

Proefopzet	[REDACTED]	Auteur:	[REDACTED]
Creatie:	04-01-2013	Laatste wijziging:	04-01-2013
Status proefopzet:	Goedgekeurd	Status experiment:	Afgesloten

ALGEMEEN**Project**

Projectnummer: [REDACTED]
Project titel: Microbiologisch kwaliteitsbeheer
Projectleider(s): [REDACTED]
Startdatum project: 01-01-2010

Dierproef

Titel dierproef: Microbiologisch screening van (transgene) muizen in dierkamers via verklikkermuizen
Aard van de dierproef: 2-Onderdeel van een lopend project
Dierproef behoort tot het onderzoek van het: NVI
Lab/Unit/Afd: ARC
Geplande inzetdatum: 01-02-2013

Dierproef behoort nu tot
het onderzoek van
Intravacc.

Diernummers: 1-96
Duur dierproef: 1 jaar
Doorlooptijd proefopzet 1 jaar of minder
Art. 9
Art. 9 Vervanger: [REDACTED]
Art. 12: [REDACTED]
Medewerkers: [REDACTED]
Tijdschrijven op: [REDACTED]

VRAAGSTELLING**Project****Geef een beknopte samenvatting van de achtergrond van het project.**

Doel van het project is het verbeteren en handhaven van de microbiologische kwaliteit van proefdieren en dierproeven. Dit is nodig omdat infecties kunnen leiden tot ziekte en sterfte bij proefdieren, infecties bij medewerkers (zoönosen) en eventueel invloed kunnen hebben op de resultaten van dierexperimenteel onderzoek. Het is dus van belang om de actuele microbiologische status van de dieren vast te stellen.

Welke concrete vraag / vragen wilt u met dit project beantwoorden?

Heeft er een verandering in de microbiologische status van de proefdieren plaats gevonden gedurende het experiment?

Wat is het maatschappelijk belang van het project?

Infecties kunnen leiden tot ziekte en sterfte bij dieren, hetgeen vervolgens gepaard kan gaan met een toename in de mate van ongerief en een grote spreiding in resultaten van dierexperimenteel onderzoek. Tijdig inzicht in de microbiologische status draagt eraan bij om de kwaliteit van een experiment te waarborgen en biedt tevens de mogelijkheid om op tijd een eventuele dreiging van een zoönotische infectie vast te stellen. Hierdoor kunnen adequate maatregelen genomen worden voor de veiligheid van de medewerkers.

Wat is het wetenschappelijk belang van het project?

Screening van de microbiologische status biedt inzicht in de wijze waarop andere omstandigheden dan de experimentele, eventueel invloed hebben gehad op het resultaat van het onderzoek. Hierdoor kan de wetenschappelijke waarde van de resultaten beter ingeschat worden.

Dierproef**Welke concrete vraag / vragen wilt u met deze dierproef beantwoorden?**

Vindt er een verandering plaats in de microbiologische status van de proefdieren gedurende het experiment?

Geef aan waarom deze vraag dient te worden beantwoord met behulp van een dierproef en waarom middels het voorgestelde diermodel.

De microbiologische screening van dierproeven via verklikkerdieren gebeurt d.m.v. serologische screening op anti-stoffen (eventueel PCR voor confirmatie) tegen verschillende (potentieel) pathogenen micro-organismen. Dit kan alleen in levende dieren. De verklikkerdieren zijn dezelfde diersoort als de dieren in experiment. De dieren in experiment kunnen echter doorgaans niet gebruikt voor de serologische screening, omdat de leeftijd van de dieren veelal niet correct is en de onderzoeker niet wil dat bij zijn proefdieren op gezette tijden een bloedje wordt afgenomen.

Geef aan hoe de vraagstelling van de dierproef gerelateerd is aan de vraagstelling van het project.**Noem hierbij eventueel aannames die nodig zijn om het verband te leggen of relevante bevindingen van voorgaande proeven onder vermelding van bijbehorend proefopzetnummer.**

Infecties bij proefdieren kunnen effect hebben op de resultaten van een onderzoek en/of leiden tot infecties bij medewerkers (zoönosen). Om te achterhalen of microbiologische status van de dieren in experiment gedurende het experiment verandert, wordt gebruik gemaakt van verklikkerdieren. Dit zijn dieren die niet mee doen in het betreffende dierexperiment, maar wel geplaatst zijn in de omgeving van dieren in experiment. Door op gezette tijden deze verklikkerdieren serologisch te screenen, krijg je een representatief beeld van de microbiologische status van de dieren in experiment.

PROEFOPZET

Uit de antwoorden op de hieronder geformuleerde vragen dient duidelijk te worden dat deze proef de potentie heeft om de eerder geformuleerde vraagstelling van de dierproef te beantwoorden. Om de leesbaarheid te bevorderen dienen minder algemeen gebruikte afkortingen verklaard te worden.

