

JAARVERSLAG 2023

Proefdierfaciliteit

Het Nederlands Kanker Instituut



Colofon

Het jaarverslag proefdierfaciliteit 2023 is samengesteld
door medewerkers van de proefdierfaciliteit van
het Nederlands Kanker Instituut
Plesmanlaan 121
1066 CX Amsterdam
Website: www.nki.nl

Inhoudsopgave

Afkortingen

Voorwoord

Proefdieronderzoek in het NKI

- Wetten en vergunningen
- Ethische normen
- Registratie
- Openheid en transparantie
- De faciliteit

Begrippen

- Dierproeven versus proefdieren
- Speenlingen
- Fundamenteel en translationeel onderzoek
- Ongerief
- 3V's

Verantwoording aantallen en complexiteit

Inzage in aantallen proefdieren

Onderverdeling van werkzaamheden met proefdieren met aantallen

- Dierproeven
 - Bedrijfsvoering
 - Breeding en monitoring
 - Experimenten
- Export
- Fok
- Gedood in voorraad

Diersoorten

Trends 2018-2023

Herplaatsing

Successen en verbeterpunten

Inspecties

Vooruitblik

Naslagwerk en extra informatie

Bijlage

Afkortingen

3V's	Verfijning, Vermindering, Vervanging
ALURES	Animal Use Reporting EU System
AVL	Antoni van Leeuwenhoek
CCD	Centrale Commissie Dierproeven
EARA	European Animal Research Association
EU	Europese Unie
GEMM	Genetically Engineered Mouse Model
IVC	Individually Ventilated Cage
IvD	Instantie voor Dierenwelzijn
NKI	Nederlands Kanker Instituut
NTS	Niet-Technische Samenvatting
NVWA	Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit
qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction
SID	Stichting Informatie Dierproeven
Wod	Wet op de dierproeven

Voorwoord

Als uiting van onze wens open en transparant te zijn presenteren wij hier het jaarverslag van de proefdierfaciliteit van het NKI waarin wij informatie met betrekking tot het proefdiergebruik in 2023 geven. Het is belangrijk om deze getallen te onderbouwen. Naast een overzicht van het aantal dierproeven, benodigd voor experimenten, bieden we ook inzicht in de bedrijfsvoering van de proefdierfaciliteit in relatie tot het totaal aantal proefdieren. Daarnaast geven we een inzage in de trends om zowel intern als nationaal een perspectief te bieden op de ontwikkeling van het veld. Als laatste geven we in dit jaarverslag de successen en verbeterpunten weer en een planning voor de toekomst.



Els Hermans, hoofd proefdierfaciliteit, blikt terug: “2023 was een jaar waarin we een verdere afname zagen in het totaal aantal proefdieren vanwege de inspanningen die we deden in het kolonienmanagement, de interactie met de onderzoekers en de inzet van innovatieve technologieën om het aantal dieren dat niet gebruikt wordt om experimentele data te verkrijgen, te beperken waar mogelijk. We zagen onze bijdrages terug in verschillende toonaangevende publicaties.” (Zie ook paragraaf naslagwerk en extra informatie).

“En we hadden een mijlpaal te vieren”, gaat Hermans verder, “in september organiseerden we een symposium ter ere van het 10-jarig bestaan. Die dag hebben we de samenwerking met interne en externe onderzoekers in de schijnwerpers gezet en onze bijdragen aan de inzichten en ontwikkeling van kankermedicijnen verder toegelicht.”

Hermans besluit: “Met het ondertekenen in 2022 van de transparantie-overeenkomst wilden wij laten zien dat we geloven dat openheid en transparantie zullen bijdragen tot een beter begrip over de noodzaak van het gebruik van proefdieren in kankeronderzoek. Dit uitgebreide jaarverslag sluit prima bij deze doelstelling aan.”

Proefdieronderzoek in het NKI

In het Nederlands Kanker Instituut zetten professionals zich dagelijks in voor de strijd tegen kanker. Een cruciaal onderdeel in deze strijd is het gebruik van proefdieren. In dit verslag presenteren we de jaarcijfers van het proefdieronderzoek op uitgebreide wijze en reflecteren we op deze jaarcijfers.

Het Nederlands Kanker Instituut (NKI) vormt samen met het in kanker gespecialiseerde ziekenhuis, het Antoni van Leeuwenhoek, een comprehensive cancer center. In het NKI werken wetenschappers dagelijks aan het doorgronden van de complexe oorzaken van kanker en het optimaliseren van behandelmethoden. Dankzij intensieve samenwerking tussen onderzoekscentrum en kliniek, kunnen we bevindingen direct inzetten voor de verbetering van de patiëntenzorg in het Antoni van Leeuwenhoek (AVL). Dat is al meermalen succesvol gebleken.

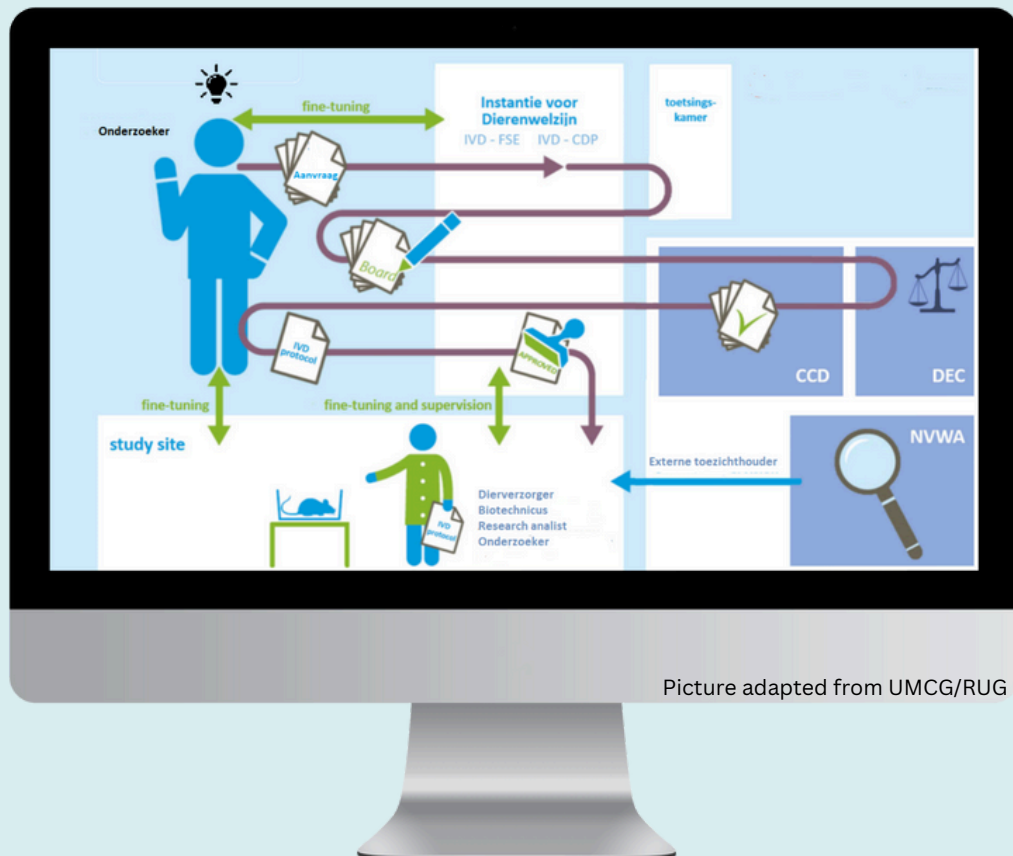


Proefdieren hebben in het verleden altijd een sleutelrol gespeeld bij medische doorbraken en zijn nog steeds onmisbaar voor de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde behandelmethoden.

Daarom hebben we binnen het NKI een proefdierfaciliteit waar speciaal opgeleide medewerkers onder de meest zorgvuldige omstandigheden voor de proefdieren zorgen. In het NKI houden we vooral ratten en muizen. Een belangrijk gegeven is dat wetenschappers alleen dieren voor hun onderzoek mogen gebruiken wanneer er geen alternatief voorhanden is. Er gelden strikte regels en wetten waar ze zich aan moeten houden en per onderzoeksproject is een projectvergunning nodig.

Wetten en vergunningen

Als wetenschappers experimenten met dieren willen doen moeten ze een gedetailleerde licentiaaanvraag voor het onderzoek maken waarin ze de doelstellingen van het onderzoek, de methoden, de diersoorten en dieraantallen die nodig zijn, én de maatregelen die het welzijn van de dieren waarborgen omschrijven.



Ethische normen

Deze licentiaaanvraag dient de onderzoeker in bij de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) van het NKI. De aanvraag wordt dan afgestemd met de IvD die erop toeziet dat het dierenwelzijn en de wettelijke vereisten in orde zijn. Na deze beoordeling en eventuele aanpassing van de licentiaaanvraag gaat het projectvoorstel naar de Centrale Commissie Dierproeven (CCD). Zij sturen het naar een Dier Ethische Commissie (DEC) die de aanvraag vervolgens evalueert op basis van ethische overwegingen waaronder de afweging tussen het verwachte wetenschappelijke of educatieve nut en de mogelijke nadelige gevolgen voor de dieren.

