

25 MAART 2015



## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

|   |   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
|---|---|--|--------------------------------|-----------------------------------|---|---|------------|--|--------------------|---------------|----------|----------------|--------------------|--|---------------------------------------|-----------------------------------|----------|
| 1.1   | Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?<br><i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>                          | <input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in   21000<br><input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen   |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| 1.2   | Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.   | <table border="1"> <tr> <td>Naam instelling of organisatie</td> <td colspan="2">Farma Research Animal Health B.V.</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>9 1 5 3 8 4 5</td> <td></td> </tr> </table>  | Naam instelling of organisatie | Farma Research Animal Health B.V. |   | Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [REDACTED] |  | KvK-nummer         | 9 1 5 3 8 4 5 |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Naam instelling of organisatie                      | Farma Research Animal Health B.V.   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [REDACTED]  |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| KvK-nummer  | 9 1 5 3 8 4 5   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| 1.3   | Vul de gegevens van het postadres in.<br><i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i> | <table border="1"> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Toernooveld</td> <td>300H</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>6525EC</td> <td>Nijmegen</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td colspan="2">NL08RABO0113698461</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td colspan="2">Farma Research Animal Health B.V.</td> </tr> </table>                             | Straat en huisnummer           | Toernooveld                       | 300H  | Postbus   |            |  | Postcode en plaats | 6525EC        | Nijmegen | IBAN           | NL08RABO0113698461 |  | Tenaamstelling van het rekeningnummer | Farma Research Animal Health B.V. |          |
| Straat en huisnummer                                | Toernooveld   | 300H   |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Postbus   |   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Postcode en plaats                                  | 6525EC  | Nijmegen   |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| IBAN  | NL08RABO0113698461  |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Tenaamstelling van het rekeningnummer               | Farma Research Animal Health B.V.   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| 1.4   | Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.  | <table border="1"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>0 2 4 [REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td>[REDACTED]</td> <td>@frah.nl</td> </tr> </table> | (Titel) Naam en voorletters    | [REDACTED]                        | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw. | Functie   | [REDACTED] |  | Afdeling           | [REDACTED]    |          | Telefoonnummer | 0 2 4 [REDACTED]   |  | E-mailadres                           | [REDACTED]                        | @frah.nl |
| (Titel) Naam en voorletters                         | [REDACTED]  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Functie   | [REDACTED]  |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Afdeling  | [REDACTED]  |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Telefoonnummer                                      | 0 2 4 [REDACTED]  |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| E-mailadres   | [REDACTED]  | @frah.nl   |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| 1.5   | <i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.  | <table border="1"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td></td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>   | (Titel) Naam en voorletters    |                                   | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. | Functie   |            |  | Afdeling           |               |          | Telefoonnummer |                    |  | E-mailadres                           |                                   |          |
| (Titel) Naam en voorletters                         |   | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Functie   |   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Afdeling  |   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| Telefoonnummer                                      |   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |
| E-mailadres   |   |  |                                |                                   |   |   |            |  |                    |               |          |                |                    |  |                                       |                                   |          |

|  |   |  |
|--|---|--|
| 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning. | (Titel) Naam en voorletters   | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
|  | Functie   |  |
|  | Afdeling  |  |
|  | Telefoonnummer  |  |
|  | E-mailadres   |  |
| 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?   | <input type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag |  |
|  | <input checked="" type="checkbox"/> Nee   |  |

## 2 Over uw aanvraag

|  |   |
|--|---|
| 2.1 Wat voor aanvraag doet u?  | <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3   |
|  | <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2<br><input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 |
| 2.2 Is dit een <i>wijziging</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is? | <input type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier  |
|  | <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3  |
| 2.3 Is dit een <i>melding</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?   | <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3  |
|  | <input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6  |

## 3 Over uw project

|  |  |   |
|--|--|---|
| 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?  | Startdatum   | 0 1 . 0 4 . 2 0 1 5                         |
|  | Einddatum  | 3 1 . 0 3 . 2 0 2 0                         |
| 3.2 Wat is de titel van het project?   | Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen |   |
| 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?   | Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen |   |
| 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt? | Naam DEC   | DEC Radboud Universiteit                    |
|  | Postadres  | Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen (██████████) |
|  | E-mailadres  | ██████████                                  |

## 4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*
- Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur


## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- DEC Advies

## 6 Ondertekening


- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 

Functie 

Plaats Nijmegen

Datum 24-03-2015

Handtekening 



Centrale Commissie Dierproeven



Centrale Commissie Dierproeven i.o.

2

## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer                     | Type dierproef                                     |
|--------------------------------|--|
| <input type="text" value="1"/> | <input type="text" value="Bioequivalentiestudie"/> |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Ten behoeve van het registratiedossier van een diergeneesmiddel dienen werkzaamheid en veiligheid van het middel te worden aangetoond (volgens EMA Richtlijnen).

Dit kan in bepaalde gevallen door het aantonen van bioequivalentie. Daarbij vergelijkt men het te registreren diergeneesmiddel met een middel dat al op de markt is. Bioequivalentie is toepasbaar in het geval van:

- een generiek diergeneesmiddel
- een andere toedieningsvorm (bv een suspensie ipv een al bestaand tablet)



Bij een bio-equivalentie studie wordt het testproduct vergeleken met een referentieproduct (het al geregistreerde product), dat dezelfde actieve component bevat. De proef wordt uitgevoerd met het kant-en-klare diergeneesmiddel, zoals dat op de markt komt/is. (Dier)geneesmiddelen zijn bio-equivalent, indien onder identieke en geschikte omstandigheden, de biologische beschikbaarheid van de actieve component slechts verschilt binnen bepaalde grenzen. De biologische beschikbaarheid van een diergeneesmiddel wordt bepaald door de snelheid waarmee en de mate waarin de actieve component in de vrije circulatie komt. Dit wordt bepaald door oa de kinetiek parameters Cmax (maximale concentratie van de actieve stof) en de AUCt (oppervlak onder de plasmaconcentratie - tijd curve). Beide parameters worden bepaald voor het testproduct en het referentieproduct en vervolgens vergeleken (de zgn T/R ratio = bv AUC Test / AUC Referentie).

In grote lijnen kan de proef worden uitgevoerd op 2 manieren:

- in cross-over opzet
- in parallel opzet

Crossover opzet is de gebruikelijke opzet. Elk dier krijgt zowel het testproduct als het referentieproduct toegediend: het ene in Periode 1, het andere in Periode 2. Na toediening wordt in elke periode frequent bloed afgenomen. In de plasmamonsters wordt de concentratie van de actieve component bepaald. Vervolgens wordt binnen elk dier de biologische beschikbaarheid van beide producten vergeleken. Door deze crossover opzet zal de variatie tussen de dieren onderling (de inter subject variatie) niet van invloed zijn op de resultaten. Bovendien wordt een dergelijke proef uitgevoerd in 2-way opzet: in Periode 1 krijgt de helft van de dieren het testproduct en de andere helft het referentieproduct. In Periode 2 wordt dit omgedraaid. Daardoor wordt ook de mogelijke invloed van de volgorde van de toedieningen getest. Tussen beide periodes is er een washout periode.

