

Proefdieren en alternatieven: de weg vooruit

Op 27 maart 2023 hebben Leefmilieu Brussel en het platform RE-Place in het BEL-gebouw op het terrein van Thurn en Taxis een interessante studiedag over welzijn bij proefdieren georganiseerd. Vijftien verschillende sprekers hebben een korte presentatie gegeven over de doelstellingen van de wetenschappelijke organisaties waaraan ze verbonden zijn of over hun onderzoek met proefdiervrije methoden. Tijdens de voormiddag lag de aandacht bij het verbeteren van de levensomstandigheden van proefdieren. De namiddag was gewijd aan proefdiervrije methoden en de onderzoekers en organisaties die ze gebruiken of promoten in het biomedisch onderzoek.

Animal Welfare Bodies – opportunities to make a difference

Susanna Louhimies, beleidscoördinator van de Europese Commissie, heeft de studiedag geopend met een lezing over het belang van dierenwelzijnscellen of 'Animal Welfare Bodies' voor de toepassing van het 3V-principe. De dierenwelzijnscellen brengen onderzoekers uit verschillende disciplines samen en dat maakt dat ze de "pompende harten" zijn die een belangrijke taak vervullen in het implementeren van het 3V-principe in wetenschappelijke instellingen. Ze beschikken namelijk over de mogelijkheid om onderzoekers toegang te verlenen tot de meest recente informatie in verband met het 3V-principe en kunnen onderzoekers op die manier warm maken voor innovatieve technieken zoals nieuwe proefdiervervangende modellen of verfijningsmethoden.

EU Guidance Document on Non-technical Project Summaries under Directive 2010/63/EU

Voor bepaalde onderzoeksprojecten zijn dierproeven vereist. Volgens de Europese richtlijn, 2010/63/EU is, naast een overzicht met de statistische gegevens, een duidelijke motivering voor proefdiergebruik nodig die de transparantie over dierproeven verhoogt. Die beweegredenen behoren onderzoekers op te nemen in een 'Niet-Technische Samenvatting' (NTS) die in een laagdrempelige taal de doeleinden van het experiment, de voorspelde mate van pijn en de beoogde voordelen van de dierproef samenvat. Patri Vergara, professor verbonden aan de 'Universitat Autònoma de Barcelona', gaf een korte beschrijving van de opbouw en de inhoud van het document.

Reporting the predicted harms of animal experiments in the non-technical summaries

Aanvullend op de algemene gegevens over de 'Niet-Technische Samenvatting' besprak Katy Taylor, verbonden aan de organisatie 'Cruelty Free', het belang van de NTS voor transparantie over dierproeven. Aan de hand van NTS-documenten kunnen leken nakijken of de beoordelingen van de ernst van dierproeven samenhangend zijn. Voor onderzoekers die proefdieren gebruiken zijn NTS een nuttig hulpmiddel om efficiënte technieken en methoden te delen, de ontwikkeling van alternatieve methoden te stimuleren en om dubbel werk met proefdieren te vermijden.

Toch verschaffen sommige documenten volgens Taylor te weinig informatie over bepaalde aspecten van dierproeven zoals bijwerkingen en bevatten ze een te vaag of te technisch taalgebruik. Taylor gaf uit naam van 'Cruelty Free' tijdens de sessie een reeks aanbevelingen om te zorgen dat onderzoekers nog transparanter kunnen communiceren over hun dierproeven.

EU Guidance Document on Genetically Altered Animals: to resolve some inconsistencies and misinterpretations

Voor genetisch gewijzigde dieren geldt een specifieke regelgeving. Kathy Ryder is technisch adviseur voor de Europese Commissie en lichtte tijdens haar voordracht de wettelijke verplichtingen voor verschillende typen genetisch gewijzigde dieren toe die opgenomen zijn in een begeleidend document. Het Europese begeleidend document voor genetisch gewijzigde dieren schept meer duidelijkheid over de wettelijk toegelaten handelingen met genetisch gewijzigde dieren, geeft een classificatie van de verschillende genetisch gewijzigde proefdieren om onnodig lijden bij proefdieren te vermijden voor bepaalde tests en biedt welzijnsriteria voor iedere afzonderlijke proefdiersoort.