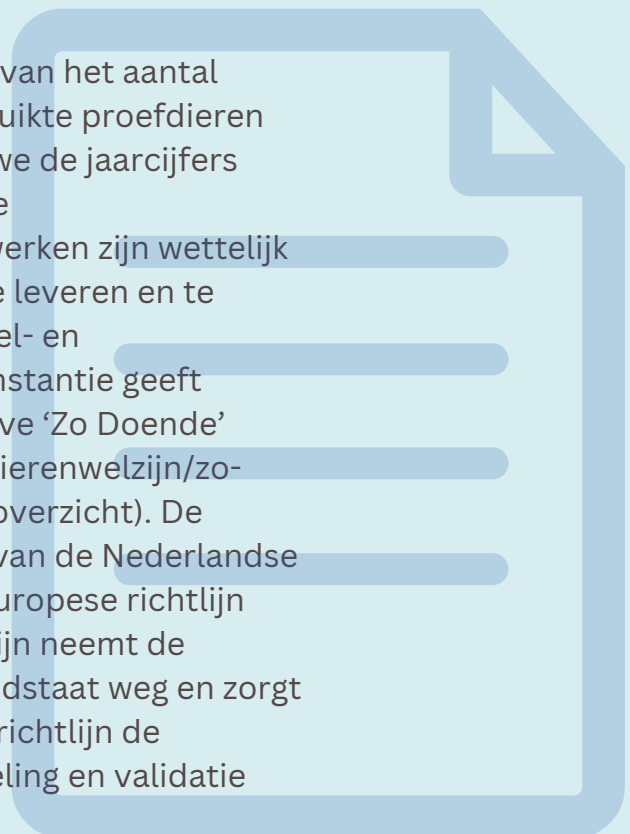
De DEC kijkt ook grondig naar mogelijke alternatieven voor het gebruik van dieren, en of er voldoende aandacht is voor verfijning (d.w.z. dat een dier zo min mogelijk pijn of ongerief ervaart). Verder kijken ze of het aantal dieren tot een minimum wordt beperkt, met in achtneming van statistische power. Als de DEC met de licentia aanvraag instemt, legt ze het ter goedkeuring voor aan de CCD die controleert of de licentia aanvraag voldoet aan alle wettelijke eisen die gelden voor dierproeven. De CCD geeft vervolgens een vergunning voor het onderzoek af. Het onderzoek staat gedurende de uitvoering onder toezicht van de IvD.



In het NKI maakten we de keuze met overkoepelende licenties te werken waarvan de net technische samenvattingen (NTS-en) te vinden zijn op de Europese webste (<https://webgate.ec.europa.eu/envdataportal/web/resources/alures/submission/nts/list>). Deze vergunde licenties dekken een specifiek en goed omschreven deel van het onderzoeksdomein af waaronder via het indienen en goedkeuren van gedetailleerde protocollen dierproeven kunnen worden uitgevoerd (die opnieuw door de IvD geëvalueerd worden).

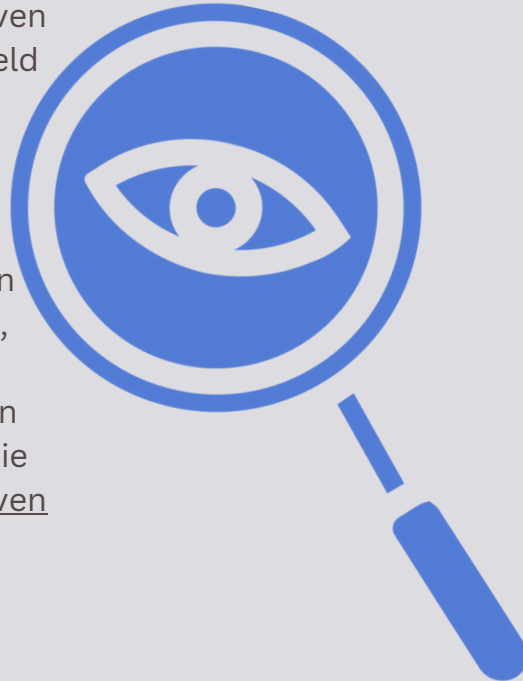
Registratie

We houden een zorgvuldige registratie bij van het aantal afgeronde dierproeven en het aantal gebruikte proefdieren per jaar. Het daaropvolgende jaar maken we de jaarcijfers bekend. Onderzoeksinstellingen en andere vergunninghouders die met proefdieren werken zijn wettelijk verplicht om jaarlijks hun jaarcijfers aan te leveren en te verantwoorden bij de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA). Deze overheidsinstantie geeft hiervan een overzicht in de jaarlijkse uitgave 'Zo Doende' (<https://www.nvwa.nl/documenten/dier/dierenwelzijn/zo-doende/publicaties/zo-doende-2022-jaaroverzicht>). De NVWA houdt ook toezicht op de naleving van de Nederlandse Wet op de dierproeven (Wod) waarin de Europese richtlijn (2010/63/EU) is ingevoerd. Deze EU-richtlijn neemt de verschillen in de wet- en regelgeving per lidstaat weg en zorgt voor uniformiteit. Daarnaast verplicht de richtlijn de lidstaten om bij te dragen aan de ontwikkeling en validatie van alternatieven voor dierproeven.



Openheid en transparantie

Het NKL is een van de 21 Nederlandse ondertekenaars van de Transparantieovereenkomst Dierproeven (d.d. 15 november 2021), die is opgesteld door o.a. European Animal Research Association (EARA) en Stichting Informatie Dierproeven (SID). De ondertekenaars, die allen direct of indirect betrokken zijn bij het uitvoeren van dierproeven, omvat universiteiten, universitaire medische centra, wetenschappelijke instituten, bedrijven en verenigingen. Voor de actuele lijst zie [Transparantieovereenkomst Dierproeven - Stichting Informatie Dierproeven](#). De overeenkomst behelst vier toezeggingen, elk gespecificeerd met praktische stappen die organisaties kunnen ondernemen. Hoe de toezeggingen worden ingevuld, kan per organisatie verschillen, afhankelijk van hun werkwijze en wettelijke verplichtingen:



- ***We zijn duidelijk over wanneer, hoe en waarom we dieren in onderzoek gebruiken;***
- ***We streven naar betere communicatie over proefdieronderzoek in Nederland met media en publiek;***
- ***We bieden proactief mogelijkheden aan het brede publiek om kennis te maken met proefdieronderzoek en de regelgeving die daarop van toepassing is;***
- ***Jaarlijks rapporteren we onze voortgang en delen we ervaringen.***

De faciliteit

De proefdierfaciliteit van het Nederlands Kanker Instituut is een state-of-the-art onderzoeksfaciliteit voor preklinisch *in vivo* kankeronderzoek. Als zodanig speelt de voorziening een grote rol in het bevorderen van onze kennis van kanker en het ontwikkelen van innovatieve behandelingen. Het gebouw dat in 2016 nieuw werd opgeleverd, heeft een oppervlak van 8.000 m² en een capaciteit van 21.000 individueel geventileerde kooien (IVC). Daarmee bedienen we circa 200 onderzoekers van het NKI die met behulp van knaagdieren hun onderzoeksvragen kunnen beantwoorden. Daarnaast werken wij samen met externe partners uit binnen- en buitenland. We huisvesten zowel wildtype als genetisch gemodificeerde muizen en ratten, en de faciliteit is uitgerust met de nieuwste technologieën. Daarmee houden we ons aan de hoogste normen voor dierenverzorging en -welzijn. Er werken ongeveer 50 mensen waaronder proefdierversorgers, analisten, biotechnici, dierenartsen en officemanagers.

Begrippen

Een dierproef bevat altijd een proefdier, maar een proefdier wordt niet altijd ingezet in een dierproef



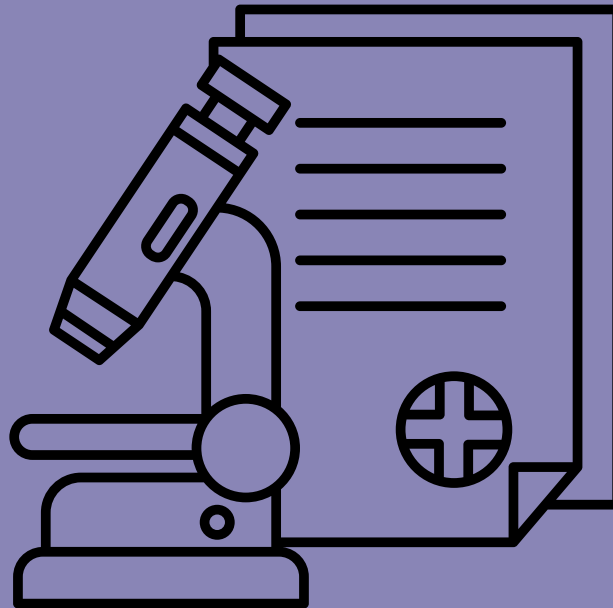
Dierproeven versus proefdieren

Bij de interpretatie van de jaarcijfers maken we een belangrijk onderscheid tussen het aantal verrichte dierproeven en het aantal proefdieren. Deze aantallen gaan niet gelijk op. Een dierproef bevat altijd een proefdier, maar een proefdier wordt niet altijd ingezet in een dierproef. Zo zijn er dieren die we inzetten in een zogenaamde fok zonder ongerief of ongemak. Uit deze fok selecteren we dieren die voldoen aan een bepaald kankermodel; bv. het dier draagt specifieke genetische eigenschappen in combinatie met geslacht en/of leeftijd.