Beschrijf de experimentele- en controlegroep(en) en de (be)handelingen die zij ondergaan.

N.v.t.

Geef aan hoe de resultaten statistisch worden geanalyseerd.

N.v.t.

Schets het 'experimental design' van de dierproef, zodat de essentie van de proefopzet duidelijk wordt.

Om gedurende een experiment de microbiologische status van dieren in experiment te kunnen screenen worden de bakjes met verklikkerdieren tussen de bakjes van dieren in experiment geplaatst. Om een representatief beeld van de microbiologische status van dieren in experiment te verkrijgen, worden de verklikkerdieren serologisch gescreend. Ervaring heeft geleerd dat 8 tappunten per kamer voldoende zijn om een correct beeld van de microbiologische status in een kamer te krijgen. Acht tappunten wil zeggen dat 8 bakjes met 2 verklikkerdieren op diverse plekken in de kamer zijn geplaatst. Per tapmoment (ieder 6-7 weken) worden alle tappunten (8 bakjes met 2 dieren) bemonsterd. Per tappunt is 150 ul serum nodig (100 ul voor virologische controle, 50 ul voor bacteriologische controle). Per dier kan ongeveer 100 ul serum worden verzameld (= 8 druppels bloed). Daarom zitten per tappunt 2 dieren in een bakje.

Is voor de opzet van de proef overleg gepleegd met een statisticus? Zo ja, met wie? Zo nee, waarom niet?

Welke randomisatie maatregelen zijn er genomen t.a.v. groepsindeling en volgorde van experimentele handelingen? Indien geen maatregelen zijn genomen, geef aan waarom.

De dieren worden ad random in de bakjes geplaatst. De bakjes worden random over de kamer verdeeld, waardoor een zo groot mogelijk gebied bestreken wordt ten opzichte van de gehuisveste dieren in experiment. Daarnaast worden de bakjes van de verklikkerdieren wekelijks van plaats gerouleerd. Wekelijks wordt uit alle experimentele bakken feces verzameld die na mengen over de bakken van de verklikkerdieren wordt verdeeld.

Zijn er nevenfactoren, zoals verschil in huisvesting of verschil in behandelingstijdstippen tussen experimentele- en controle groep(en), die de behandelingseffecten ongewild zouden kunnen verstoren?

N.v.t.

Welke maatregelen zijn genomen om de aanwezigheid van nevenfactoren te voorkomen? Indien geen maatregelen zijn genomen, geef aan waarom.

N.v.t.

Geef een motivatie voor het aantal dieren (bv. met behulp van een power-analyse).

FELASA adviseert een sample size van 10. Ervaring leert dat 8 tappunten per kamer voldoende zijn om een correct beeld van de microbiologische status per kamer te krijgen.

Het totaal aantal verklikkerdieren per jaar is gebaseerd op 1 jaar lang 3 kamers met 16 verklikkerdieren bemonsteren. Daar de verklikkerdieren tot een maximale leeftijd van 6 maanden bemonsterd kunnen worden*, zijn 2 groepen verklikkerdieren per jaar nodig. Totaal zijn dus $3(\text{kamers}) \times 16(\text{dieren per kamer}) \times 2(\text{groepen dieren per jaar}) = 96$ dieren benodigd.

* 6 maanden is een maximum omdat voor de bacteriologische serologie na 6 maanden specifieke reacties in de ELISA optreden.

Vat samen hoe u de vraagstelling van de dierproef denkt te kunnen beantwoorden met de voorgestelde proefomschrijving. Speculeer daarbij over mogelijke uitkomsten (bijvoorbeeld verhogend dan wel verlagend effect van de behandeling) en hoe elk van deze mogelijke uitkomsten antwoord geeft op de vraagstelling(en) van de dierproef.

Met behulp van verklikkerdieren wordt inzicht verkregen in de microbiologische status van dieren in experiment en kan worden vastgesteld of de microbiologische status tijdens het experiment gewijzigd is.

Geef tot slot een beknopte samenvatting van het doel van het project en de concrete vraag die met de dierproef beantwoord moet worden (maximaal 5 regels). Deze samenvatting wordt opgenomen in het DEC advies en in de jaarlijkse reportage van de DEC aan de Inspectie.

Het doel is het verbeteren en handhaven van de microbiologische kwaliteit van proefdieren en dierproeven. Dit is nodig omdat infecties kunnen leiden tot ziekte en sterfte bij proefdieren, infecties bij medewerkers (zoönosen) en eventueel invloed kunnen hebben op de resultaten van dierexperimenteel onderzoek. M.b.v. verklikkerdieren wordt de microbiologische status van dieren in experiment gemonitord.