Harmonizing Education & Training in Laboratory Science - the role of ETPLAS in the EU and beyond

Nuno Franco is voorzitter van de organisatie 'ETPLAS' (Education and Training Platform for Laboratory Animal Science) die trainingen en onderwijs over dierproeven overeenkomstig de Europese richtlijnen rond proefdiergebruik aanbiedt. ETPLAS doelt erop om trainings- en leerprogramma's over proefdieren meer in overeenstemming te brengen met elkaar. Dat doet de organisatie door trainingen en onderwijs aan te bieden via een platform dat onderzoekers in staat stelt om zelf nieuwe cursussen op te zetten.

Pijnbeheer bij muizen

Ignacio de Segura van de 'Federation of European Laboratory Animal Science Associations' (FELASA) weidde vervolgens uit over pijnbeheer bij proefmuizen. Hij wees erop dat onderzoekers niet voldoende training en onderwijs genieten om volgens de juiste wijze geneesmiddelen en pijnstillers toe te dienen en te doseren bij muizen. In een korte presentatie gaf hij enkele aanbevelingen mee om onnodig leed als gevolg van bijwerkingen van geneesmiddelen of ingrepen met een te lage dosis pijnstillers bij muizen te voorkomen.

Methodologie voor gezondheidsmonitoring van muizen in individueel geventileerde kooien (IVC)

Stephanie Buchheister, die eveneens lid is van de FELASA-Werkgroep, heeft de voormiddag afgesloten met een reeks aanbevelingen voor de gezondheidsmonitoring van muizen die gehuisvest worden in individueel geventileerde kooien.

Op het gebied van proefdiervervangende methoden staat de wetenschap niet stil. Met de inmiddels grote variatie aan *in vitro*-methoden en computergebaseerde methoden (*in silico*) kunnen wetenschappers meer op de mens gebaseerde situaties simuleren ten gunste van zowel het welzijn van vele dieren als van het biomedisch onderzoek. De namiddag stond volledig in het teken van die proefdiervrije methoden en de organisaties die ze promoten en breder inzetbaar willen maken.

Activiteiten van het Innovation Centre 3Rs

In België is het '3R-Innovatiecentrum' (IC-3Rs) een belangrijke speler in het bevorderen van de toepassing van het 3V-principe en de invoer van proefdiervrije methoden in biomedisch onderzoek. Tijdens de afgelopen decennia heeft de Vrije Universiteit Brussel (VUB), waaruit het centrum ontstaan is, een sterke invloed gehad op het farmaco-toxicologisch onderzoek en vanuit die discipline een grote kennis in alternatieve methoden ontwikkeld.

IC-3Rs onderneemt verschillende acties om kennis te verzamelen en te verspreiden over alternatieve methoden en om het 3V-principe te promoten. Het centrum maakt gebruik van sociale media, publieke lezingen en zijn jaarlijkse symposia om proefdiervrije methoden meer zichtbaarheid te geven en de communicatie zowel naar het brede publiek als naar levenswetenschappers te verbeteren. Daarnaast steunt IC-3Rs de ontwikkeling van alternatieve methoden en proefdiervrij onderzoek met financiële middelen afkomstig van Leerstoel Mireille Aerens en de afdeling Dierenwelzijn van het Brussels Hoofdstedelijk Gewest.

PARERE

Een andere organisatie rond proefdiervrije methoden is het 'Europese Preliminary Assessment of Regulatory Relevance-netwerk' (PARERE) dat uitgaat van het 'Referentielaboratorium van de Europese Unie' voor alternatieve methoden ter vervanging van dierproeven (EURL ECVAM), dat op zijn beurt verantwoordelijk is voor de goedkeuring van alternatieve methoden in Europa.