De proefdieren die niet voldoen aan deze criteria zijn niet geschikt voor dierproeven en deze registreren we als 'gedood zonder te zijn ingezet'. Het aantal dieren dat is gedood zonder te zijn ingezet bedroeg 15.759 in 2023 ten opzichte van 23.987 in 2022.

We zetten hard in om deze specifieke groep dieren zo laag mogelijk te houden door het toepassen van allerlei innovatieve methoden.

In de gebruikte terminologie geldt dat een dierproef niet perse hetzelfde is als een experiment. Een experiment is een handeling waaruit we data kunnen genereren. Maar er zijn ook dieren nodig gericht op de sturing en ondersteuning van de hoofdactiviteiten binnen de proefdierfaciliteit. Een voorbeeld hiervan zijn de draagmoederdieren die nodig zijn voor de dracht van de genetisch gemodificeerde embryo's. Die dieren, onder de noemer bedrijfsvoering, genereren geen data maar vallen wel onder dierproeven. De dierproeven die **data genereren**, duiden we aan met de categorie **experimenten**.



Speenlingen

Speenlingen zijn dieren jonger dan 22 dagen (bij muizen). Deze dieren gebruiken we doorgaans niet voor onderzoek naar kankertherapiën maar we moeten bijvoorbeeld wel controleren of hun genetische opmaak klopt en aansluit bij het doel van de studie. In bepaalde situaties kan het kankeronderzoek alleen plaatsvinden op een bepaald geslacht, bij onderzoek naar prostaatkanker gebruiken we bijvoorbeeld alleen mannelijke muizen, waardoor de vrouwelijke speenlingen niet bruikbaar zijn. Het is belangrijk op te merken dat speenlingen niet meetellen in de officiële NVWA-cijfers. Wij telden ze zowel vorig jaar als dit jaar wel mee.



Fundamenteel, toegepast en translationeel onderzoek

We onderscheiden drie verschillende types onderzoek. Fundamenteel, translationeel en toegepast onderzoek. Fundamenteel ofwel basis onderzoek is het onderzoek naar biologische processen en mechanismen zonder dat de klinische toepassing reeds bekend is; bijvoorbeeld de interactie tussen bepaalde afweercellen, de tumor en de omringende weefsel bij hersenkanker. Toegepast onderzoek is onderzoek gericht op een duidelijke toepassing, bijvoorbeeld het testen van een nieuwe medicatie bij een bepaald type van agressieve borstkanker. Translationeel onderzoek verbindt op zijn beurt fundamenteel met toegepast onderzoek.



Ongerief

Ongerief is de wettelijke term voor alle negatieve ervaringen of ongemakken die proefdieren door dierproeven ervaren. Daaronder valt bijvoorbeeld pijn, angst, stress en ziekte. Bij de start en het beëindigen van een dierproef moeten we de mate van ongerief respectievelijk inschatten en/of beoordelen volgens deze indeling: licht, matig en ernstig ongerief, en de vierde categorie terminaal (zie ook de tekstbox op de volgende pagina). Gedurende een dierproef streven we er voortdurend naar het ongeriefniveau zo laag mogelijk te houden. Dat noemen we verfijning. Meer uitleg over verfijning en de andere richtlijnen waar we ons aan committeren staat onder het kopje successen en verbeterpunten.

De categorieën van verwacht **ongerief** zijn bepaald in de eerder genoemde EU-richtlijn en opgenomen in de Nederlandse Wet op dierproeven:

Licht: procedures waarbij de dieren gedurende korte tijd een lichte vorm van pijn, lijden of angst zullen ondervinden, en procedures die geen significante aantasting van het welzijn of de algemene toestand van de dieren opleveren

Matig: procedures waarbij de dieren gedurende korte tijd een matige vorm van pijn, lijden of angst, dan wel langdurig een lichte vorm van pijn, lijden of angst zullen ondervinden en procedures die een matige aantasting van het welzijn of de algemene toestand van de dieren zullen opleveren

Ernstig: procedures waarbij de dieren een ernstige vorm van pijn, lijden of angst, dan wel langdurig een matige vorm van pijn, lijden of angst zullen ondervinden en procedures die ernstige aantasting van het welzijn of de algemene toestand van de dieren zullen opleveren

Terminaal: procedures die worden uitgevoerd onder algehele verdoving en waarna het dier niet meer bij bewustzijn komt



Veel dierproeven die we in het NKI uitvoeren bestaan uit handelingen waarbij we cellen en medicatie bij een dier toedienen. Vervolgens observeren en registreren we de dieren over een bepaalde periode. Dit zijn handelingen die licht ongerief tot gevolg hebben. De meerderheid van de dieren in het NKI, namelijk 67%, ervaart licht ongerief.

3V's

De 3V's, Vervanging, Vermindering en Verfijning, komen oorspronkelijk uit het Engels en heten daar replacement, reduction and refinement (3Rs). We vinden de 3V's sinds eind jaren vijftig van de vorige eeuw steeds belangrijker.

Ze gaan uit van het principe: Kunnen we hetzelfde wetenschappelijke resultaat bereiken met minder dierenleed of in geval van vervanging zelfs zonder inzet van dieren?



Vervanging verwijst naar methoden die geheel of gedeeltelijk proefdiervrij zijn. Het kan bijvoorbeeld gaan om het gebruik van cellijnen of organoids, of computersimulaties

Vermindering gaat om het terugdringen van het aantal proefdieren in een proefdieronderzoek. Dit bereiken we bijvoorbeeld door meerdere organen per dier te gebruiken in plaats van een apart dier voor elk orgaan, door statistisch beter ontworpen studies, of door gebruik te maken van innovatieve technologieën voor het genereren van genetisch gemodificeerde muizenstammen waardoor de fokkolonies kleiner kunnen blijven

Verfijning beoogt de proef zodanig op te zetten dat we het welzijn van de dieren zo min mogelijk aantasten. Enkele voorbeelden zijn: het geven van aangepaste pijnbestrijding na chirurgie, het gebruik van echografie of andere medische beeldvorming voor de opvolging van tumoren in de buik, duidelijke humane eindpunten en afspraken rond maximaal toelaatbare tumormassa's. Verfijningsrichtlijnen gelden voor, tijdens en na afloop van een experiment

Bij het NKI spreken we ook van een **Vierde V**, die van **verantwoording**. Dit houdt in dat onderzoekers verantwoordelijk zijn voor het zorgvuldig en ethisch uitvoeren van dierproeven en legt de nadruk op openheid en transparantie in het onderzoek.

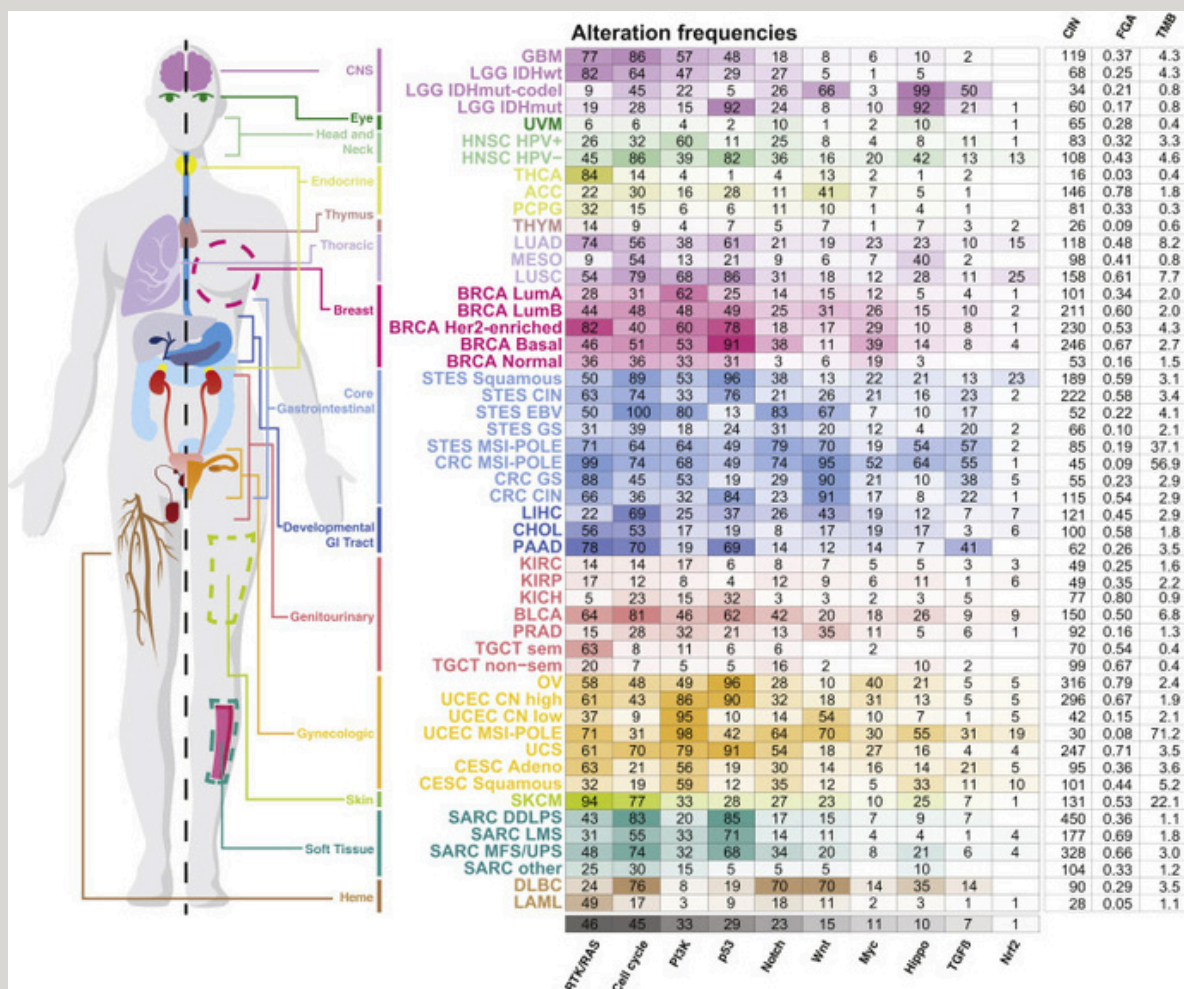


De proefdierfaciliteit van het NKI houdt zich ook aan de afspraken die in de richtlijnen voor dierproeven in kankeronderzoek staan; de 'Code of Practice Kankeronderzoek bij proefdieren' die vooral gericht is op verfijning. Dat houdt in dat we ethische normen handhaven, prioriteit geven aan dierenwelzijn en humane eindpunten respecteren. Zo is in kankeronderzoek het wachten op spontane dood van dieren niet toegestaan. Ook wanneer een dier bijvoorbeeld niet meer eet of drinkt, of binnen 2 dagen meer dan 15% van zijn lichaamsgewicht verliest, mag de onderzoeker het experiment met dit dier niet voortzetten.