De parallelle opzet wordt toegepast als crossover niet mogelijk is. Bv bij een washout periode die veel te lang moet zijn, indien de dieren te klein zijn om gedurende 2 periodes bloed af te nemen of bij snel groeiende dieren. Bij parallelle opzet krijgt de helft van de dieren het testproduct en de andere helft het referentieproduct.

Primaire uitkomstparameters zijn dus Cmax (maximale concentratie van de actieve stof) en de AUCt (oppervlak onder de plasmaconcentratie - tijd curve).

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

|            |   |
|------------|---|
| Wegen      | Tbv dosisberekening<br>Meestal 1x, vóór Periode 1, soms 2 <sup>e</sup> maal vóór Periode 2  |
| Fixeren    | Tbv toedienen product of met een halster aanbinden (In het geval van lokale applicatie op de huid, zodat een opgebracht product er niet afgelikt kan worden)  |
| Toediening | Crossover: 2x: 1x per periode<br>Parallel: 1x<br>Toediening in de vorm, op de wijze en in de dosering zoals dat in het dossier beschreven wordt voor in de praktijk.<br>Mogelijke toedieningsvormen: tablet, pasta, orale suspensie, uierinjector, zalf, injectievloeistof, spray, enz.<br>Toedieningswijzen: oraal, injectie (IM, SC, IV), lokaal op huid, intramammair, intra-uterine |

**Bloedafname** Na elke toediening: frequente bloedafname.  
In begin heel frequent: doel om rond de te verwachten piekconcentratie van de actieve stof, voldoende bloedmonsters te hebben om deze piek goed te kunnen bepalen. Dus 3 - 4 monsters vóór de piek, 3 - 4 monsters kort erna en daarna met steeds grotere intervallen. Doel: een groot deel van de plasma-tijd curve dient gemeten te worden. De te bepalen AUCt (AUC van 0 tot tijdstip laatste monster) dient minstens 80% van AUC oneindig te zijn.  
Aantal bloedmonsters en afnameschema is afhankelijk van de actieve stof en van de gebruikte diersoort. In de eerste 24 uur zijn dat 12 - 14 monsters. Het laatste monster kan 12 uur na de toediening genomen worden, maar ook na 1 week.  
Het juiste bloedafnameschema wordt bepaald op basis van literatuur, registratiegegevens van het referentieproduct, een eerder uitgevoerde studie met vergelijkbare producten of een pilotstudie.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Het aantal dieren wordt aan de hand van tabellen in de literatuur bepaald, op basis van de Intra-animal variatie voor AUCt en Cmax, plus een aantal vereisten in genoemde EMA Richtlijnen. De variatie binnen een individueel dier kan bepaald worden mbv een pilot-bioequivalentiestudie of een eerder uitgevoerde studie met vergelijkbare producten. Intra-animal variatie kan men alleen bepalen op basis van 2 plasmaconcentratie-tijdcurves binnen 1 dier. In bepaalde gevallen worden aan het aldus bepaalde aantal dieren een aantal extra dieren toegevoegd, om uitval op te kunnen vangen.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

|              |   |
|--------------|---|
| Diersoort    | Rund, paard, varken, schaap, geit.<br>Conform regelgeving dient de studie uitgevoerd te worden bij het doeldier (= diersoort waarvoor men het product wil registreren).   |
| Herkomst     | Regulier landbouwbedrijven en een paardenstoeterij.   |
| Aantallen    | Range bij in het verleden uitgevoerde studies: 12 -38 dieren per proef. Dit zal in de toekomst ook het geval zijn. Pilotstudies kunnen uitgevoerd worden met minder dieren (bv 6). Het totaal aantal dieren en proeven is afhankelijk van de te testen middelen, de actieve component en het aantal opdrachten dat verkregen gaat worden. Maximaal aantal dieren in de komende 5 jaar: rund 150, schaap 100, geit 50, varken 140, paard 100 |
| Levensstadia | Meestal volwassen. Volwassen dieren groeien niet. Daardoor zal er bij cross-over geen verschil zijn tussen Periode 1 en 2. Soms wordt bij runderen gebruik gemaakt van jong volwassen dieren (ongeveer 6 maanden), omdat daarvan de beschikbaarheid beter is. Alleen indien het jonge dier doeldier is, dan zal een jong dier worden gebruikt.  |

Criterium bij al deze keuzes zijn de EMA Richtlijnen en het oordeel van de registratie-autoriteiten.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Het toepassen van bioequivalentie is een sterke vermindering van het aantal te gebruiken dieren en dierproeven op zich. Ten behoeve van de dossieropbouw dienen veiligheid voor de mens, veiligheid voor het dier en werkzaamheid onderbouwd te worden. Daarvoor dienen diverse dierstudies in het gezonde doeldier te worden uitgevoerd. Namelijk: kinetiekstudies, dose determination studies, tolerantiestudies, weefselresidu studies en melkresidu studies. Daarnaast dienen grote veldstudies met zieke dieren te worden uitgevoerd om werkzaamheid aan te tonen. Bioequivalentiestudies vervangen een groot deel van deze studies, doordat een nieuw te registreren product wordt vergeleken met een al geregistreerd product.

Daarnaast is er de mogelijkheid dat bij bepaalde producten zelfs de bioequivalentiestudie niet nodig is. De bioequivalentiestudie wordt dan geheel vervangen door in-vitro werk.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Bij proeven met genoemde diersoorten blijven de dieren op hun eigen bedrijf. Ook na de studie blijven ze daar.

De dieren blijven dus in de eigen omgeving, verzorgd door de bekende mensen. Er is geen stress door verandering van voer, huisvesting, enz.

Frequente bloedafname gebeurt heel rustig zonder pijn te veroorzaken. Bij pijn zou het onmogelijk zijn om bv een volwassen koe of paard frequent bloed af te nemen. Het dier zou dat simpelweg niet accepteren.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De proeven worden uitgevoerd conform de geldende EMA en VICH richtlijnen en onder het kwaliteitssysteem GLP (zie Projectvoorstel Dierproeven 3.1). Daardoor kunnen ze wereldwijd gebruikt worden in registratiedossiers. VICH Richtlijnen zijn juist om die reden opgesteld. Zoals gesteld in de inleiding van de desbetreffende Bioequivalentie Richtlijn:

"The International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH) strives to eliminate repetitious and unnecessary testing through harmonisation of regulatory requirements for the registration of veterinary products, a goal that undoubtedly

leads to a reduction in the number of animals used for product development and registration."

