle dieren, moet elke voorgestelde afzonderlijke huisvesting voor muizen die een vasectomie hebben ondergaan, worden beschreven en gemotiveerd.</p> <p>Vermeld moet worden dat alle dieren die immunogecompromitteerd zijn of kunnen zijn, zo nodig in afzonderlijk geventileerde kooien (IVC's) worden gehuisvest (meest verfijnde methode).</p> <p>Alle bijzondere eisen op het gebied van houderij en/of verzorging die relevant zijn voor de specifieke genetisch gewijzigde lijn(en) waarvoor toestemming moet worden verleend, moeten worden vermeld.</p>	<p>Er wordt vermeld dat alle dieren volgens de normen van bijlage III zullen worden gehouden, met de volgende uitzonderingen: afzonderlijke huisvesting van volwassen mannetjes die een vasectomie hebben ondergaan, is gerechtvaardigd op grond van het feit dat scheiding tijdens het paren geen hermenging van nestgenoten mogelijk maakt op ogenblikken waarin zij niet in fokparen zitten. Wij zijn het ermee eens dat dit voor sommige individuen noodzakelijk kan zijn en dat de onderzoeksgroep maatregelen neemt om waar mogelijk sociale huisvesting te behouden.</p> <p>Naar verwachting zullen sommige dieren na de toewijzing van de studie afzonderlijk worden gehuisvest. In het kader van de criteria van de opzet van het experiment wordt geprobeerd de dieren te laten paren met wildtype-dieren, maar dit is nog niet geperfectioneerd en daarom wordt verwacht dat afzonderlijke huisvesting op dit moment in sommige gevallen gerechtvaardigd is. Dit zal niet langer dan drie weken duren, aangezien tegen die tijd de wetenschappelijke eindpunten zullen worden bereikt.</p> <p>Het is bekend dat homozygote jongen van lijn x bijzonder klein zijn en daarom zal het spenen niet vóór dag 28 plaatsvinden.</p>

f)	een besluit over de vraag of, en zo ja wanneer, het project achteraf moet worden beoordeeld	Dit zal doorgaans niet nodig zijn voor dit soort projecten. Indien echter een als “ernstig” ingedeeld fokprotocol nodig is, is een beoordeling achteraf vereist.	<p>Voor een wetenschappelijk project: beoordeling achteraf is vereist vanwege ernstige procedure y.</p> <p>Voor een dienstverleningsproject: er is geen beoordeling achteraf vereist. [Op voorwaarde dat er geen ernstige procedures zijn voorzien, wat doorgaans het geval is.]</p>
----	---	--	--

### Aanhangsel III: bibliografie

Verwijzingen die nuttig kunnen zijn bij de behandeling van bepaalde aspecten van dit document.

- Benavides F, Rüllicke T, Prins JB, Bussell J, Scavizzi F, Cinelli P, Herault Y, Wedekind D, [Genetic quality assurance and genetic monitoring of laboratory mice and rats: FELASA Working Group Report](#), *Lab Anim* 54(2), blz. 135–148, (2020).
- Bonaparte D, Cinelli P, Douni E, Héroult Y, Maas M, Pakarinen P, Poutanen M, Santos Lafuente M, Scavizzi F, Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group, [FELASA guidelines for the refinement of methods for genotyping genetically-modified rodents: a report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group](#), *Lab Anim* Jul 47(3), blz. 134-145 (2013).
- Bussell J, Wells SE, [Talking welfare: the importance of a common language](#), *Mamm Genome* 26, blz. 482–485, (2015).
- Cui Y, Xu J, Cheng M, Liao X & Peng S, [Review of CRISPR/Cas9 sgRNA Design Tools](#), *Interdiscip Sci* 10, blz. 455–465 (2018).
- Eggel M & Walker R, [Replacement or Reduction of Gene-Edited Animals in Biomedical Research: A Comparative Ethics and Policy Analysis](#), *N. C. Law Rev.* 97, 1241, (2019).
- Europese Commissie, [Verslag uit 2019 inzake de statistische gegevens over het gebruik van dieren voor wetenschappelijke doeleinden in de lidstaten van de Europese Unie tijdens de jaren 2015-2017](#), (2020).
- Europese Commissie, [Commission staff working document SWD\(2017\) 353 final/2](#), (2017).
- Europese Commissie, [Verslag over de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt in de lidstaten van de Europese Unie](#), (2020).
- Europese Commissie, [Examples to illustrate the process of severity classification, day-to-day assessment and actual severity assessment](#), (2013).
- Europese Commissie, [Working document on genetically altered animals](#), (2013).
- Europese Commissie, [Uitvoeringsbesluit 2012/707/EU van de Commissie zoals gewijzigd bij 2014/11/EU](#), (2012).
- Bundesinstitut für Risikobewertung, [Severity Assessment of genetically altered mice and rats - Version 2: Recommendation no. 002/2016 by the National Committee \(TierSchG\)](#), (2016).
- Bundesinstitut für Risikobewertung, [Severity assessment of genetically altered fish \(bony fish, teleost fish\): Recommendation No. 001/2015 by the National Committee \(TierSchG\)](#), (2015).
- Fentener van Vlissingen J M, Borrens M, Girod A, Lelovas P, Morrison F and Torres YS, [The reporting of clinical signs in laboratory animals, FELASA Working Group Report](#), *Lab Anim* 49, blz. 267-283, (2015).
- Grune B, Hensel A, Schönfelder G, [Rules for assessing pain in lab animals](#), *Nature* volume 512, blz. 28, (2014).