Verantwoording aantallen en complexiteit

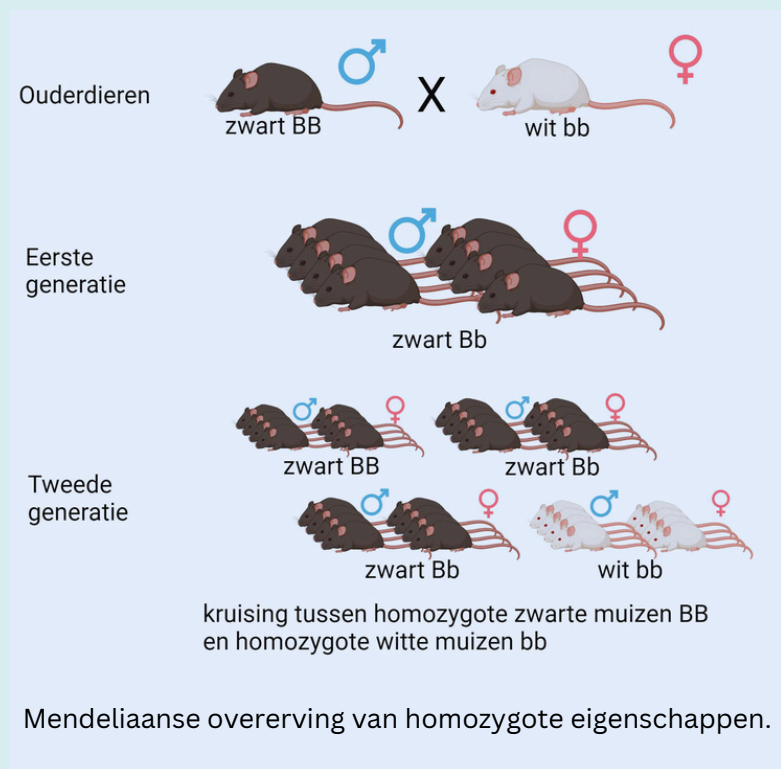
In kankeronderzoek gebruiken we relatief hoge aantallen proefdieren vergeleken met onderzoek naar andere ziekten. Op zich niet zo verwonderlijk, kanker is immers een verzamelnaam voor meer dan honderd verschillende ziekten. Verschillen in genetische achtergrond, maar ook de locatie van de tumor in het lichaam en omgevingsfactoren op moleculair-, cellulair-, weefsel-, en orgaan- en organisme niveau spelen een rol. Dat maakt deze ziekte erg **complex** om te bestuderen. Vergeleken met minder complexe ziektes zijn er in kankeronderzoek meer proefdieren nodig om verschillende soorten kanker te bestuderen, om nieuwe behandelingen te testen, en om de ziekteprogressie te begrijpen.

De complexiteit van kanker



De complexiteit van kanker in een figuur. De cellen in ons lichaam bevatten een communicatienetwerk bestaande uit moleculen. Cellen kunnen alleen op een gezonde manier functioneren als alle moleculen in het communicatienetwerk intact zijn. Alleen dan, kunnen de cellen signalen zoals 'stop met groeien' goed verwerken. In bijgaande figuur is van ruim 50 bekende kankersoorten (gekleurde letters) de intracellulaire communicatieroutes aangegeven (onderste regel, zwarte letters) en in welke mate er iets genetisch mis is (getallen in de hokjes), dus hoeveel genen er zijn aangedaan in deze communicatieroute, waardoor het moleculair signaal verstoord is. Hoe feller de kleur hoe vaker dat specifieke communicatiesignaal verstoord is. Pathway Alteration Frequencies uit *Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas 2018* ref <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.035>

Vanwege diezelfde **complexiteit** levert het fokken van dieren voor onderzoekspecifieke doeleinden relatief veel boventallige dieren op. Onderzoekers veranderen met behulp van geavanceerde DNA-technieken die kankerspecifieke genen waarnaar zij onderzoek willen doen. Per experiment zijn meerdere dieren met diezelfde genetische opmaak nodig. Dat is zeer belangrijk om een betrouwbare en reproduceerbare conclusie over het onderzoek te kunnen trekken. Meestal is niet alleen dezelfde genetische opmaak van belang maar ook het geslacht en de leeftijd. Het gevolg is, dat de fok ook dieren oplevert die niet voldoen aan deze eisen en de onderzoekers ze niet voor het onderzoek kunnen gebruiken (zie onderstaande figuur). We proberen deze dieren uiteraard voor andere doeleinden in te zetten maar dit is niet altijd mogelijk.



Bovenstaande figuur is een schematisch voorbeeld van een simpele fok die volgens Mendeliaanse verdeling verloopt. In dit voorbeeld krijgen alle fokparen evenveel nakomelingen en worden er evenveel mannelijke als vrouwelijke dieren geboren. Dit laatste is natuurlijk niet altijd zo in de realiteit! Stel dat we voor het onderzoek naar borstkanker alleen vrouwelijke dieren met genetische opmaak *bb* kunnen gebruiken; volgens de Mendeliaanse wetten heeft dan slechts 1 op de 4 van de tweede generatie deze recessieve modificatie. Van de 32 gefokte dieren kunnen we er dan slechts 4, namelijk de 4 witte vrouwelijke *bb* muizen, voor het onderzoek gebruiken. Dat is 12,5% van het totale aantal muizen. Wanneer we geïnteresseerd zijn in een combinatie van meerdere genetische eigenschappen, daalt het percentage bruikbare dieren zelfs van 12,5% naar slechts 6,25% of lager.

Inzage in aantallen proefdieren

Een belangrijk onderdeel van dit jaarverslag is het openbaar maken van de jaarcijfers. In 2023 heeft het NKI in totaal 51.464 proefdieren ingezet. De details en de verantwoording voor dit aantal volgen in aparte paragrafen.

Onderverdeling van werkzaamheden met proefdieren volgens bestemming



Dierproeven

In 2023 hebben we 23.090 dieren als dierproef geboekt. Deze categorie hebben we onderverdeeld in bedrijfsvoering inclusief training, breeding & monitoring of bijzondere fok, en onderzoeksexperimenten (zie de grijze kolom op de voorgaande bladzijde genaamd dierproeven).

Bedrijfsvoering

In de proefdierfaciliteit gebruikten we in 2023 422 sentinel-dieren (muis en rat). Door middel van deze ‘verklikker’-dieren bewaken we de gezondheid van de populatie. Sentinels bevinden zich in dezelfde omgeving en hebben dezelfde leefomstandigheden als de rest van de populatie. We testen hun gezondheid op aanwezigheid van ziektekiemen door regelmatige afnames van feces, vacht-, en bloedmonsters. Deze bloedafnames vallen onder veterinaire doeleinden en niet onder experimenten.

Nieuwe medewerkers en nieuwe technieken trainen we waar mogelijk zonder de inzet van dieren. Zo trainen we de hechttechnieken met hechtmatjes (zonder gebruik van dieren). In situaties dat levende dieren nodig waren voor de (basis)training van medewerkers of het aanleren van technieken zoals invasieve chirurgische ingrepen gebruikten we in 2023 1293 dieren. Uiteraard vindt training dan plaats onder volledige narcose, pijnbestrijding en onder adequaat toezicht. Dieren die narcose ondergaan zullen, om ongerief te voorkomen, niet meer bijkomen uit deze narcose. Afhankelijk van de training mogen we dieren eenmaal (complex) of tweemaal (basis) inzetten voor training.

Daarnaast hebben we nog een groep dieren die we specifiek aanwenden voor het saneren of opzuiveren van een muizen- of rattenlijn. Denk aan het genereren van eicellen en embryo's of het inzetten van draagmoeders. Hiervoor gebruikten we 573 dieren.



Breeding en monitoring

Het afgelopen jaar 2023 is het eerste jaar dat we het onderdeel breeding & monitoring of bijzondere (fok-)lijnen als aparte groep registreren. Dit doen we omdat we wettelijk gezien fok en voorraad van bijzondere (fok-)lijnen nu ook als dierproef classificeren. Het aantal dieren in deze categorie bedraagt 2796 speenlingen, 3503 volwassen voorraaddieren en 804 fokdieren.