De proeven worden uitgevoerd in opdracht van bedrijven die een diergeneesmiddel op de markt willen brengen.

Als men al beschikt over een kwalitatief goede proef, uitgevoerd conform de geldende richtlijnen, dan heeft een nieuwe studie geen zin.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Regulier landbouwbedrijf of paardenstoeterij

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Bioequivalentiestudies moeten worden uitgevoerd met het kant-en-klare diergeneesmiddel dat wordt toegediend op de manier zoals dat na toelating ook zal gebeuren. In veel opzichten dient de praktijk zover mogelijk benaderd te worden. Huisvesting van deze dieren op speciale proefdierfaciliteiten vereist transport, en verandering van huisvesting, verzorging, voeding, enz. Dit zal extra stress veroorzaken, hetgeen mogelijk invloed zal hebben op de studie. Bovendien is het in veel gevallen niet mogelijk de dieren na de proef terug te brengen naar het oorspronkelijke bedrijf. Dit zou betekenen dat ze geëuthanaseerd zouden moeten worden, ondanks dat dat in het kader van de proef niet nodig is.

Een ander voordeel is dat we nu per individueel dier de beschikking hebben over alle historische gegevens, inclusief ziekte/medicatie/vaccinaties.

Een adequate verzorging is gewaarborgd doordat de dieren worden verzorgd door de vaste verzorgers van de dieren (veehouder, verzorgers, enz), waarvoor ontheffing is verleend door nVWA. Dit zijn mensen met ervaring met de desbetreffende diersoorten. Dit wordt gecontroleerd door vergunninghouder en (bij voorkeur tijdens elke experiment) geïnspecteerd door de IVD en Quality Assurance Officer. Van de dierverzorgers is een trainings- en opleidings dossier aanwezig. Per proef worden deze mensen getraind voor WOD en GLP. De verzorgers verrichten geen studiehandelingen. Zij voeren en verzorgen de dieren. Ze zijn alleen ook betrokken bij de dagelijkse observatie.

Studiehandelingen worden verricht door personeel van vergunninghouder en (indien nodig) door een praktiserend dierenarts. Deze dierenarts dient actuele ervaring te hebben met de diersoort en de uit te voeren handeling.

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Stress

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- wegen
- injectie (bv IM, SC, IV), indien het te testen product een injectievloeistof is
- tijdelijke individuele huisvesting na toediening van een product (bv een applicatie op de huid: ter voorkoming van likken)
- tijdelijk fixeren of vastzetten mbv een halster van een dier tijdens toediening van het product

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Varken: Er is slechts sprake van heel kort moment van fixatie. Dieren worden heel rustig benaderd. De andere dieren worden niet echt gefixeerd. Frequente bloedafname (tot ongeveer 12-14 monsters) vindt alleen eerste 24 uur plaats. daarna (indien van toepassing) met veel langere tijdsintervallen.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

---

**K. Classificatie van ongerief**

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Licht.

---

**Einde experiment****L. Wijze van doden**

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

---

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

---



Centrale Commissie Dierproeven



Centrale Commissie Dierproeven i.o.

3

## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hogere onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

De aanvrager van dit project is een Contract Research Bedrijf, dat projecten uitvoert in opdracht van farmaceutische bedrijven. Het project wordt uitgevoerd in het kader van de wettelijk verplichte registratie van diergeneesmiddelen. Een bedrijf dat een markttoelating voor een diergeneesmiddel wil verkrijgen, dient hiertoe een registratiedossier van het middel samen te stellen, waarin productsamenstelling, veiligheid voor het dier, veiligheid voor de mens en werkzaamheid beschreven zijn. Ten behoeve van dit dossier dienen zowel in-vitro als in-vivo studies te worden uitgevoerd. De in-vivo studies betreffen oa studies met het doeldier. Dit is de diersoort waarvoor men markttoelating wil verkrijgen. Voorbeelden van dit soort studies zijn: tolerantiestudies, residustudies (ter bepaling van residuen van het diergeneesmiddel in vlees, melk, eieren), kinetiekstudies, effectiviteitsstudies, bioequivalentiestudies.

De studies dienen te worden uitgevoerd met het diergeneesmiddel zoals men het op de markt wil brengen en toegediend zoals dat later in de praktijk zal gebeuren.

Het dossier wordt beoordeeld door national Registratieautoriteiten (in Nederland: College ter beoordeling Geneesmiddelen: CBG) of Europese autoriteit (European Medicines Agency: EMA) in Londen.

Dit projectvoorstel betreft bioequivalentiestudies.

Bij een bio-equivalentie studie wordt het testproduct vergeleken met een referentieproduct (het al geregistreerde product), dat dezelfde actieve component bevat. De proef wordt uitgevoerd met het kant-en-klare diergeneesmiddel, zoals dat op de markt komt/is.

(Dier)geneesmiddelen zijn bio-equivalent, indien onder identieke en geschikte omstandigheden, de biologische beschikbaarheid van de actieve component slechts verschilt binnen bepaalde grenzen. De biologische beschikbaarheid van een diergeneesmiddel wordt bepaald door de snelheid waarmee en de mate waarin de actieve component in de vrije circulatie komt.

Deze studies worden uitgevoerd volgens EMA Richtlijnen. Voor bioequivalentiestudies zijn dat oa:

- Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species; EMEA/CVMP/133/99
- Guideline on the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products; EMA/CVMP/016/00
- VICH GL52 on Bioequivalence: blood level bioequivalence study; EMA/CVMP/VICH/751935/2013

Daarnaast worden vrijwel alle studies uitgevoerd onder de kwaliteitsrichtlijn:

- OECD Principles of Good Laboratory Practice (ENV/MC/CHEM(98)17)

De studies kunnen in de hele wereld gebruikt worden in registratiedossiers.



### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Vraagstelling:

Is het te testen diergeneesmiddel, wat betreft werkzaamheid en veiligheid vergelijkbaar met een diergeneesmiddel dat al op de markt is?

Doel is het verkrijgen van een markttoelating voor het te testen diergeneesmiddel.

Farma Research Animal Health voert dit soort onderzoek al jaren uit en beschikt over de benodigde kennis en ervaring wat betreft de uitvoering en opzet van deze proeven en wat betreft de wettelijke eisen en regelgeving op het gebied van diergeneesmiddelenregistratie.

### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het beschreven project wordt uitgevoerd in het kader van het samenstellen van een dossier ten behoeve van een markttoelating als diergeneesmiddel. Deze markttoelatingsprocedure vormt een waarborging van de kwaliteit van diergeneesmiddelen.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Het project bestaat uit individuele bioequivalentiestudies. Dit zijn verschillende, los van elkaar staande proeven met verschillende diersoorten, verschillende diergeneesmiddelen, verschillende toedieningsvormen.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Te gebruiken diersoorten zijn: rund, paard, varken, schaap, geit.