- Hawkins P, Morton DB, Burman O, Dennison N, Honess P, Jennings M, Lane S, Middleton V, Roughan J V, Wells S, Westwood K, UK Joint Working Group on Refinement BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW, [\*A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: eleventh report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement\*](#), Lab Anim 45(1), blz. 1-13, (2011).
- International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice & Rat Genome and Nomenclature Committee, [\*Guidelines for nomenclature of mouse and rat strains\*](#), (2018).
- International Society for Transgenic Technology (ISTT), [\*Advanced Protocols for Animal Transgenesis\*](#), Springer-Verlag, (2011).
- International Society for Transgenic Technology (ISTT), [\*Statement of Principles - Achieving the 3Rs through responsible work with animals\*](#), (2018).
- Naranjo A, Pintado B y el grupo de trabajo SECAL; [\*Guía práctica para la implementación de la Directiva 2010/63 aplicada a los animales genéticamente alterados\*](#); Animales de Laboratorio, (2017).
- Nationale bevoegde instanties voor de uitvoering van Richtlijn 2010/63/EU betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt, [\*Working document on a severity assessment framework\*](#), (2012).
- Nationaal Comité advies dierproevenbeleid (NCad), Nederland, [\*Genetisch gemodificeerde dieren in voorraad gedood\*](#), (2015).
- Research Animals Department of the RSPCA, [\*Implementing the 3Rs\*](#), (2014).
- Rose M, Everitt J, Hedrich H, Schofield J, Dennis M, Scott E, Griffin G, ICLAS Working Group on Harmonization, [\*ICLAS Working Group on Harmonization: international guidance concerning the production care and use of genetically-altered animals\*](#), Lab Anim Jul, 47(3), blz.146-152 (2013).
- Tröder S, Ebert L, Butt L, Assenmacher S, Schermer B, Zevnik B, [\*An optimized electroporation approach for efficient CRISPR/Cas9 genome editing in murine zygotes\*](#), Plos One, (2018).
- UK Home Office, [\*Efficient Breeding of Genetically Altered Animals Assessment Framework\*](#), (2018).
- Wells DJ, Playle LC, Enser WEJ, Flecknell PA, Gardiner MA, Holland J, Howard BR, Hubrecht R, Humphreys KR, Jackson IJ, Lane N, Maconochie M, Mason G, Morton R, Raymond V, Robinson V, Smith, Watt, [\*Assessing the welfare of genetically altered mice\*](#), Lab. Anim. 40: blz. 111-114, (2006).
- Zintzsch A, Noe E, Reißmann M, Ullmann K, Krämer S, Jerchow B, Kluge R, Gösele C, Nickles H, Puppe A, Rüllicke T, [\*Guidelines on severity assessment and classification of genetically altered mouse and rat lines\*](#), Lab. Anim. 51: blz. 573-582, (2017).
- Zintzsch A, Noe E, Grimm H, [\*Navigating Uncertainties: How to Assess Welfare and Harm in Genetically Altered Animals Responsibly-A Practical Guideline\*](#), Animals 2020 10(5) 857.