Een aparte groep dieren (211) die we ook hier meetellen zijn de dieren die door omstandigheden in aanmerking kwamen voor een invasieve genotypering. Genotypering maakt het mogelijk om middels een weefselmonster de genetische opmaak van een dier te bepalen. Waar we dit meestal doen voor speenleeftijd (<21 dagen), lukt dit door omstandigheden niet altijd en gebeurt deze weefselafname (bijv. een bloedstaal) nadien. Deze handeling registreren we apart.

Waar hierboven genoemde groepen dieren in de voorgaande jaren ‘verdwenen’ in de gedood in voorraad groep, krijgen ze nu een aparte status.

Onderzoeksexperimenten

In het kader van onderzoeks- of data-genererende experimenten registreerden we in 2023 13.498 dieren. Hiervan waren 185 rat en 13.313 muis. Deze experimenten kunnen we onderverdelen in experimenten met als doel het genereren van een nieuwe **transgene** lijn (333 muizen) en **onderzoek** (13.153 volwassen dieren en 12 speenlingen). We maken hier geen onderscheid tussen bijzondere (fok)lijnen of basislijnen.

Export



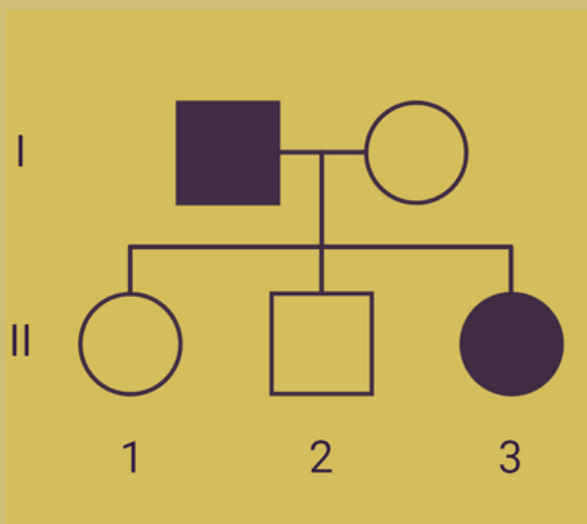
In het kader van samenwerkingen met andere onderzoeksinstituten verplaatsten we in 2023 109 levende muizen uit ons instituut naar andere locaties. In het overgrote deel waren dit binnenlandse locaties. Enkele muizen gingen naar het buitenland waarvan een klein aantal (37) buiten Europa (US).



Fok



Onder de categorie basisfok vallen 3734 dieren die een fokpaar vormden en geen welzijns-problemen ondervonden tijdens hun leven.



Zoals eerder in dit verslag beschreven kunnen deze dieren vallen in de subcategorieën fok zonder ongerief en fok met ongerief. Fok met ongerief verwijst naar situaties waarbij het fokken leidt tot ongemak of lijden voor de dieren of hun nakomelingen. Dat kan voorkomen bij genetische gemodificeerde dieren waarbij de genetische modificatie een negatief effect heeft op het welzijn van het dier zoals de ontwikkeling van tumoren.

Er gelden strenge regels voor fok met ongerief. Het minimaliseren van het ongerief van deze dieren is een belangrijk onderdeel van WoD. Als het ongerief te groot is dan laten we het dier niet onnodig lijden.

Nieuwe inzichten en technieken zorgen voor een meer gerichte uitkomst en minder fokoverschot. Dit geldt zowel voor de basisfok als de bijzondere fok. We zorgen hiermee voor een enorme daling van het aantal dieren dat overblijft na het opkweken van dieren met gewenste eigenschappen. Deels bereiken we de daling van het aantal overtollige dieren door onderzoekers continue te voorzien van inzichten uit data over hun fok. Dit is een iteratief proces, dat we met de jaren steeds beter begrijpen en implementeren. Daarnaast werkt het NKI aan betere beschikbaarheid van interne **cryopreservatie** faciliteiten. Zodat we biologisch materiaal (sperma, eicellen en embryo's) van kostbare muismodellen kunnen invriezen in plaats van levende dieren aan te houden, wat veel dieren scheelt.

1

2

3

nieuwe technieken

We werken bij het NKI voortdurend aan nieuwe technieken, zoals **CRISPR-Cas** en **in vivo elektroporatie**, waarmee we DNA door een elektrische puls direct in een dier brengen, om kankermodellen te creëren middels genetische manipulatie.



Mede door die manier van werken hebben we minder dieren nodig. En andere techniek genaamd speed congenics zorgt ook voor vermindering van de fok. **Speed congenics** laat zich het best omschrijven als selectieve fok. Daarbij analyseren we het DNA van de eerste generatie (F1) dieren en zorgen we dat we met degenen met de gewenste DNA-opmaak doorfokken. Als laatste, gebruiken we waar mogelijk weefsels en organen van proefdieren die al gedood zijn voor onderzoek en onderwijs, zodat we hiervoor we geen proefdieren specifiek hoeven te fokken of aan te schaffen.



Gedood in voorraad

Dieren die niet zijn ingezet om experimentele data te verkrijgen vormen helaas nog steeds een grote groep. Zoals hierboven aangegeven levert een kruising verschillende dieren op die niet allemaal het juiste fenotype bezitten. Daardoor zullen niet alle nakomelingen die uit een fok geboren worden kunnen worden ingezet voor dierproeven. Die dieren noemen we fokoverschot of gedood in voorraad. In de paragraaf ‘Verantwoording aantallen’ in dit jaarverslag staat een uitleg met een voorbeeld over de oorzaken van fokoverschot, alsmede een figuur die de Mendeliaanse overerving illustreert.

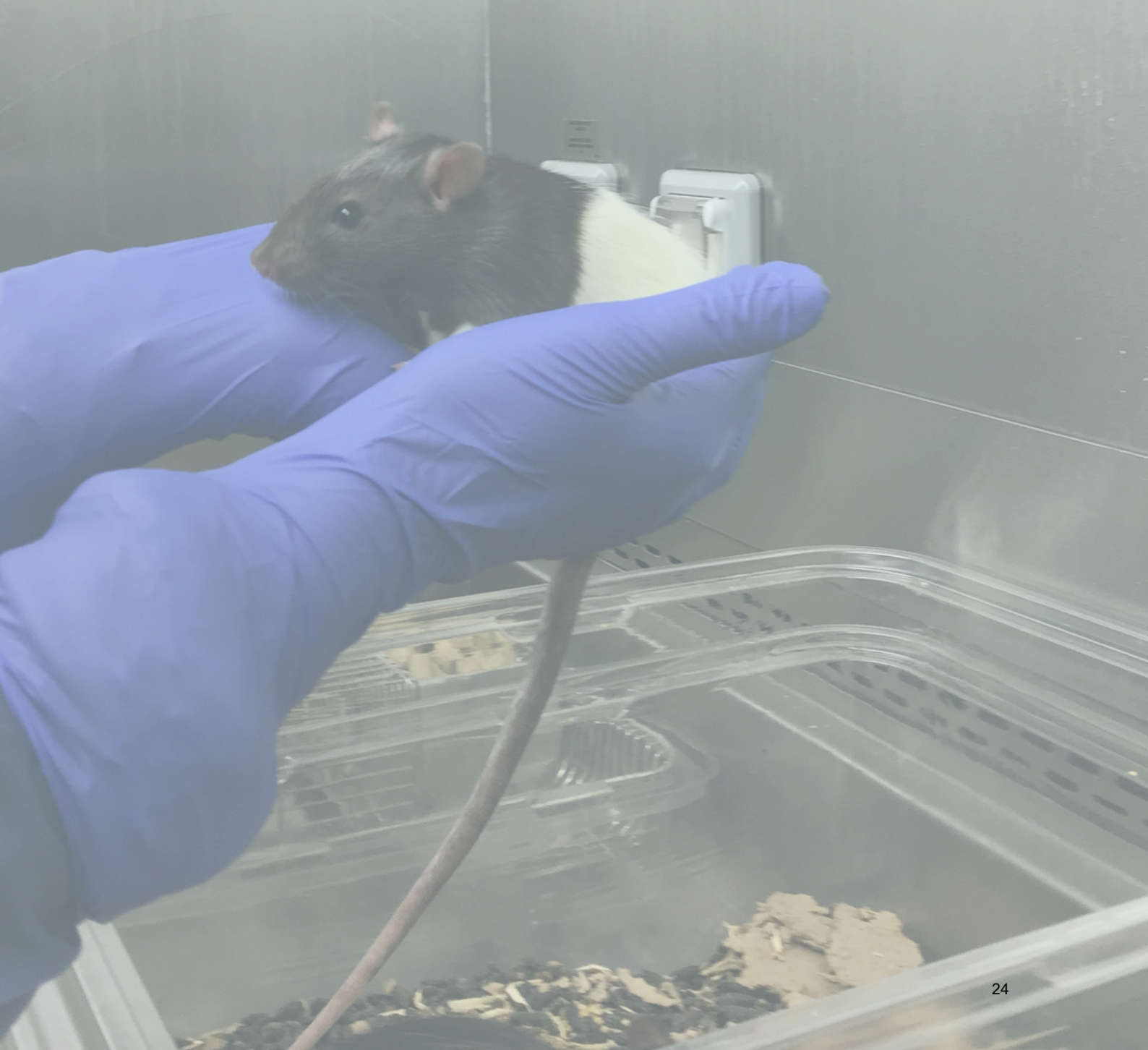
In 2023 registreerden we 8772 **speenlingen** in de categorie gedood in voorraad. Alhoewel we deze categorie in de jaren 2018-2022 niet hoefden te rapporteren doen we dat wel sinds 2022. Speenlingen zijn immers ook dieren. Gezien het NKI in het jaar 2021 de qPCR testen grotendeels automatiseerde en uitbesteedde zijn we sindsdien in staat om het genotype of de genetische code van de dieren sneller en accurater te achterhalen. Hierdoor kunnen we doelmatiger fokken, zijn er minder dieren nodig en kunnen we speenlingen die niet voldoen tijdig euthanaseren.