Dit projectvoorstel betreft bioequivalentiestudies. In een dergelijke studie worden 2 producten vergeleken (bv een generiek met een specialité of een injectie met een orale toediening). De dieren krijgen het ene product toegediend, waarna frequent bloedmonsters worden afgenomen. Na een bepaalde periode (bv 1 week) wordt het andere product toegediend. In de bloemonsters wordt de concentratie van de actieve stof bepaald en met elkaar vergeleken.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De enige samenhang is, dat het allemaal bioequivalentiestudies betreffen. De studies zijn op zich los van elkaar staande projecten, individueel uitgevoerd in opdracht van farmaceutische bedrijven. De enige echte samenhang die kan voorkomen is, dat een bioequivalentiestudie voorafgegaan wordt door een pilotstudie om een juiste studieopzet te bepalen voor de definitieve studie. Een bioequivalentiestudie wordt voorafgegaan door een inventarisatie van de registratie-eisen (registratiestatus van het al geregistreerde product, mogelijkheid studies achterwege te laten, bioequivalentie mogelijk op basis van bloedconcentraties, enz.). Daarnaast worden de resultaten van eerder uitgevoerde studies bekeken. Dit wordt ondersteund dmv in-vitro testen met de diergeneesmiddelen. Als uit deze inventarisatie en testen blijkt dat registratie mbv bioequivalentie mogelijk is, dan pas wordt de uiteindelijke studie uitgevoerd. Als men een product op basis van bioequivalentie kan registreren, dan vervangt een bioequivalentiestudie diverse andere studies (tolerantiestudie, effectiviteitsstudie, farmacokinetiekstudie, weefselresidustudie, melkresidustudie, veldproeven met patiënten).

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

| Volgnummer | Type dierproef        |
|------------|-----------------------|
| 1          | bioequivalentiestudie |
| 2          |                       |
| 3          |                       |
| 5          |                       |
| 6          |                       |
| 7          |                       |
| 8          |                       |
| 9          |                       |
| 10         |                       |

## DEC-advies

### A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:2015-0046
2. Titel van het project: Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen
3. Titel van de NTS: Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC: RUDEC
  - telefoonnummer contactpersoon: 024-██████████
  - mailadres contactpersoon: ██████████@radboudumc.nl
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC: 17-02-2015
  - aanvraag compleet
  - in vergadering besproken: 03-03-2015
  - anderszins behandeld
  - termijnonderbreking(en) van 12-03-2015 tot 13-03-2015
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
  - aanpassing aanvraag:20-03-2015
  - advies aan CCD: 24-03-2015
7. Eventueel horen van aanvrager
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager
  - Strekking van de vraag / vragen
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
  - Datum: 12-03-2015
  - Strekking van de vragen: De aanvrager wordt verzocht een inschatting van het totaal aantal dieren (uitgesplitst per diersoort) toe te voegen aan het projectvoorstel en dit ook te vermelden in de niet-technische samenvatting. Voorts wordt de aanvrager verzocht het begrip bioequivalentiestudie nader toe te lichten in de niet-technische samenvatting. Ook wordt gevraagd de samenhang van deze experimenten verder toe te lichten in het projectvoorstel. De RUDEC wijst de aanvrager erop dat waarschijnlijk per diersoort een beschrijving van de dierproeven ingediend moet worden. Andere vragen betreffen kleine, soms slechts tekstuele, wijzigingen in de vergunningaanvraag.
  - Datum antwoord: 13-03-2015 en 20-03-2015
  - Strekking van het antwoord: De inschatting van het totaal aantal dieren is toegevoegd in het projectvoorstel en de niet-technisch samenvatting. De gevraagde toelichtingen van het begrip bioequivalentiestudies en van de samenhang van de experimenten zijn verwerkt in de aanvraag. Aangezien opsplitsing van de beschrijving van de dierproeven in 5 identieke formulieren geen extra informatie oplevert, gaat de aanvrager er vanuit dat de CCD akkoord gaat met de gegeven beschrijving van de

dierproeven die betrekking heeft op meerdere diersoorten. Bij nadere bestudering van de toelichting en de vragen in het formulier is de RUDEC bovendien van mening dat de beschrijving van een type dierproef betrekking kan hebben op meerdere diersoorten.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Expert advies

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren. Zij acht zich voldoende onafhankelijk en onpartijdig, en beschikt over voldoende expertise om een advies uit te brengen over deze vergunningaanvraag.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is één DEC-lid, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering. De overige DEC-leden beschikken over voldoende expertise voor een goede toetsing van de vergunningaanvraag.

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:
  - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling, namelijk het verrichten van bioequivalentiestudies voor derden. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. De voorgestelde dierproeven waarborgen namelijk dat diergeneesmiddelen die op de markt zullen worden gebracht van goede kwaliteit zijn.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De DEC acht dit bedrijf competent op dit gebied. De gekozen aanpak leidt tot betrouwbare uitspraken op het gebied van bioequivalentie.
5. Er is sprake van volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren: de dieren zijn niet gefokt voor dierproeven en de locatie is niet een instelling van de vergunninghouder. De redenen om hier van af te wijken zijn voldoende onderbouwd en wat de locatie betreft in het belang van het welzijn van de dieren.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief bij de dieren wordt hoofdzakelijk bepaald door de volgende handelingen: subcutane/intramusculaire/intraveneuze/orale/dermale/intramammaire/intra-uteriene toediening van een geneesmiddel, gevolgd door herhaalde bloedafname. Alle dieren ondergaan deze handelingen tweemaal. De dieren blijven in hun vertrouwde omgeving

en er verandert niets aan hun normale huisvesting. Sommige dieren krijgen gedurende korte tijd een halster om het diergeneesmiddel te kunnen toedienen of bloed af te kunnen nemen. De DEC schat het ongerief, dat met name veroorzaakt wordt door de herhaalde bloedafnames, in als licht. Het cumulatief ongerief voor het beschreven project is dus juist ingeschat.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De bioequivalentiestudies zelf zijn eigenlijk al een vervanging van uitgebreide dierproeven voor registratie van een diergeneesmiddel. Deze dierproeven zijn wettelijk vereist voor registratie van een diergeneesmiddel. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten, aangezien deze studies alleen uitgevoerd kunnen worden in het dier waarvoor het geneesmiddel is geïndiceerd.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. Indien nodig wordt eerst een pilotexperiment met een klein aantal dieren uitgevoerd om het juiste bloedafnameschema te bepalen. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. De gevolgde protocollen op basis van wereldwijd gehanteerde richtlijnen voorkomen duplicering.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. Bij de opzet wordt rekening gehouden met dierenwelzijn door de dieren niet uit hun vertrouwde omgeving te halen, en niets te veranderen aan de gebruikelijke verzorging en verzorgers van de dieren. Er is geen stress door verandering van voer, verandering van huisvesting of door transport. Bloedafnames worden op rustige wijze door bekwame personen uitgevoerd. De DEC is er van overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.  
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project, zelfstandig leesbaar, beknopt en begrijpelijk geformuleerd.