Birgit Mertens (Sciensano) vertegenwoordigt het netwerk in België en lichtte de doeleinden van PARERE toe. Het PARERE-netwerk bestaat uit een samenwerking van regelgevende instanties uit Europese lidstaten en biedt EURL ECVAM informatie over de potentiële relevantie van proefdiervrije methoden en benaderingen voor nationale wetgevingen. Jaarlijks komen de verschillende vertegenwoordigers van PARERE samen om ideeën en informatie over specifieke vraagstukken van EURL ECVAM uit te wisselen en nationale en internationale ontwikkelingen in te bespreken.

RE-Place

Een zusterorganisatie van IC-3Rs is de RE-Place-databank. Door de snelle ontwikkeling van 'New Approach Methodologies' (NAMs), die proefdiervrije methoden en alternatieve *in vivo*-modellen omvatten, kunnen onderzoekers moeite ervaren om snel betrouwbare informatie terug te vinden over NAMs. RE-Place is op het initiatief van de Vlaamse en de Brusselse regering opgericht en wil alle bestaande expertise over het gebruik van NAMs in één gecentraliseerde databank verzamelen die openbaar toegankelijk is.

Elke methode in de databank van RE-Place bevat de naam en de organisatie van de wetenschapper die de NAM heeft ontwikkeld of momenteel gebruikt. Die informatie geeft Belgische onderzoekers de mogelijkheid om netwerken te vormen en stimuleert hen op die manier om meer te vertrouwen op het gebruik van NAMs, wat vervolgens wetgevers aanmoedigt om een regelgevend kader voor NAMs op te stellen.

Mieke Van Mulders, mede-coördinator van het project, gaf tijdens haar presentatie een update mee over de huidige status van RE-Place. Inmiddels bevat de databank meer dan 230 methoden afkomstig van 27 verschillende instellingen.

Na een korte inleiding over de werking van zijn platform bood RE-Place aan enkele onderzoekers, wier methoden ingevoerd zijn in de databank, de gelegenheid om hun gebruikte proefdiervrije methoden voor te stellen aan een gemengd publiek van wetenschappers en leken.

3D Lung Tumor Spheroids for Oncoimmunological Assays

Een eerste methode is afkomstig van kankeronderzoekster Cleo Goyvaert en vormt een hulpmiddel in het onderzoek naar een van de dodelijkste ziekten ter wereld, met name longkanker. Goyvaert

gebruikt tumorsferoïden met zowel menselijke als dierlijke cellen als alternatieve modellen voor longtumoren in levende muizen. Die sferoïden kunnen onderzoekers een beter inzicht verschaffen over de micro-omgeving van longtumoren. De micro-omgeving van tumoren beïnvloedt de mate van uitzaaiingen, de groei en de resistentie van tumoren tegen behandelingen. Daarom zijn betere modellen van die tumorale micro-omgeving belangrijk voor het screenen van nieuwe geneesmiddelen tegen longkanker. Bovendien kunnen de voorgestelde longsferoïden als blauwdruk dienen voor onderzoek naar andere vaste tumoren.

A Novel Immunoassay for Animal-free Quality Control of Diphtheria-Tetanus-acellular Pertussis Combined Vaccines

Voor kwaliteitstesten van vaccins die op de Europese markt worden geïntroduceerd, gebruiken wetenschappers meestal proefdieren. Toch zijn zelfs voor kwaliteitscontroles van vaccins proefdiervrije methoden in opkomst. Maxime Vermeulen bij Sciensano lichtte in zijn lezing kort een methode toe van het Europese VAC2VAC-consortium. Met deze nieuwe methode zouden wetenschappers het aantal proefdieren aanzienlijk kunnen verminderen voor het testen van vaccins tegen de infectieziekten difterie, tetanus en kinkhoest.

Zeptomics: the contribution of in silico drug discovery to decrease the number of animals used in pre-clinical research

In silico-methoden of computergebaseerde methoden maken dierproeven minder noodzakelijk voor het testen van de veiligheid en de doeltreffendheid van potentiële geneesmiddelen in vroege fasen van geneesmiddelenontwikkeling. Bovendien helpen ze om bijwerkingen van geneesmiddelen te identificeren vóór het preklinisch onderzoek.