## Aanhangsel IV: verklarende woordenlijst

Termen	Betekenis
Age of onset	Leeftijd waarop de eerste symptomen van een ziekte of aandoening zich voordoen bij een individu.
Allel	Een van de verschillende varianten van een gen op dezelfde locus van een chromosoom.
IvD	Instantie voor dierenwelzijn
Achtergrondstam	De stam van een wildtype-muis die wordt gebruikt om gameten/embryo's te creëren voor genetische modificatie en die voor terugkruising wordt gebruikt.
BI	Bevoegde instantie
Commensaal	Een organisme dat op of in een ander organisme leeft en er voordeel uit haalt, zonder dat dit andere organisme daar voor- of nadeel van heeft.
Conditionele lijn	Genetisch gewijzigde lijn die mutaties bevat die op een ruimtelijk beperkte wijze kunnen worden geïntroduceerd/geactiveerd (bv. gebruik van cre/lox-technologie, zie hieronder).
Conventioneel	Afhankelijk van de context. In het geval van huisvesting van dieren zijn dit kooien die aan de bovenzijde open zijn, met lagere niveaus van hygiënecontrole en gezondheidsscreening, en met uitsluiting van bijvoorbeeld individueel geventileerde kooien, rederivatie.
Schepping van genetisch gewijzigde dieren	De ontwikkeling van een nieuwe genetisch gewijzigde lijn door bewuste/ opzettelijke genetische modificatie (bv. genetische invoeging/verwijdering/bewerking, chemische mutagenese of een andere manipulatie van een gameet of embryo, of door kruising van twee reeds bestaande lijnen).
Cre/lox	Moleculair-biologische techniek die wordt gebruikt voor het uitvoeren van deleties, inserties, translocaties en inversies op specifieke plaatsen in het genoom. Maakt weefsel-specifieke en/of tijdgebonden bewerking mogelijk, wat CRISPR-Cas9 niet kan. Er moeten twee genetisch gewijzigde lijnen worden gekruist om de genetische verandering te activeren.

CRISPR-Cas9	Moleculair-biologische techniek die locatiespecifieke genoombewerking in vrijwel elk organisme mogelijk maakt.
Cryopreservatie	Een strategie voor het bewaren van monsters van dierlijk genetisch materiaal (meestal sperma, oöcyten, of embryo's) op zeer lage temperaturen.
Dpf – days post fertilisation	Dagen na bevruchting
DNA	Desoxyribonucleïnezuur – de stof waarvan genen zijn gemaakt.
Distale-falanxbiopsie	De verwijdering van één enkele distale falanx van één teen, gebruikt in beperkte gerechtvaardigde omstandigheden voor genotypering en identificatie van onvolgroeide dieren.
Dystocia	“Moeilijke of abnormale bevalling”: als een foetus het bekken tijdens de geboorte niet verlaat als gevolg van fysieke factoren, ondanks baarmoedercontracties.
Oorbiopsie	Het nemen van een oorweefselmonster.
Oorkerving/oorponsen	Techniek voor de identificatie/genotypering van knaagdieren met behulp van een speciale ponstang om ofwel een kleine (0,5 tot 2 mm) inkerving aan de rand van het oor te maken of om een gaatje in het midden van het oor te ponsen. De positie van het merk bepaalt het ID-nummer volgens een vooraf bepaald schema (bv. het door Hogal e.a. beschreven schema in <i>“Manipulating the Mouse Embryo — A Laboratory Manual, CSH laboratory Press 1994”</i> maakt de identificatie van maximaal 99 verschillende dieren mogelijk).
ES-cellen	Embryonale stamcellen (ES-cellen of ESC's) zijn pluripotente stamcellen die zijn afgeleid van de binnenste celmassa van een blastocyste, een pre-implantatie-embryo in een vroeg stadium.
DWG	Deskundigenwerkgroep
Bestendige lijn	Een nieuwe stam of lijn van genetisch gewijzigde dieren wordt als “bestendig” aangemerkt wanneer de genetische verandering op een stabiele wijze wordt doorgegeven (overgeërfd) gedurende ten minste twee generaties, en er een initiële dierenwelzijnsbeoordeling is afgerond, samen