## D. Ethische afweging

Op basis van de onder C genoemde overwegingen komt de DEC tot de volgende ethische afweging. Bij de dierproeven en bij de verzorging, behandeling en huisvesting van de dieren wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Het ongerief veroorzaakt door de dierproeven is licht.

Tegenover deze nadelige gevolgen voor de dieren staat het gegeven dat deze bioequivalentie studies wettelijk vereist zijn en tot doel hebben om te waarborgen dat diergeneesmiddelen die op de markt zullen worden gebracht van goede kwaliteit zijn. De DEC acht het belang van die doelstelling substantieel, de concrete doelstellingen zijn haalbaar en kunnen niet zonder dieren worden behaald. Naar het oordeel van de commissie is daarom het lichte ongerief dat de dieren in dit onderzoek ondergaan, in de vorm van lichte stress en mogelijk lichte pijn bij toediening van de middelen en bij de bloedafnames, ethisch aanvaardbaar.

## **E. Advies**

1. Advies aan de CCD
  - De DEC adviseert de vergunning te verlenen
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



## Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Farma Research Animal Health

Toernooiveld 300H  
6525 EC Nijmegen  
Nederland

### Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD2100201561

**Uw referentie**

**Bijlagen**  
1

Datum 21 april 2015  
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 24 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen" met aanvraagnummer AVD2100201561. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

### Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. U kunt met uw project "Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen" starten. De vergunning wordt afgegeven van 21 april 2015 tot en met 31 maart 2020.

### Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie DEC Radboud Universiteit gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering, maar stellen daarbij de volgende voorwaarden: 1) De inspanningen op het gebied van vermindering, verfijning en vervanging worden vastgelegd in overleg met de IvD voor dat de opdracht gestart wordt. Vooral wat de vervanging betreft dient helder omschreven te worden welke criteria gehanteerd worden in het besluit om toch in vivo - experimenten te doen en wie bevoegd is om deze beslissing te nemen. Deze overweging moet - in overleg met de IvD - bij elke opdracht worden gemaakt. Deze voorwaarde wordt gesteld omdat in de beschrijving van de dierproeven staat dat het mogelijk is dat het bij sommige producten niet nodig is om een bioequivalentiestudie te doen en dat deze studie dan geheel vervangen wordt door in vitro - onderzoek. Het is echter niet duidelijk welke criteria gebruikt worden om tot deze beslissing te komen, wie bevoegd is om deze beslissing te nemen en ook niet of deze overweging bij elke aanvraag wordt gemaakt, en 2) De bioequivalentiestudies mogen enkel uitgevoerd worden voor op de Europese markt toegelaten diergeneesmiddelen. Wij kunnen geen toestemming geven voor het uitvoeren van dierproeven voor diergeneesmiddelen die omwille van volksgezondheidsredenen of veiligheid van de voedselketen niet op de Europese markt worden toegelaten. Indien er zwaarwichtige redenen zijn om bioequivalentiestudies uit te voeren voor dergelijke diergeneesmiddelen, dient u hiertoe een aparte projectvergunningsaanvraag in te dienen. De bovenstaande motivering en de in de bijlage

**Datum**

21 april 2015

**Onze referentie**Aanvraagnummer  
AVD2100201561

opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

**Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in de hoofding van deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

De Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

**Bijlagen**

- Vergunning

- Hiervan deel uitmakend: - DEC-advies  
- Weergave wet- en regelgeving



## Projectvergunning

### gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan  
Naam: Farma Research Animal Health  
Adres: Toernooiveld 300H  
Postcode en woonplaats: 6525 EC Nijmegen  
Deelnemersnummer: AVD21000

deze projectvergunning voor het tijdvak 21 april 2015 tot en met 31 maart 2020, voor het project "Bioequivalentiestudies tbv markttoelating van diergeneesmiddelen" met aanvraagnummer AVD2100201561, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Radboud Universiteit.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 24 maart 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij brief op 24 maart 2015;
  - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij brief op 24 maart 2015;
  - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 24 maart 2015, ontvangen op 24 maart 2015

### Dierproeven

| Naam dierproef        | Diersoort | Aantal dieren | Ernst | Voorwaarden  |
|-----------------------|-----------|---------------|-------|--|
| Bioequivalentiestudie | Rund      | 150           | Licht | 1) De inspanningen op het gebied van vermindering, verfijning en vervanging worden vastgelegd in overleg met de IvD voor dat de opdracht gestart wordt. Vooral wat de vervanging betreft dient helder omschreven te worden welke criteria gehanteerd worden in het besluit om toch in vivo – experimenten te doen en wie bevoegd is om deze beslissing te nemen. Deze overweging moet – in overleg met de IvD – bij elke opdracht worden gemaakt.<br>2) De bioequivalentiestudies mogen enkel uitgevoerd worden voor op de Europese markt toegelaten diergeneesmiddelen. |
|                       | Varken    | 140           | Licht |  |
|                       | Paard     | 100           | Licht |  |
|                       | Schaap    | 100           | Licht |  |
|                       | Geit      | 50            | Licht |  |

## **Weergave wet- en regelgeving**

### **Dit project en wijzigingen**

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

### **Verzorging**

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn.

In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

### **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onvermijdelijk is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

### **Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade

**Datum**

21 april 2015

**Onze referentie**Aanvraagnummer  
AVD2100201561

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

**Locatie**

De dierproeven worden (niet allemaal) verricht in een inrichting van een gebruiker volgens artikel 10g van de wet.