Bijzonderheden t.b.v. de wetenschappelijke toetsingscommissie (WTC)

Bijzonderheden t.b.v. de dierexperimentencommissie (DEC)

UITVOERING

Geef een overzicht van de experimentele handelingen ten behoeve van de uitvoering van de dierproef door biotechnici.

Proefbeschrijving**Screening via verklikkermuizen.**

Wanneer in een dierkamer langer dan 3 maanden achter elkaar dieren gehuisvest worden, dan worden de dieren in die dierkamer gescreend d.m.v. verklikkerdieren.

Procedure screening via verklikkerdieren vindt plaats zoals beschreven in [REDACTED] "Procedure microbiologische screening van dieren in spf-fokpopulaties en experimentele units".

16 verklikker muizen worden ad random over 8 bakjes verdeeld. De bakjes worden vervolgens over de kamer verdeeld en wekelijks gerouleerd. De verklikkermuizen moeten zodanig gemerkt worden, dat opeenvolgende screenings per dier te herleiden zijn (zie specifiek punt 3.3. in [REDACTED]).

Wekelijks wordt uit alle experimentele bakken wat verse feces verzameld, na mengen wordt dit over de bakken van de verklikkerdieren verdeeld.

Elke 6-7 weken wordt bij alle verklikkerdieren d.m.v. orbita punctie onder algehele anaesthesie (isofluraan in zuurstof) 8 druppels bloed afgenomen. Inzending van de sera geschiedt volgens een jaarlijks opgesteld schema. De sera moeten uiterlijk op de woensdag van de betreffende week worden ingeleverd bij MKB. Een week voorafgaand aan de inzending dient MKB hiervan op de hoogte worden gebracht wegens planning. Het serum moet met een volledig ingevuld inzend formulier aangeboden worden bij MKB, waarna het serum gecontroleerd zal worden op de aanwezigheid van anti-stoffen volgens [REDACTED].

Als de dieren 6 maanden oud zijn, worden de dieren geëuthanaseerd en vervangen door een nieuwe groep verklikkerdieren.

Op indicatie van MKB kunnen de geëuthanaseerde dieren eventueel aangeboden worden voor pathologisch onderzoek.

WTC (Wetenschappelijke Toetsing Commissie)

Discussie wetenschappelijke toetsing:

DIEREN

Diersoort: muis

Stam	RivmN:NIH			
Geslacht	Vrouwelijk			
Aantal	96			
Leeftijdswaam (weken)	3-4 weken			
Gewichtswaam (grammen)				
Microb. status	spf			
Herkomst	XXXXXXXXXX			
Locatie	XXXX			
Kooitype	macrolon II			

Geslacht**Wanneer u voor één geslacht kiest, graag motiveren waarom voor dit geslacht is gekozen?**

Gedurende 24 weken zitten 2 muizen in een bakje. Bij mannelijke dieren is er eerder kans op vechten.

Speciale wensen t.a.v. de proefdieren:

MKB (Microbiologisch kwaliteitsbeheer)**Herkomst:**

Zijn de dieren herkomstig uit een ander dierproef?: Nee

Verplaatsing:

Worden de dieren tijdens de dierproef verplaatst naar een andere locatie?: Nee

Micro-organismen:

Worden in het kader van de dierproef micro-organismen ingebracht?: Nee

Biologisch materiaal:

Wordt er in het kader van de dierproef biologisch materiaal ingebracht?: Nee

Bijzonderheden t.b.v.MKB:**AGENTIA**

Stofnaam	Chemisch/Biologisch materiaal?	Klassificatie

1. Welke maatregelen zijn er te nemen ter bescherming persoon en omgeving?
2. Vindt er uitscheiding plaats via urine, faeces, longen, bloed of haar?
3. Welke maatregelen moeten er genomen worden bij besmetting huid, ogen of prikaccident?
4. Welke maatregelen moeten er genomen worden bij morsen op kleding, vloer, tafel, etc. ?
5. Hoe moet de stof zelf, gecontamineerde bedding en kadavers afgevoerd worden?

WELZIJN**Beschrijf en kwantificeer de aard van het ongerief**

Wanneer men het ongerief niet goed kan inschatten, raadpleeg de proefdierdeskundige

Ongerief per (bio)technische handeling incl. de gevolgen daar van				
Handeling	Aard van het ongerief	Mate ongerief	Duur ongerief	Kans ongerief
Orbitapunctie	bloedafname onder algehele anesthesie	gering/matig	< 3 min	100%
Euthanasie	Verbloeden onder algehele anesthesie	gering	< 3 min	100%

Ongerief door andere omstandigheden dan strikt de experimentele handelingen				
Omstandigheid	Aard van het ongerief	Mate ongerief	Duur ongerief	Kans ongerief

Gecumuleerd risico op ongerief voor het hele experiment / per experimentele groep	
alle dieren in experiment	gering/matig

Anesthesie:

Worden de dieren tijdens de dierproef onder anesthesie gebracht?