	met de vaststelling of het hier om een pathologische of niet-pathologische lijn gaat.
GG-dieren	Genetisch gewijzigde dieren — omvatten genetisch gemodificeerde (transgene, knock-out- en anderszins genetisch gewijzigde) dieren en dieren met spontane of geïnduceerde mutaties.
Gameten	Gameten zijn rijpe geslachtelijke voortplantingscellen van een organisme (sperma, eicellen).
Genetische karakterisering	De opsporing en beschrijving van de aanwezigheid van bepaalde genetische kenmerken (bv. allelen) in een organisme.
Genetische integriteit	De kwaliteit die aan een diermodelpopulatie wordt toegekend wanneer de genetische samenstelling ervan getrouw is aan de oorspronkelijke lijn. Het behoud van de genetische integriteit van een dierlijk onderzoeksmodel is van essentieel belang om de reproduceerbaarheid tussen onderzoeken te verbeteren. De integriteit kan in gevaar worden gebracht door genetische besmetting, genetische drift, onvrijwillige selectie en onjuiste labels. De integriteit kan worden gewaarborgd door genetische monitoring (methoden zoals biochemische markers, fenotypische analyse, en meer recentelijk, analyse van microsatelliet-DNA en van enkelvoudige nucleotide polymorfismen (SNP)) en behoorlijk koloniebeheer.
Panel voor genetische integriteit	Reeks welomschreven en unieke punten van het genoom van de vereiste achtergrondstam die middels genetische monitoring moeten worden gecontroleerd om de genetische integriteit te beoordelen. Basen, sequenties zijn gelijk verdeeld over de autosomale chromosomen.
Genotypering	Het proces waarbij verschillen in de genetische samenstelling (genotype) van een individu worden bepaald door de DNA-sequentie van het individu te onderzoeken aan de hand van biologische tests en deze te vergelijken met een referentiesequentie. Genotypering is geen identificatiemethode.

GFP	Groen fluorescent proteïne: vaak gebruikt als label voor expressie (bv. in een bepaald celtype, aangezien GFP kan worden weergegeven met fluorescentiemicroscopie).
Pathologische lijn	Dierlijn met pathologisch fenotype
Pathologisch fenotype	Een dier dat of een lijn die als gevolg van de genetische modificatie waarschijnlijk evenveel, of meer, pijn, lijden, angst of blijvende schade ervaart dan wanneer volgens goed diergeneeskundig vakmanschap een naald zou worden ingebracht.
Heterozygoot	Een organisme met verschillende allelen op een bepaalde locus.
Homozygoot	Een organisme met hetzelfde allel op dezelfde locus in de homologe chromosomen.
Hydrocefalus	Een aandoening waarbij zich te veel <a href="#">hersenvocht (cerebrospinale vloeistof)</a> ophoopt in de <a href="#">hersenen</a> . Dit veroorzaakt doorgaans een verhoogde <a href="#">druk in de schedel</a> .
Immunogecompromitteerde lijn	Een genetisch gewijzigde lijn die geen normale immunologische reactie op de aanwezigheid van vreemde antigenen kan ontwikkelen.
Induceerbare lijn	Een lijn die genetisch is gewijzigd om stille genetische informatie te bevatten die door de wetenschapper tijdelijk kan worden geïnduceerd (d.w.z. geactiveerd). Het betrokken gen komt pas tot expressie na activering door het dier een specifiek inductiemiddel (bv. tetracycline) toe te dienen. Totdat het gen op deze manier tot expressie komt, zullen er zich geen schadelijke effecten van de genmanipulatie voordoen.
IP	Afhankelijk van de context. Intellectuele eigendom (intellectual property) of intraperitoneaal.
Isogeen	Twee lijnen worden isogeen geacht wanneer zij exact dezelfde genetische samenstelling hebben. Wordt ook gezegd van gevallen met dezelfde genetische samenstelling maar met één ander gen (het gen dat wordt onderzocht).
IVC's	Individueel geventileerde kooien.
IVF	In-vitrofertilisatie