30 MAART 2015



# Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

## 1 Gegevens aanvrager

1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

Ja > Vul uw deelnemernummer in | 22400  
 Nee > U kunt geen aanvraag doen

---

1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

|   |  |  |
|---|--|--|
| Naam instelling of organisatie                      | Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv |  |
| Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [REDACTED]                                       |  |
| KvK-nummer  | 5 5 5 3 0 1 3 3                                  |  |

---

1.3 Vul de gegevens van het postadres in.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*

|                                       |                            |       |
|---------------------------------------|----------------------------|-------|
| Straat en huisnummer                  | J.C. van Houtenlaan        | 36    |
| Postbus                               | postbus 36 (1380 AA Weesp) |       |
| Postcode en plaats                    | 1381CP                     | Weesp |
| IBAN                                  | NL52DEUT0265175240         |       |
| Tenaamstelling van het rekeningnummer | Boehringer Ingelheim AHO   |       |

---

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

|                             |            |   |
|-----------------------------|------------|---|
| (Titel) Naam en voorletters | [REDACTED] | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | [REDACTED] |   |
| Afdeling                    | [REDACTED] |   |
| Telefoonnummer              | [REDACTED] |   |
| E-mailadres                 | [REDACTED] | @boehringer-ingelheim.com   |

---

1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.

|                             |  |  |
|-----------------------------|--|--|
| (Titel) Naam en voorletters |  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     |  |  |
| Afdeling                    |  |  |
| Telefoonnummer              |  |  |
| E-mailadres                 |  |  |

|  |  |  |
|--|--|--|
| 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning. | (Titel) Naam en voorletters  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
|  | Functie  |  |
|  | Afdeling   |  |
|  | Telefoonnummer   |  |
|  | E-mailadres  |  |
| 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?   | <input checked="" type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag |  |
|  | <input type="checkbox"/> Nee   |  |

## 2 Over uw aanvraag

|  |   |
|--|---|
| 2.1 Wat voor aanvraag doet u?  | <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3   |
|  | <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2<br><input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 |
| 2.2 Is dit een <i>wijziging</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is? | <input type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier  |
|  | <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3  |
| 2.3 Is dit een <i>melding</i> voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?   | <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3  |
|  | <input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6  |

## 3 Over uw project

|  |   |                                     |
|--|---|-------------------------------------|
| 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?  | Startdatum  | 0 1 _ 0 5 _ 2 0 1 5                 |
|  | Einddatum   | 0 1 _ 0 5 _ 2 0 2 0                 |
| 3.2 Wat is de titel van het project?   | Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins(kandidaten) |                                     |
| 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?   | Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins(kandidaten) |                                     |
| 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt? | Naam DEC  | DEC BIAHO                           |
|  | Postadres   | postbus 36 (1380AA Weesp)           |
|  | E-mailadres   | ██████████@boehringer-ingelheim.com |

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*
- Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- 

## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
  - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
  - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
  - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
  - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam [Redacted]

Functie [Redacted]

Plaats Weesp

Datum 26-mrt-2015

Handtekening [Redacted]





## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv
- 1.3 Vul de titel van het project in. Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins en vaccin-kandidaten (201501).

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
  - Translationeel of toegepast onderzoek
  - Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
  - Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
  - Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
  - Hoger onderwijs of opleiding
  - Forensisch onderzoek
  - Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

## **3 Algemene projectbeschrijving**

### **3.1 Achtergrond**

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Bestaande vaccins moeten volgens Europese Wetgeving worden getest volgens de geldende monografieën van de Europese Pharmacopoeia. Ook nieuwe vaccins (en vaccinkandidaten) dienen te moeten worden getest op veiligheid en werkzaamheid in dierproeven welke gebaseerd zijn op de verschillende EP monografieën.

### **3.2 Doel**

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Geproduceerde vaccins moeten volgens wettelijke bepaling worden getest volgens de diverse EP monografieën. Voor het testen van vaccinkandidaten op werkzaamheid en veiligheid is het wenselijk dat deze worden getest volgens de verschillende EP monografieën of volgens dierproeven welke gebaseerd zijn op deze monografieën.

### **3.3 Belang**

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Pluimvee vaccins zijn nodig om de diergezondheid van een koppel dieren te kunnen waarborgen. Nieuwe vaccinkandidaten worden gezocht om aan de vraag vanuit het veld naar veiligere, welzijnsverbeterende en beter werkzame vaccins te kunnen blijven voldoen.

### **3.4 Onderzoeksstrategie**

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Vaccinkandidaten worden getest in vitro voordat deze in vivo worden ingezet in een dierproef. Bestaande vaccins worden volgens wettelijke bepaling getest.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

In veiligheid-studies en zuiverheid-studies worden vaccins (en vaccinkandidaten) volgens normale of meervoudige dosering toegediend. In werkzaamheid-studies worden gevaccineerde dieren gechallenged met het pathogeen waarmee het vaccin is geformuleerd.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.



De ontwikkeling van vaccins gaat via een Proof of Mechanism (POM), Proof of Principle (POP), en een Proof of Concept (POC) waarna pas met voldoende resultaat het definitieve bewijs in een dierproef zal worden onderzocht.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

| Volgnummer | Type dierproef   |
|------------|--|
| 1          | 15-003 Testing the in vivo replication of reCHVT candidate vector constructs |
| 2          | 15-004 Testing of NDV MLV vaccine candidates for clinical safety             |
| 3          | 15-009 Testing the efficacy of tsNDV against a velogenic NDV challenge       |
| 5          |  |
| 6          |  |
| 7          |  |
| 8          |  |
| 9          |  |
| 10         |  |



## Bijlage Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operation bv
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. Volgnummer Type dierproef  
3.4.4.1. toegepast onderzoek

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Het vaccineren van kippen op 1-dag-leeftijd, met een HVT die een additioneel antigeen tot expressie kan brengen is succesvol gebleken in het beheersen van IBD, ND en ziekte van Marek. Tot nu toe is er echter geen recombinant HVT vaccin beschikbaar die meerdere antigenen tot expressie kan brengen. De ontwikkeling van een bovenstaand vaccin is alleen mogelijk wanneer naast de resultaten van in vitro testen, ook getest wordt dat HVT replicateert in vivo. Voor dit doel worden tot 20 recombinant HVT constructen getest in 1-dag-oude SPF kippen waarna virus replicatie wordt getest in verschillende weefsels op 7, 14, en 21 dagen postvaccinatie. Voor het bepalen van de basale waarden van de verschillende parameters is een positief controle groep met dieren die worden gevaccineerd met een wildtype rechVT, en eenmalig een negatief controle groep met dieren die onbehandeld blijven benodigd.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Tien één-dag-oude SPF kippen per groep worden subcutaan in de nek gevaccineerd met 0.2ml van één van de 20 recombinant HVT vaccin kandidaten. Op 7 en 14 dagen post vaccinatie wordt van alle kippen 5 tot 10 veren afgenomen. Op 14 dagen post vaccinatie wordt per groep van 10 dieren, 5 dieren maximaal bloed afgenomen via hartpunctie onder anesthesie. Direct na bloedafname worden de dieren geëthanaseerd en aangeboden voor sectie. Op 21 dagen post vaccinatie wordt van de resterende dieren 5 tot 10 veren afgenomen, en maximaal bloed afgenomen via hartpunctie onder anesthesie. Na bloedafname worden de dieren geëthanaseerd en aangeboden voor sectie.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De experimentele unit bestaat, vanwege 2 monsternamen momenten, uit 5 dieren. Per experimentele unit zijn minstens 3 dieren met een respons benodigd om conclusies te kunnen trekken uit de resultaten. Rekening houdend met één non-responder en één overleden dier per unit rechtvaardigt het aantal van 5 dieren per unit, en dus 10 dieren per groep.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Kip is het doeldier; SPF-dieren (eigen fok) ter voorkomen van interferentie met MDA; 260 dieren totaal opgesplitst in:

5 sessies met per sessie 1 groep van 10 positief controle dieren;

1 sessie met 1 groep van 10 negatief controle dieren;

5 sessies met per sessie 4 groepen van 10 rechVT behandelde dieren van 1-dag leeftijd.