Naast de speenlingen tekenden we 15.759 **volwassen dieren** op in deze categorie. Dit waren voorraaddieren bestemd voor fok of andere doeleinden. Hiervan is de grootste groep van 8615 dieren genetisch gemodificeerd op een wijze dat de dieren geen hinder van de gewijzigde genen ondervinden. Een groep van 6736 dieren was genetisch gemodificeerd en beschouwen we als een bijzondere foklijn. Dit betekent dat zij mogelijk hinder kunnen ondervinden van de modificatie bijvoorbeeld omdat zij onder invloed van de genetische modificatie een tumor ontwikkelden. De 6736 dieren die we hier benoemen ondervond geen hinder van de modificatie. Er waren 635 fokdieren die niet genetisch gemodificeerd waren.

Diersoorten

In 2023 was het overgrote deel van de dieren die we in het NKI inzetten voor kankeronderzoek, **muís**. We gebruiken vaker muizen onder andere omdat muizen genetisch goed overeenkomen met de mens (98%). Daarnaast is er van oudsher veel onderzoek op muizen is gedaan waar we op kunnen voortborduren. Er is relatief veel kennis over hoe het muizenlichaam reageert, er zijn veel genetisch gewijzigde varianten van muizen beschikbaar voor specifieke onderzoeksvragen, en er zijn veel hulpmiddelen beschikbaar voor onderzoek met muizen zoals antistoffen die in muizen gebruikt kunnen worden. In sommige gevallen blijkt de **rat** een beter voorspellend model te zijn. Zo zijn oestrogeen levels van ratten beter vergelijkbaar met mensen. Van het totale aantal in 2023 ingezette dieren was 230 rat .



Trends 2018-2023

In deze paragraaf geven we een algemeen beeld van de trends op lokaal, en nationaal niveau.

Omdat niet alle Europese lidstaten de jaarcijfers op hetzelfde moment aanleveren kunnen we de trends niet 1 op 1 internationaal met elkaar vergelijken.

We zoomen nu in op onze interne cijfers en kijken gedetailleerd naar de categorieën die hierboven het meest in het oog springen, namelijk **gedood in voorraad** en de **dierproef**. Deze trendcijfers vullen we aan met algemene trends en verderop in dit jaarverslag een oog op de toekomst.

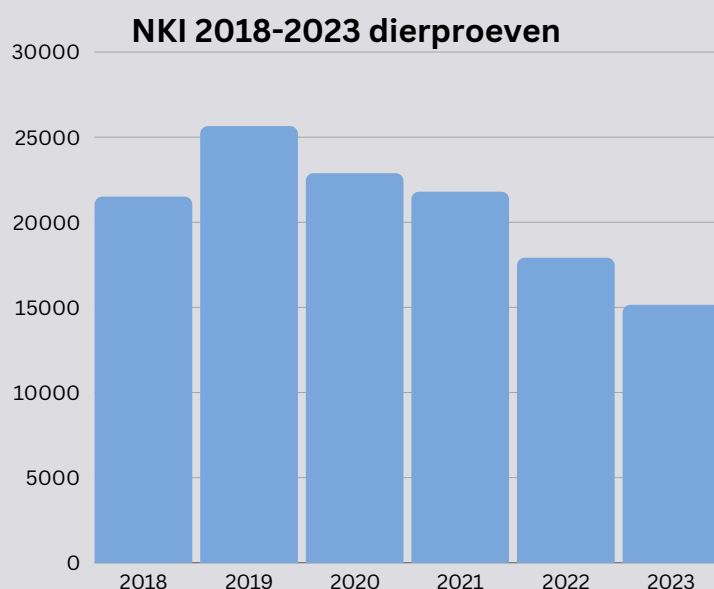
Gedood in voorraad NKI

We zetten ons in om het aantal dieren dat is gedood zonder te zijn ingezet zoveel mogelijk te beperken. Het aantal volwassen dieren is in de afgelopen jaren gedaald van 71.403 (2018) naar 15.759 (2023). Omdat we het belangrijk vinden om net zoals andere Europese landen de speenlingen ook mee te tellen, geven we vanaf 2022 ook deze aantallen mee (n=8772). De aanzienlijke daling bereikten we door sterk in te zetten op verschillende aspecten van koloniebeheer (zie paragraaf 'Inzage in aantallen proefdieren' onder Fok en Gedood in Voorraad). Voor een volledig beeld van de aantallen gedood in voorraad sinds 2018, zie bijlage.

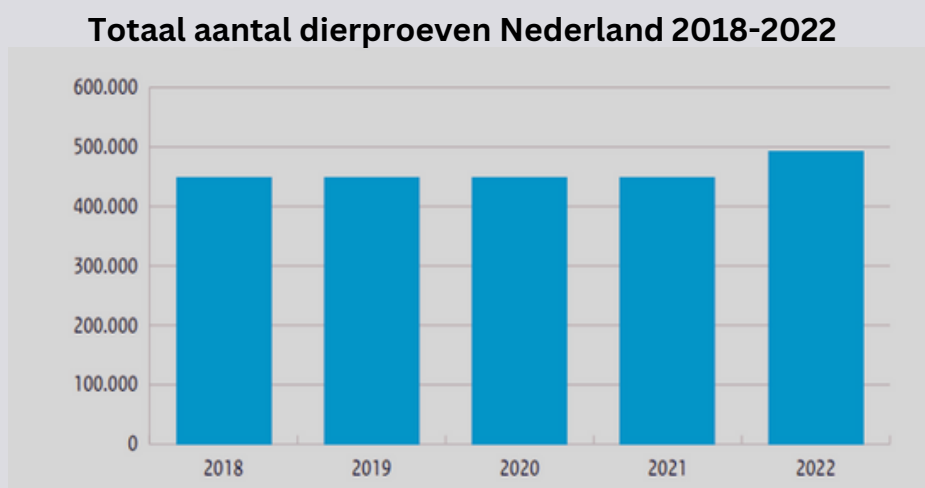


Dierproef NKI

Het totale aantal dierproeven in het NKI in 2023 was 23.090. In de volgende figuur is de trend van de afgelopen jaren te zien. Vanwege een wijziging in de definitie van een proefdier (zie Bijzonder (fok)lijnen en invasieve genotypering) lijkt het alsof de aantallen gelijk blijven of zelfs stijgen. Als we een vergelijking met voorgaande jaren maken en dezelfde definitie als in die tijd hanteren, zien we de afgelopen jaren na een lichte stijging in 2019 eerder een daling tot 15.153 in 2023. In het NKI focussen we voornamelijk op basis- en translationeel onderzoek; de verhouding hiertussen schommelde de afgelopen jaren tussen resp. 35-50% en 25-35% en ligt in lijn met de percentages op landelijk niveau. In het NKI voeren we geen toegepast onderzoek en preklinisch onderzoek voor regulatoire redenen uit. Sinds 2023 dragen de bijzondere (fok)lijnen voor 32% bij aan het totaal aantal dierproeven (waar dit slechts 1% was in 2022). Voor een volledig beeld van de aantallen dierproeven sinds 2018, zie bijlage.



In de landelijke trend over het totaal aantal dierproeven, zien we eerder een licht stijgende lijn, in tegenstelling met wat we zien in het NKI. (Bron: [Zo+doende+2022.pdf](#))



De landelijke trend. Bron: Zo Doende 2022, NvWA

Herplaatsing

De grote meerderheid van de muizen (76%) die we bij het NKI houden zijn genetisch gewijzigde dieren. Deze mogen we op grond van wetgeving niet herplaatsen. Andere herplaatsingscriteria zijn onder meer dat de dieren niet te oud of te jong mogen zijn, dat de dieren gezond zijn, dat ze gesocialiseerd zijn, dat ze geen gedragsafwijkingen vertonen die niet verenigbaar zijn met uitplaatsing, en dat ze in groepen van minimaal 2 dieren herplaatst worden. Het NKI had in 2023 geen proefdieren die aan deze herplaatsingscriteria voldeden.

Successen en verbeterpunten

In 2023 besteden we op meerdere manieren aandacht aan de 3V's. Zo investeerden we in beeldvormende technieken zoals **intravital microscopy**, een manier om biologische processen in levende dieren (*in vivo*) te observeren met een hoge resolutie zodat we individuele cellen **in een levend weefsel** kunnen onderscheiden. We hoeven dan niet meerdere dieren op verschillende tijdstippen te doden om een intern (ziekte-)proces te kunnen volgen en de moderne **beeldtechnieken geven over het algemeen minder ongerief**.