Oudere lijn	Oudere dierlijn die werd geproduceerd op een wijze waarop geen monoklonaliteit kon worden gewaarborgd.
Levensduurstudies	Wetenschappelijke en welzijnsobservaties bij genetisch gewijzigde dieren en wildtype-controledieren tijdens de gehele verwachte levensduur van de wildtype-controledieren.
Lijn	Sequentie van generaties van individuen die een reeks genetische factoren overdragen en overerven die de individuele kenmerken bepalen.
Lepr	Bij muizen die homozygoot zijn voor de diabetes spontane mutatie (Leprdb) openbaren zich morbide obesitas, chronische hyperglycemie, atrofie van de bètacellen in de pancreas en ontstaat hyperinsulinemie.
LS	Lidstaat
Mendeliaanse ratio	De verhouding tussen het vóórkomen van verschillende fenotypen in een kruising met eigenschappen onder de controle van één genetische marker op één enkele locus (Mendeliaans karakter). Voorbeeld: wanneer twee ouders (P-generatie) die in één genetisch kenmerk verschillen waarvoor zij beiden homozygoot zijn (met hetzelfde allel op beide chromosomen) met elkaar paren, zijn alle nakomelingen in de eerste generatie (F1) gelijk aan het onderzochte kenmerk in genotype (allemaal heterozygoot) en fenotype dat de dominante eigenschap vertoont. Wanneer individuen van de F1-generatie worden gekruist, verschillen de nakomelingen in de F2-generatie qua genotype en fenotype. In een dominant-recessieve overerving is gemiddeld 25 % homozygoot met de dominante eigenschap, 50 % heterozygoot met de dominante eigenschap in het fenotype (genetische dragers), en 25 % homozygoot met de recessieve eigenschap en komt de recessieve eigenschap dan ook tot expressie in het fenotype. De genotypische ratio is 1: 2: 1, de fenotypische ratio is 3: 1.
Microftalmie	Een ontwikkelingsstoornis waarbij een of beide ogen abnormaal klein zijn.

Mozaïcisme	De aanwezigheid van twee of meer cellijnen met verschillende genotypen in hetzelfde individu. Mozaïcisme kan bij één enkel individu ontstaan als gevolg van een postzygotische mutatie. Ook kan mozaïcisme ontstaan door het introduceren van ES-cellen in een blastocyste, wat leidt tot de ontwikkeling van een individu dat is samengesteld uit cellen van verschillende lijnen.
Meerdere generieke projecten	In het werkdocument over specifieke artikelen van Richtlijn 2010/63/EU wordt artikel 40 als volgt besproken: sommige categorieën projecten omvatten een reeks standaardprocedures die voor een bepaald doel worden toegepast. Deze worden soms “meerdere generieke projecten” genoemd. De procedures zijn over het algemeen goed ingeburgerd en de eventuele gevolgen voor de dieren zijn goed gekend en kunnen tot een minimum worden beperkt. Het is onwaarschijnlijk dat er tijdens de projectevaluatie specifieke nieuwe of omstreden kwesties aan de orde zullen komen. Net als in het geval van een vereenvoudigde administratieve procedure uit hoofde van artikel 42, moeten de procedures in het kader van meerdere generieke projecten voldoen aan de wettelijke voorschriften OF volgens aanvaarde methoden nodig zijn voor productie-OF diagnosedoeleinden.
Voor het eerst gebruikte dieren	Dieren die in een proefopstelling worden gebruikt en die nog niet eerder zijn gebruikt.
NCP	Nationaal contactpunt
NSET	Niet-chirurgische embryotransfer. Een techniek waarbij een zachte, flexibele slang via de baarmoederhals wordt ingebracht in muizen om embryo's (blastocysten) in de baarmoeder te implanteren.
NTS	Niet-technische samenvatting van het project: om ervoor te zorgen dat het publiek wordt geïnformeerd, moet objectieve informatie over de projecten waarbij levende dieren worden gebruikt, in lektaal openbaar worden gemaakt.

	(Richtlijn 2010/63/EU, artikel 43)
Ob/ob of obesitasmuis	Een gemuteerde muis die overmatig eet als gevolg van mutaties in het gen dat verantwoordelijk is voor de productie van leptine, en ernstig zwaarlijvig wordt. Het is een diermodel van diabetes type II.
Off-targeteffect, OTE	Off-targeteffect: niet-specifieke en onbedoelde genetische modificaties, met inbegrip van de activiteit van het gen in een non-target weefsel, of verstoring van een heel ander gen door willekeurige insertie van genetisch materiaal waardoor de verstoring ontstaat.
Fenotype	De waarneembare fysieke eigenschappen van een organisme; deze omvatten het uiterlijk, de ontwikkeling en het gedrag van het organisme.
Penetrantie van het fenotype	Het aandeel individuen met een specifiek kenmerk (fenotype) dat in verband wordt gebracht met een allel.
Procedure	Artikel 3 van Richtlijn 2010/63/EU definieert "procedure" als "elke al dan niet invasieve handeling ten aanzien van een dier voor experimentele of andere doeleinden, [...] die bij het dier evenveel, of meer, pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap." Als zodanig wordt in de richtlijn het scheppen en in stand houden van een genetisch gewijzigd dier als een wetenschappelijke "procedure" beschouwd, als de geboorte of het uit het ei breken bij het dier evenveel, of meer, pijn, lijden, angst of blijvende schade kan veroorzaken als het inbrengen van een naald volgens goed diergeneeskundig vakmanschap.
Indeling naar ernst van de procedure	Uit het eindverslag (2009) van de deskundigenwerkgroep inzake de indeling van wetenschappelijke procedures op dieren naar ernst: aan elke procedure moet een ernstklasse worden toegekend. Dit zal de schade-batenanalyse van het project ten goede komen. De ernst van een procedure wordt bepaald door de mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die het dier tijdens de procedure naar verwachting zal ondervinden. De procedure