Duur studie tot 21 dagen leeftijd.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Door het combineren van 4 verschillende rechVT kandidaten per trial is het aantal positief controle groepen gereduceerd. Negatief controle groep wordt in één trial toegevoegd (indien de flock van moederdieren niet veranderd).

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De kans op pijn, lijden of angst is verwaarloosbaar klein. Dieren worden in een isolator op onderdruk gehuisvest waardoor de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum is beperkt.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is. De dierproef is nodig voor het testen van nieuwe constructs voor het ontwikkelen van nieuwe vaccins. De dierproef is niet wettelijk verplicht en betreft een nieuwe aanvraag.

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### **Ongeriefinschatting/humane eindpunten**

#### **H. Pijn en pijnbestrijding**

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fixatie voor toepassing identificatie door middel van wing-tags/pootring; fixatie voor toediening vaccin; toediening vaccin subcutaan op 1-dag leeftijd; fixatie voor afname veren; 1 of 2 maal afname 5 - 10 veren; beperking bewegingsruimte door huisvesting isolator.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

zie boven

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Verrijkmateriaal in de vorm van zitstokken wordt aangeboden.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht ongerief

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Van alle dieren wordt maximaal bloed afgenomen onder anaesthesie, en daarna geeuthanaseerd zodat sectie kan worden uitgevoerd.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Bijlage Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. Volgnummer Type dierproef

3.4.4.2 toegepast onderzoek

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Newcastle disease (ND) is een zeer besmettelijke pluimveeziekte met een grote economische impact. Stringente hygiënische maatregelen alleen zijn niet voldoende om uitbraken te voorkomen zodat ND alleen met behulp van vaccinatie kan worden bestreden. De beschikbare ND virus MLV's tonen echter verschillende mate van attenuatie wat zich uit in klinische verschijnselen in één-dag-oude kuikens. Sommige vaccins, zoals Volvac, veroorzaken veel verschijnselen in één-dag-oude broilers. Om deze reden is het noodzakelijk om een vaccin te ontwikkelen dat minder bijwerkingen geeft in deze dieren. Voor dit doel zijn twee temperature-sensitive (ts) vaccin kandidaten gebaseerd op de ND virus stam LaSota geselecteerd die repliceren op het perifere epitheel in plaats van in de trachea, longen en luchtzakken. Om te testen of deze vaccin-kandidaten minder bijwerkingen veroorzaken worden per vaccin 30 commerciële



broilers op één dag leeftijd gevaccineerd met ts-NDV C1 of C2. Ter vergelijking worden evenveel broilers gevaccineerd volgens bijsluiter met Volvac ND MLV, of Clone 30, dat fungeert als benchmark. Een vijfde groep van 40 commerciële broilers wordt niet gevaccineerd maar fungeert als negatief controle groep. Van 10 dieren van de negatieve controle groep wordt op één dag leeftijd bloed afgenomen door middel van decapitatie. Op 8, 15, 22, en 29 dagen leeftijd worden alle dieren gewogen. Op 8 dagen en op 29 dagen leeftijd wordt van elke groep 5 dieren geëuthanaseerd ter beoordeling van ciliostasis. Op 15, 22, en 29 dagen leeftijd wordt van alle dieren bloed afgenomen. Op 29 dagen leeftijd worden alle overgebleven dieren geëuthanaseerd. De primaire uitkomstparameter zijn de klinische verschijnselen, ciliostasis en verschillen in lichaamsgewicht, secundair serologie.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

In totaal worden 160 dieren ingezet in de dierproef. Op de dag van uitkomst worden 120 van de 160 broilers oculair gevaccineerd met 0.03ml van één van de vier vaccins. Van de overige 40 dieren wordt van 10 dieren bloed afgenomen door middel van decapitatie. Alle dieren worden gewogen op 8, 15, 22, en 29 dagen leeftijd. Op 15, 22, en 29 dagen leeftijd wordt van alle dieren 1 - 2ml bloed afgenomen. Op 8 dagen en op 29 dagen leeftijd wordt van elke groep 5 dieren geëuthanaseerd. Op 29 dagen leeftijd worden alle overgebleven dieren geëuthanaseerd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De spreiding in gewicht tussen broilers van dezelfde leeftijd (met behulp van de variantie van de resultaten van studie 14-048 en relatieve delta van 10%; minimaal 21 dieren per groep), het op SD7 offeren van 5 dieren per groep voor ciliostasis, en het minimaal benodigde aantal samples voor een statistisch te verantwoorden resultaat bepaald door de ELISA (minimaal 23 dieren per groep) verantwoordt, rekening houdend met (uitval) het aantal van 30 dieren per groep.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Kip is het doeldier; commerciële broilers vanwege doeltype; 160 dieren totaal opgesplitst in:

2x30 dieren gevaccineerd met tsNDV C1 ofsc2;

1x30 dieren gevaccineerd met Volvac ND MLV (positief controle groep);

1x30 dieren gevaccineerd met een commercieel vaccin (positief controle groep);

1x40 dieren ongevaccineerd (negatief controle groep).

Duur studie tot 29 dagen leeftijd.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

**D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Door middel van een statistisch toetsing is het minimale aantal dieren per groep berekend.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Niet van toepassing want geen aanleiding.

**Herhaling en duplicering**

**E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De dierproef is nodig voor het testen van nieuwe vaccinkandidaten voor het ontwikkelen van nieuwe vaccins. De dierproef is niet wettelijk verplicht en de aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

**Huisvesting en verzorging**

**F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

**G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

**Ongeriefinschatting/humane eindpunten**

#### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdooving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fixatie voor toepassen identificatie door middel van wing-tags/pootring; fixatie voor toediening vaccin (120 dieren); toediening vaccin (120 dieren) oculair op 1-dag leeftijd; fixatie voor afname bloed (10 dieren via decapitatie, 115 dieren tweemaal, 25 dieren driemaal); afname bloed; fixatie voor opnemen lichaamsgewicht.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Zie boven.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Geen maatregelen nodig.