Tijdens de studiedag presenteerde Nick Subramanian het op artificiële intelligentie-gebaseerde programma Zeptomics. In een mum van tijd screent het computersysteem een zeer grote hoeveelheid stoffen en voorspelt hun therapeutische of toxische effecten. Aanvullend op de computerscreening kunnen wetenschappers nog *in vivo*- en/of *in vitro*-tests uitvoeren voor verdere validering van de kandidaat-geneesmiddelen.

Human Relevant Models in Biomedical Research – Progressing Science through Innovative Approaches

Het Referentielaboratorium van de Europese Unie voor alternatieve methoden ter vervanging van dierproeven (EURL ECVAM) is verantwoordelijk voor het coördineren en het bevorderen van de ontwikkeling en het gebruik van alternatieve methoden voor dierproeven in fundamenteel en toegepast biomedisch onderzoek en regulatorische testen. Voorts doet het Referentielaboratorium dienst als een uitwisselingspunt voor informatie over het ontwikkelen van alternatieve methoden en staat het in voor de validering van nieuwe alternatieve methoden. Het uitgangspunt van EURL ECVAM is de lage slaagkans van een geneesmiddel om de klinische testfasen met succes te doorstaan en de daaruitvolgende behoefte aan meer humaan-relevante modellen.

Annalisa Gastadello, projectleider en impactanalyste van proefdiervrije methoden voor de Europese Commissie, besprak tijdens haar presentatie de verschillende domeinen waarin EURL ECVAM methoden geselecteerd en goedgekeurd heeft en welke soorten proefdiervrije modellen het best in aanmerking komen voor bepaalde aandoeningen. Net zoals in België heeft op Europees niveau het concept van een databank met alternatieve methoden de wetgever overtuigd, aldus Gastadello. EURL ECVAM zal in 2024 namelijk een databank lanceren die zichzelf voortdurend vernieuwt met

een op artificiële intelligentie gebaseerd systeem dat de meest recent gepubliceerde literatuur scant.

Good In Vitro Method Practices, a tool to increase test readiness for regulatory use

In een laatste voordracht gaf Ingrid Langezaal namens EURL ECVAM meer informatie over het 'Good *In Vitro* Method Practice Guidance'-document dat opgesteld werd door de d'Organisatie voor Economische Samenwerking en Ontwikkeling' (OECD). Het document bevat richtlijnen voor een gedegen ontwikkeling, gebruik en implementatie van *in vitro*-methoden en is van bijzonder belang voor wetenschappers die nieuwe *in vitro*-methoden ontwikkelen. Door de richtlijnen in het document te volgen kunnen wetenschappers hun nieuwe methoden immers sneller laten aanvaarden voor wettelijk gebruik.

Conclusie:

Dierproeven blijven vooralsnog noodzakelijk in biomedisch onderzoek maar de Europese wetgever heeft een duidelijk omlijnd regelgevend kader uitgewerkt om het lijden van proefdieren tot een minimum te herleiden. Tijdens de studiedag deelden enkele onderzoekers hun aanbevelingen voor een transparantere communicatie omtrent dierproeven, nog minder pijnlijke procedures en een betere training van onderzoekers die proefdieren gebruiken.

Daarnaast ontwikkelen zich in een snel tempo proefdiervrije methoden in verschillende biomedische disciplines. Databanken, 3R-centra en Europese netwerkorganisaties kunnen ervoor zorgen dat de kennis over alternatieve methoden voor dierproeven gecentraliseerd wordt en dat de methoden sneller wettelijk toegelaten worden voor bepaalde tests.

De succesvolle studiedag heeft meer dan 250 deelnemers aangetrokken en eindigde met een speech van Jean-Pierre Janssens, diensthoofd van de afdeling Inspectie en Bodem van Leefmilieu Brussel. Janssens richtte zich in zijn dankwoord naar de afdeling Dierenwelzijn van Leefmilieu Brussel voor de organisatie van de studiedag en naar de sprekers die samen met hun organisaties bijdragen tot een verbeterd welzijn bij proefdieren en de vooruitgang van het biomedisch onderzoek in Brussel en daarbuiten.