	<p>bestaat uit een combinatie van een of meer technische handelingen op het dier die het dier pijn, lijden, angst of blijvende schade kunnen berokkenen. Bij de indeling naar ernst in categorieën wordt rekening gehouden met elke ingreep of hantering ten aanzien van het dier tijdens een bepaalde procedure. De ernstgraad wordt bepaald op basis van de meest ernstige gevolgen die een individueel dier waarschijnlijk zal ondervinden nadat alle passende verfijningstechnieken zijn toegepast.</p>
Rederivatie	<p>Verwijdering van adventieve organismen, zoals virussen, bacteriën en parasieten bij onderzoeksdierlijnen, gewoonlijk door superovulatie van geïnfecteerde dieren en het herimplanteren van embryo's in draagmoederdieren met een hoge gezondheidsstatus.</p>
Reportergen	<p>Reportergenen zijn genen die de detectie of meting van genexpressie mogelijk maken. Ze kunnen worden samengevoegd tot regulerende sequenties of genen die van belang zijn om de plaats of niveaus van expressie te rapporteren. Reportergenen omvatten genen die coderen voor fluorescente proteïne en enzymen die onzichtbare substraten omzetten in luminescente of gekleurde producten.</p>
Reporterlijn	<p>Dierlijn met een reportergen om genexpressie in vivo te kunnen volgen.</p>
Beoordeling achteraf	<p>De bevoegde instantie verricht aan het einde van het project een evaluatie van het volgende:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) of de doelstellingen van het project werden bereikt;</li> <li>b) de schade die de dieren hebben ondervonden, met inbegrip van de gebruikte aantallen en soorten proefdieren en de ernst van de procedures; en</li> <li>c) eventuele elementen die kunnen bijdragen tot het verder in praktijk brengen van de vereiste vervanging, vermindering en verfijning. Zie Richtlijn 2010/63/EU, artikel 39.</li> </ul>
Dienstverleningsproject	<p>Project voor het verlenen van een dienst aan andere wetenschappelijke gebruikers om genetisch gewijzigde lijnen te scheppen en te karakteriseren totdat ze zijn bestendig, en/of</p>

	bestendige en genetisch gewijzigde pathologische lijnen te fokken en in stand te houden om wetenschappelijke onderzoeksgroepen te bevoorraden.
Stam	Synoniem van "lijn"
Superovulatie	Het proces om bij een wijfje de ovulatie zo te induceren dat er meer eicellen vrijkomen dan gebruikelijk.
Onderdrukte lijn	Lijn waarin één genactiviteit is onderdrukt (in tegenstelling tot "geïnduceerde lijn").
Staartbiopsie/toppen van de staart	Een oudere procedure voor genotypering van transgene dieren, waarbij het distale deel van de staart van het dier wordt afgesneden.
TALEN's	Transcription activator-like effector nucleases (TALEN's) zijn restrictie-enzymen die ontworpen kunnen worden om specifieke DNA-sequenties door te knippen.
Drie V's / 3 V's	Vervanging, vermindering, verfijning
Gebruik, hergebruik en verder gebruik	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Het "gebruik" van een dier binnen een project begint vanaf het moment waarop de procedure (of de eerste procedure/techniek van een reeks) op dat dier wordt toegepast en eindigt op het moment dat de observaties, of de verzameling van gegevens (of andere producten) voor een bepaald wetenschappelijk doel (gewoonlijk één enkel experiment of test) zijn voltooid.</li> <li>- "Hergebruik" verwijst naar het volgende gebruik van een dier dat reeds een procedure (of een reeks procedures/technieken) voor een welbepaald wetenschappelijk doel heeft voltooid. In artikel 16 over hergebruik wordt dit gedefinieerd als gebruik als ook een dier kan worden gebruikt dat nog niet eerder een procedure heeft ondergaan. In artikel 16 worden ook de omstandigheden gedefinieerd waaronder een dier mag worden hergebruikt.</li> <li>- "Verder gebruik" is een term die niet in de richtlijn is opgenomen, maar die gebruikt kan worden om de situatie te beschrijven als het eenmalige "gebruik" van een dier zich uitstrekt over meer dan één project of over verschillende procedures binnen hetzelfde project. De term wordt nader toegelicht in bijlage III bij Uitvoeringsbesluit 2020/569/EU,</li> </ul>