Ja

Geef een specificatie van de anesthesie die wordt gebruikt per dierexperimentele handeling.

	Anesthesie keuze		Handeling(en)
1	isofluraan in O2	voor	Orbitapunctie
2	isofluraan in O2	voor	Verbloeden
3		voor	
4		voor	
5		voor	

Analgesie:

Zullen dieren als gevolg van de dierproef pijn ondervinden?: Nee

Gebruikt u een analgeticum?: Nee

Kooiverrijking:

Kooiverrijking wordt standaard toegepast! Is er bezwaar tegen toepassing van kooiverrijking? Nee

Individuele huisvesting:

Moeten de dieren individueel gehuisvest worden? Nee

Klinische Effecten:

Verwachte klinische effecten (gedetailleerd beschrijven a.u.b.):

nvt

In geval van meer dan matig ongerief, wat zijn de humane eindpunten?

Euthanasie:

Worden de dieren gedurende of aan het eind van de dierproef gedood? Ja

Geef een specificatie van de euthanasiemethode: Cervicale dislocatie + verbloeden

Gebeurt euthanasie onder anesthesie?: Ja

Geef een specificatie van de anesthesiemethode: isofluraan in O2

Bijzonderheden:

Bijzonderheden t.b.v. art. 14

3 V's

Geef aan waarom deze vraag dient te worden beantwoord met behulp van een dierproef en een dierproef-vrije aanpak niet mogelijk is.

De microbiologische screening van dierproeven via verklikkerdieren gebeurt d.m.v. serologische screening op anti-stoffen (eventueel PCR voor confirmatie) tegen verschillende (potentieel) pathogenen micro-organismen. Dit kan alleen in levende dieren. De verklikkerdieren zijn dezelfde diersoort als de dieren in experiment. De dieren in experiment kunnen echter doorgaans niet gebruikt voor de serologische screening, omdat de leeftijd van de dieren veelal niet correct is en de onderzoeker niet wil dat bij zijn proefdieren op gezette tijden een bloedje wordt afgenomen.

Vindt er momenteel door u of door andere groepen onderzoek plaats naar mogelijkheden voor vervanging van proefdieren ter beantwoording van uw onderzoeksvraag?. (Voor zover dit elders gebeurt geef literatuurreferenties)

Welke maatregelen zijn genomen ter vermindering en verfijning van het proefdiergebruik?

Verfijning: kooiverrijking, bloedtappen en euthanasie door bekwaam en getraind personeel (biotechnici)

Vermindering: FELASA adviseert 10 monsters per kamer. De ervaring heeft geleerd dat 8 monsters per kamer toereikend zijn.

CODERING

- Bijzonderheid dier:** 1. Gewoon dier
Herkomst en hergebruik dieren: 1. Gereg. fok/toelevering in Nederland
Doel van de proef: 37. Andere wetensch. vraag
Belang van de proef: 1. Gezondheid/Voed. Ja
Wettelijke bepalingen: 1. Geen wettelijke bepalingen
Toxicologisch onderzoek, incl. veiligheidsonderzoek: 1. Geen toxicologisch onderzoek
Bijzondere technieken: 1. Geen van deze technieken
Anesthesie: 4. Is wel toegepast
Pijnbestrijding, postoperatief of op ander tijdstip: 1. Is niet toegepast (geen aanleiding)
Mate van ongerief: 2. Gering/matig

Aantal Dieren:	Mate van ongerief:

- Toestand dier na eind proef:** 1. Dood in de proef/dood na de proef

BIJLAGEN

ADDENDUM

AUTORISATIE HISTORIE

(7-2-2013 15:58:28) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]
(19-2-2013 7:50:14) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]
(2/25/2013 10:08:22 AM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]
(27-2-2013 8:17:27) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]
(27-2-2013 15:49:13) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED]
(5-3-2013 9:16:20) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED]
(6-12-2013 2:00:50) Mail gestuurd door de serveragent DPA-DEC advies validatie, wegens komende verstrijken van het DEC advies.

AUTORISATIE**Verantwoordelijke Art 12 functionaris:**

(7-2-2013 15:58:28) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:**Verantwoordelijke onderzoeker (Art. 9)**

Naam: [REDACTED]

Vervanger: [REDACTED]

(19-2-2013 7:50:14) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]

WTC Autorisatoren:**Opmerkingen:****Offerte Autorisatoren:**

(5-3-2013 9:16:20) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED]

Bestelnummer:

Opmerkingen:**MKB Autorisatoren:**

(27-2-2013 8:17:27) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:**BVF Autorisatoren:****Opmerkingen:****Art. 14 Autorisatoren:**

(2/25/2013 10:08:22 AM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:

DEC Autorisatoren:

(27-2-2013 15:49:13) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

©Intravacc 2014 Alle rechten voorbehouden