Als genoemd onder het kopje ‘fok’ hebben de beschikbaarheid van **cryopreservatie en nieuwe technieken** voor genetische manipulatie zoals elektroporatie, CRISPR/Cas9 en speed congenics gezorgd voor verfijning én vermindering van het aantal benodigde dieren. Naast het gebruik van elektroporatie in fok kunnen we deze techniek ook gebruiken om stoffen zoals chemotherapie in een cel van een levend organisme te brengen. Door de hoge efficiëntie van de techniek krijgen we betere resultaten waardoor er minder dieren voor statistisch significante uitkomsten nodig zijn.

We besteedden ook aandacht aan het verminderen van het ongerief van de **sentinel-dieren**. Om de gezondheidsstatus van onze populatie dieren te monitoren nemen we maximaal 2 keer per jaar monsters (o.a. bloed) af. In 2023 zijn we een pilot gestart waarbij we de inhoud van de kooien (bedding) op mogelijke **ziektekiem** testten, in plaats van de sentinel-dieren. Deze werkwijze zal uiteindelijk resulteren in minder ongerief voor de dieren omdat we ze minder vaak hoeven testen. We introduceren deze werkwijze in 2024.

In 2023 bracht faciliteitshoofd Els Hermans met collega's van het NKI en van meerdere Europese faciliteiten, hun kennis en ervaring bijeen in een overzichtelijke **richtlijn** met handvatten voor iedereen die met **proefdieren in kankeronderzoek** werkt. Publicatie van deze richtlijn volgt in 2024. Deze verfijning leidt tot betere reproduceerbaarheid van data waardoor het uiteindelijk ook vermindering van dierproeven tot gevolg heeft.

Genotypering is een manier om de genetische opmaak van dieren te identificeren. We hebben daarvoor DNA van het organisme nodig. De genotypering vindt tegenwoordig plaats middels een teenknip en niet meer via staartbiopsies, bloedafnames of andere invasieve methoden. Genotypering middels een teenknip voor de leeftijd van 7 dagen geldt als verfijning omdat het minder ongerief geeft dan andere of latere methoden van genotypering. Omdat we met een externe aanbieder voor de automatische genotypering samenwerken halen we een zeer hoge efficiëntie met een erg kleine foute marge waardoor we weinig her-knip of andere invasieve ingreep moeten uitvoeren.

Omdat we ook in de toekomst goede **huisvesting** willen kunnen bieden onderhouden we onze gebouwen en apparatuur door regelmatige controles, onderhoudscontracten en bieden we onze medewerkers **bijscholingscursussen** aan om ze op de hoogte te houden van de nieuwste inzichten over proefdieronderzoek en omgaan met proefdieren.

In september 2023 was er een dagvullend symposium met nationale en internationale sprekers ter ere van het 10-jarig bestaan van de faciliteit. Deze dag stond in het teken van de importantie van in vivo modellen van humane kanker alsmede de nieuwste toepassingen op gebied van zowel fundamenteel onderzoek als preklinische therapie ontwikkeling. Verder was de proefdierfaciliteit betrokken bij media activiteiten zoals YouTube, en X (zie link).

We waren voor de tweede keer betrokken bij de **Be Open About Animal Research Day (#BOARD)** campagne. BOARD is een initiatief van EARA. Daarbij laten biomedische instituten wereldwijd 24 uur lang op social media zien dat ze belang hechten aan openheid over proefdieronderzoek. Onze inzending 'How animal research is conducted at the Netherlands Cancer Institute' toont de werkwijze van de proefdiermedewerker in onze proefdierfaciliteit middels een Prezi presentatie. Deze presentatie, gemaakt door twee proefdiermedewerkers, geeft uitleg en toont verschillende video's waarin ze de dagelijkse procedures laten zien. De presentatie staat op [YouTube](#).

De genoemde maatregelen in deze paragraaf 'Successen en verbeterpunten' dragen bij aan het gebruik van minder dieren (zie daling afgelopen jaren) evenals het grote aantal dieren (67%) dieren dat een **licht ongemak score** krijgt.

Inspecties

De toezichthoudende autoriteit NVWA, heeft in januari 2023 een inspectie uitgevoerd bij de dierfaciliteit van het NKI, met goed gevolg.

Vooruitblik

In 2024 blijven we inzetten op **innovatie** zowel op het gebied van nieuwe **experimentele technieken** die invloed hebben op verfijning en vermindering als op het vlak van **huisvesting en verzorging** van de dieren. Dit gaat hand in hand. De ESLAV-ECLAM Summerschool (<https://eslav-eclam-aaalac-conference2024.eu/en/summer-school-of-eslav-and-eclam/>) met als thema facility management, die plaatsvindt in juni 2024, is daar een mooi voorbeeld van. Ook het in stand houden van de bestaande infrastructuur is een van de topprioriteiten in de komende jaren. Zo zal er een grootschalige renovatie van de vloeren in de gehele faciliteit plaatsvinden.

Verder willen we inzetten op **centralisatie** door samenwerken met en aantrekken van externe projecten (industrie en academie) om zo expertise en kennis te delen. We zijn er van overtuigd dat dit ten goede komt van het welzijn van de dieren, de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van onderzoeksdata en het efficiënt inzetten van middelen.

Als laatste is, net zoals in veel andere sectoren, **duurzaamheid** een onderwerp dat ook van belang is voor het NKL. In de loop van 2024 hopen we dan ook om de eerste pilot studie uit te rollen voor het recyclen van 75% van het geproduceerde afval van de proefdierfaciliteit.

Naslagwerk en extra informatie

Betrokkenheid bij wetenschappelijke publicaties 2023:

-Mertens S, Huismans MA, Verissimo CS, et al. Drug-repurposing screen on patient-derived organoids identifies therapy-induced vulnerability in KRAS-mutant colon cancer. *Cell Rep.* 2023;42(4):112324. doi:10.1016/j.celrep.2023.112324

-Bhin J, Paes Dias M, Gogola E, et al. Multi-omics analysis reveals distinct non-reversion mechanisms of PARPi resistance in BRCA1- versus BRCA2-deficient mammary tumors. *Cell Rep.* 2023;42(5):112538. doi:10.1016/j.celrep.2023.112538

-Schuurman T, Song JY, Wolters V, et al. Effects of chemotherapy on ovaries of pregnant mice. *Arch Gynecol Obstet.* 2023;307(4):1163-1176. doi:10.1007/s00404-022-06793-w

-Finesso G, Willis E, Tarrant JC, Lanza M, Sprengers J, Verrelle J, Banerjee E, Hermans E, Assenmache C-A, Radaelli E. SPONTANEOUS EARLY-ONSET 1 NEURODEGENERATION IN THE BRAINSTEM AND SPINAL CORD OF NSG, AND NOG, AND NGX MICE. *Vet Path* 2023 May;60(3):374-383. doi: 10.1177/03009858231151403 PMID: 36727841.

-Bhin J, Yemelyanenko J, Chao X, et al. MYC is a clinically significant driver of mTOR inhibitor resistance in breast cancer. *J Exp Med* 2023 Nov 6;220(11):e20211743. doi: 10.1084/jem.20211743. PMID: 37642941

-De Vleeschauwer S, van de Ven M, Hermans ER. OBSERVE: guidelines for the refinement of rodent cancer models. *Nat Protoc.* *in press*

Internet en social media:

<https://www.nki.nl/research/facilities-platforms/nki-laboratory-animal-center/>

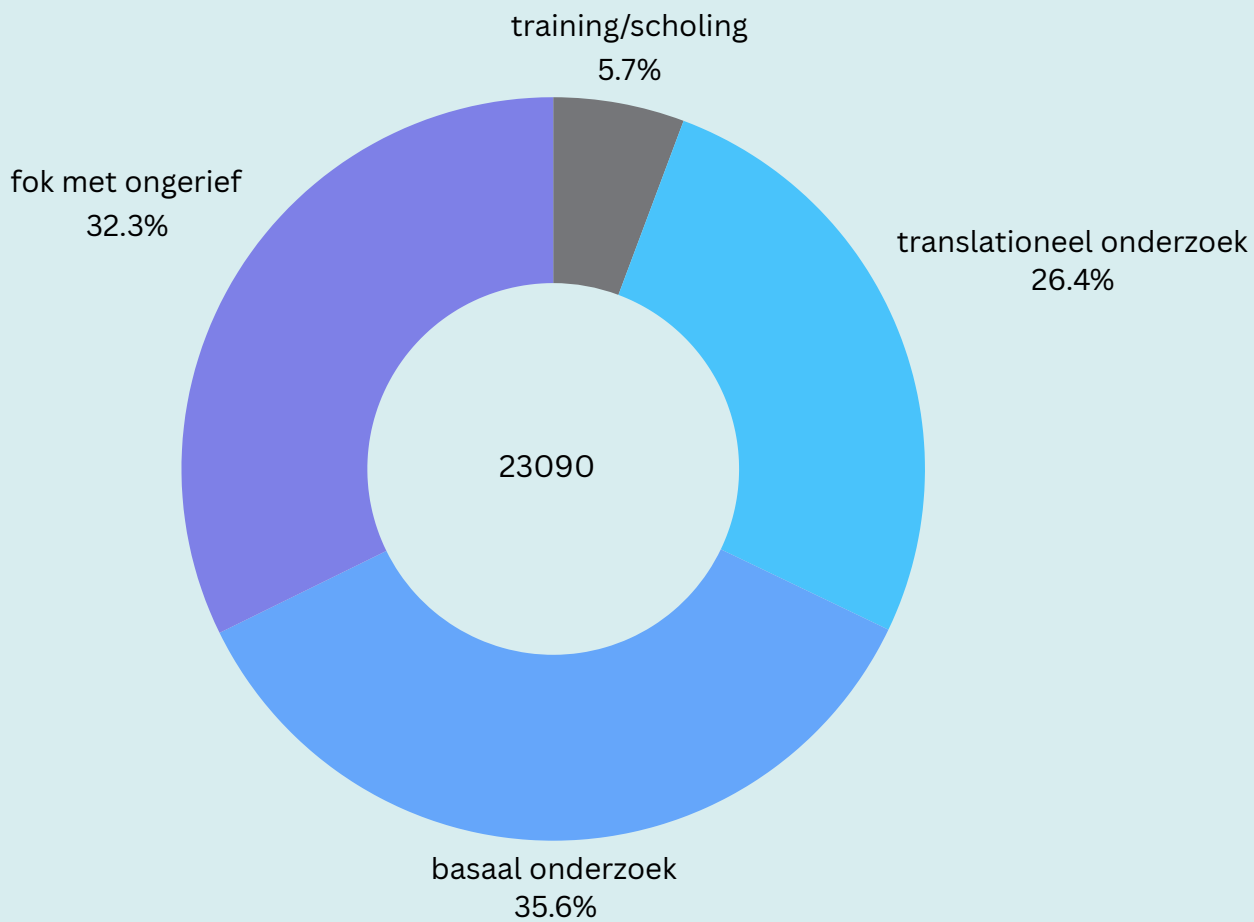
X: @NKI_Animal_lab

YouTube: <https://t.ly/-feb4>

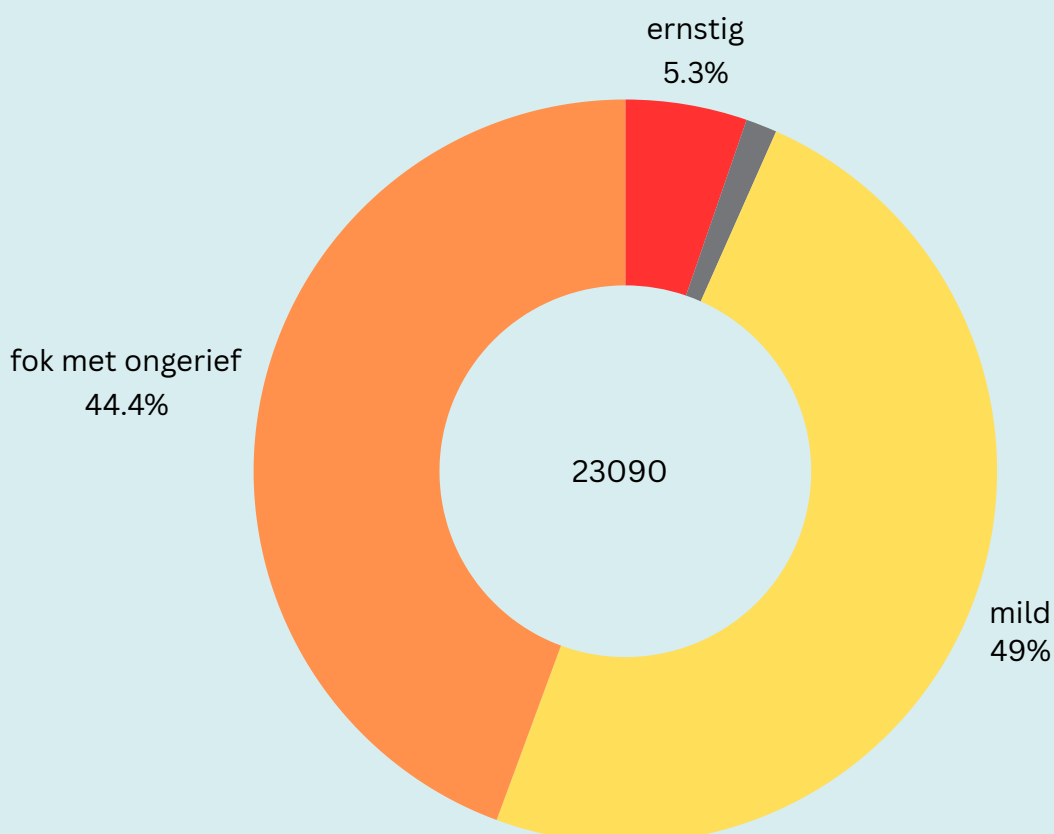


Bijlage

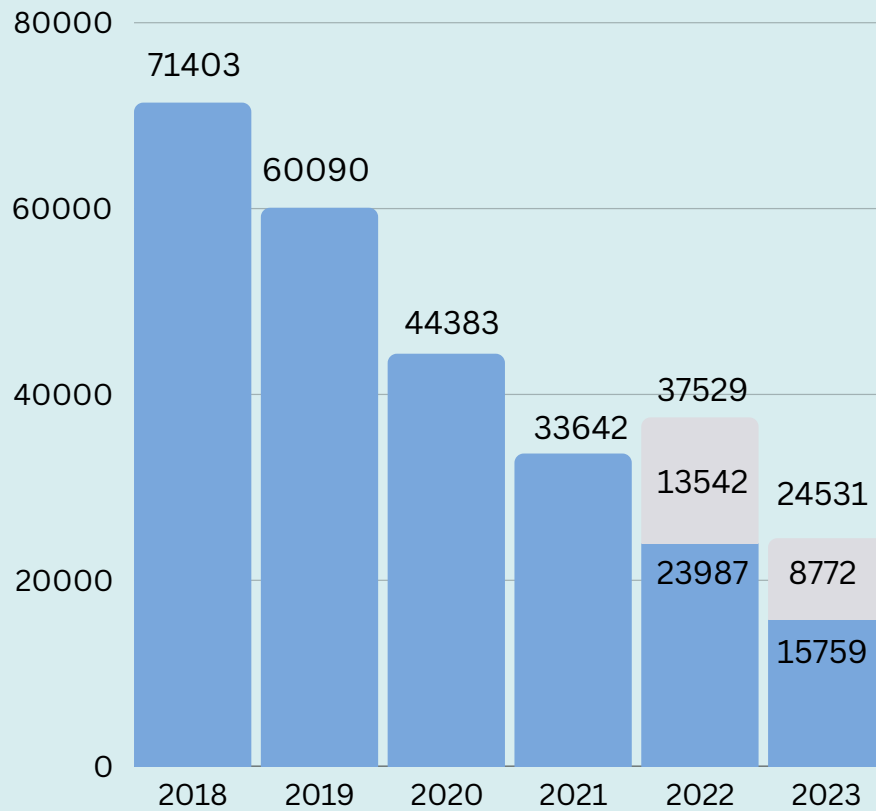
NKI dierproeven per procedure 2023



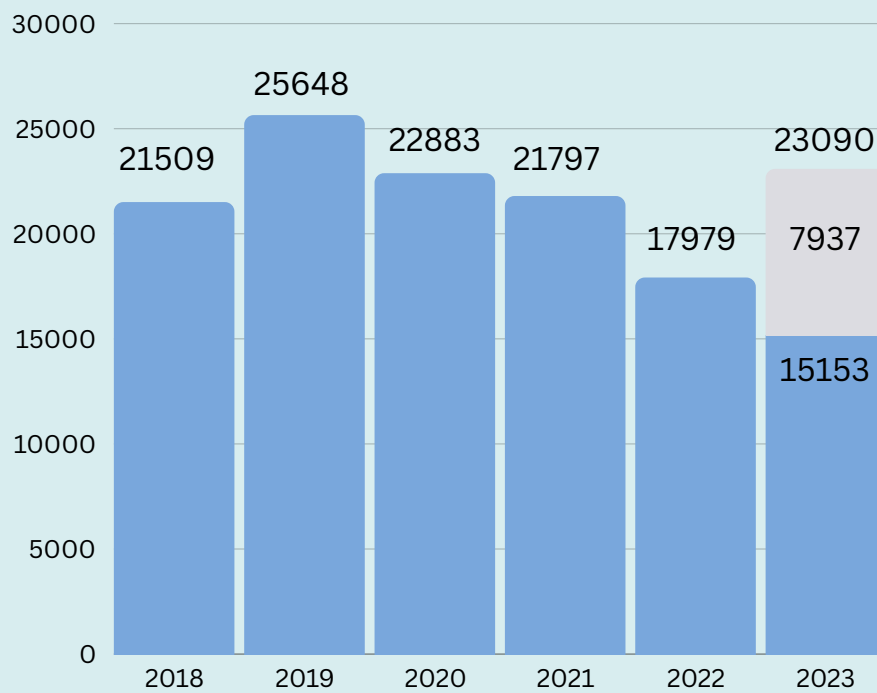
NKI ongerief 2023



NKI 2018-2023 gedood in voorraad



NKI 2018-2023 dierproeven



Aantallen proefdieren

Bedrijfsvoering



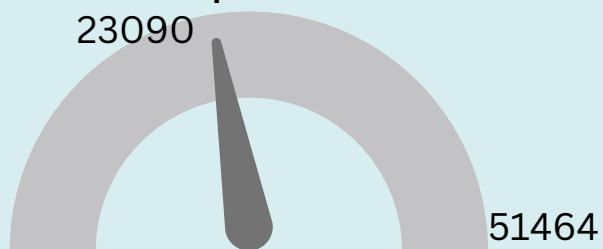
Breeding & monitoring



Experimenten



Totaal dierproeven



Export



Fok



Gedood in voorraad