	deel B.2.2.3. Deze regeling kan projectaanvragen vereenvoudigen en onnodige herhaling voorkomen. Genetisch gewijzigde dieren van een “fokprocedure” worden doorgaans verder gebruikt in een “gebruiksprocedure”.
Vasectomie	Chirurgische ingreep om een dier te steriliseren waarbij de zaadleiters worden onderbroken om te voorkomen dat sperma doorgang vindt en waarbij de testikels blijven zitten.
Welzijnsbeoordeling	Aan de hand van een uitgebreide welzijnsbeoordeling kunnen problemen op het gebied van welzijn in kaart worden gebracht. Bij deze beoordeling wordt vastgesteld of er behoefte is aan gespecialiseerde houderij/verzorging, en dit kan helpen bij het onderscheid tussen pathologische en niet-pathologische lijnen. Zie uitvoerigere definities in deel 2, punt 5, van deze richtsnoeren. Nadere informatie over het uitvoeren van welzijnsbeoordelingen is te vinden in deel 3 van deze richtsnoeren.
Wildtype (kan worden afgekort tot WT in onderzoeksdocumenten)	Een dier dat geen genetische wijziging heeft ondergaan.
ZFN's	Zinkvingernucleasen (ZFN's) zijn synthetische proteïnen die voor gentargeting worden gebruikt.

## **HOE NEEMT U CONTACT OP MET DE EU?**

### **Kom langs**

Er zijn honderden Europe Direct-informatiecentra overal in de Europese Unie. U vindt het adres van het dichtstbijzijnde informatiecentrum op: [https://europa.eu/european-union/contact\\_nl](https://europa.eu/european-union/contact_nl)

### **Bel of mail**

Europe Direct is een dienst die uw vragen over de Europese Unie beantwoordt. U kunt met deze dienst contact opnemen door:

- te bellen naar het gratis nummer: 00 800 6 7 8 9 10 11 (bepaalde telecomaandieners kunnen wel kosten in rekening brengen),
- te bellen naar het gewone nummer: +32 22999696, of
- een e-mail te sturen via: [https://europa.eu/european-union/contact\\_nl](https://europa.eu/european-union/contact_nl)

## **WAAR VINDT U INFORMATIE OVER DE EU?**

### **Online**

Informatie over de Europese Unie in alle officiële talen van de EU is beschikbaar op de Europa-website op: [https://europa.eu/european-union/index\\_nl](https://europa.eu/european-union/index_nl)

### **EU-publicaties**

U kunt publicaties van de EU downloaden of bestellen op: <https://op.europa.eu/nl/publications> (sommige zijn gratis, andere niet). Als u meerdere exemplaren van gratis publicaties wenst, neem dan contact op met Europe Direct of uw plaatselijke informatiecentrum (zie [https://europa.eu/european-union/contact\\_nl](https://europa.eu/european-union/contact_nl)).

### **EU-wetgeving en aanverwante documenten**

Toegang tot juridische informatie van de EU, waaronder alle EU-wetgeving sinds 1952 in alle officiële talen, krijgt u op EUR-Lex op: <http://eur-lex.europa.eu>

### **Open data van de EU**

Het opendataportaal van de EU (<http://data.europa.eu/euodp/nl>) biedt toegang tot datasets uit de EU. Deze gegevens kunnen gratis worden gedownload en hergebruikt, zowel voor commerciële als voor niet-commerciële doeleinden.



Bureau voor publicaties  
van de Europese Unie