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.  
licht ongerief

#### L. Wijze van doden

### Einde experiment

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren worden aangeboden voor sectie of kunnen aan het einde van de studie niet meer hergebruikt worden.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Bijlage Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. Volgnummer 3.4.4.3 Type dierproef toegepast onderzoek

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Newcastle disease (ND) is een zeer besmettelijke pluimveeziekte met een grote economische impact. Stringente hygiënische maatregelen alleen zijn niet voldoende om uitbraken te voorkomen zodat ND alleen met behulp van vaccinatie kan worden bestreden. De kans bestaat echter dat het RNA virus genetisch kan veranderen in een ander serotype. De beschikbare ND virus MLV's tonen verschillende mate van attenuatie wat zich uit in klinische verschijnselen in één-dag-oude kuikens. In deze dierproef worden twee temperature-sensitive (ts) vaccin kandidaten gebaseerd op de ND virus stam LaSota getest op effectiviteit wat betreft het induceren van bescherming in SPF legkippen volgens de EP monografie 450. In totaal worden 3 groepen van 20 SPF-legkippen gevaccineerd met ts-NDV C1, C2, of een commercieel verkrijgbaar vaccin, en vervolgens gechallengeed met NDv Herts. Een vierde groep van 10 SPF-leghennen wordt niet

gevacineerd maar als negatief controle groep alleen gechallengeed. De primaire uitkomstparameter zijn de klinische verschijnselen, secundair serologie. Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

In totaal worden 75 dieren ingezet in de dierproef. Op de dag van uitkomst worden 60 van de 75 leghennen oculair gevaccineerd met 0.03ml van één van de drie vaccins. Van 5 dieren wordt via decapitatie bloed afgenomen. Van alle dieren wordt op 3 weken leeftijd bloed afgenomen en vervolgens IM gechallengeed met 105 ELD50 NDV Herts in 0.1ml. Tot twee weken post-challenge worden de dieren dagelijks klinische geïnspecteerd en op 5 weken leeftijd worden alle overgebleven dieren geëuthanaseerd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Het aantal dieren is gebaseerd op EP monografie 450. De groep dieren gevaccineerd met het commerciële vaccin wordt ingezet als positieve controle groep.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Kip is het doeldier; SPF-dieren (eigen fok) ter voorkomen van interferentie met MDA; 75 dieren totaal opgesplitst in:

2x20 dieren gevaccineerd met tsNDV C1 of C2;

1x20 dieren gevaccineerd met een commercieel vaccin (positief controle groep);

1x10 dieren ongevaccineerd gechallengeed (negatieve controle groep);

1x5 dieren ongevaccineerd voor bloedafname SD1

Duur studie tot 35 dagen leeftijd.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

De groepsgrootte is volgens EP.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.



Dieren die ernstige klinische verschijnselen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag zullen worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamelijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen. Alle inspecties en/of beoordelingen worden opgenomen in het study report.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De dierproef is nodig voor het testen van nieuwe vaccinkandidaten voor het ontwikkelen van nieuwe vaccins. De dierproef is niet wettelijk verplicht en de aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### **Ongeriefinschatting/humane eindpunten**

#### **H. Pijn en pijnbestrijding**

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Niet verenigbaar met de proef.

Ja

### **I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen**

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fixatie voor toepassing identificatie door middel van wing-tags/pootring; fixatie voor toediening vaccin (60 dieren); toediening vaccin (60 dieren) oculair op 1-dag leeftijd; fixatie voor afname bloed (10 dieren tweemaal, 60 dieren eenmaal); afname bloed; fixatie voor toediening challenge IM; challenge-periode met kans op klinische symptomen en sterfte; beperking bewegingsruimte door huisvesting isolator.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Zie boven.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren die ernstige klinische verschijnselen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag zullen worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamenlijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen. Alle inspecties en/of beoordelingen worden opgenomen in het study report.

### **J. Humane eindpunten**

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Dieren die ernstige klinische verschijnselen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag zullen worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamenlijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen. Alle inspecties en/of beoordelingen worden opgenomen in het study report.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

(10 van 75) 13%

### **K. Classificatie van ongerief**

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geïndiceerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De negatieve controle dieren (10) zullen ernstig ongerief ondergaan en hoogstwaarschijnlijk ten gevolge van de challenge sterven. De dieren gevaccineerd met het commerciële vaccin zullen matig ongerief ondergaan.



## Einde experiment

### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren kunnen niet worden hergebruikt.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Format

### Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins en vaccin-kandidaten.
- 1.2 Looptijd van het project 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) vaccin / werkzaamheid / veiligheid / zuiverheid / pluimvee

## 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*

### 3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Voor het bestrijden en beheersen van virale en bacteriële pluimveeziekten worden levende en geïnactiveerde vaccins gebruikt die op verschillende leeftijden worden toegediend aan kippen. Om aan de vraag van de markt te kunnen voldoen blijft de noodzaak vaccins te produceren maar ook te ontwikkelen.
- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Ontwikkeling en productie pluimveevaccins
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?
- Kippen zijn het doeldier en worden in dierproeven ingezet in aantallen die volgens de verschillende wettelijk voorgeschreven monografieën zijn vereist, of in dierproeven die zijn gebaseerd op deze monografieën. Gemiddelde groepsgrootte is 10 - 30 dieren per groep met tot 7 groepen per experiment.
- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?
- Voor het testen van de veiligheid of zuiverheid van het vaccin (of kandidaat) krijgen dieren meestal 1, of een beperkt aantal, toedieningen en bloedafnames wat licht ongerief kan veroorzaken. Eventuele maximale bloedafname vindt plaats onder anaesthesie waarna de dieren direct zullen worden geëuthanaseerd. Alle andere handelingen vinden plaats na euthanasie. Voor het testen van de werkzaamheid van het vaccin (of kandidaat) wordt gebruik gemaakt van challenge-studies waarin gevaccineerde dieren ziekteverwekkers, waarmee het vaccin is gevaccineerd, krijgen toegediend. In deze studies wordt ter vergelijking ook aan niet-gevacineerde dieren deze ziekteverwekkers toegediend waarna deze dieren ziek zouden kunnen worden. Afhankelijk van het ziektebeeld per ziekteverwekker zullen de ongevaccineerde dieren voor een korte periode matig tot ernstig ongerief kunnen ondervinden.
- 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?
- Voor het testen van de veiligheid of zuiverheid worden de groepen ingedeeld in licht ongerief; voor het testen van de werkzaamheid van het vaccin zullen de negatieve controle dieren ernstig ongerief kunnen ondervinden, de andere groepen worden ingedeeld in licht ongerief.
- 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?
- Indien dieren kunnen worden hergebruikt zal dit van toepassing zijn, echter dieren die zijn geïnfecteerd met ziekteverwekkers kunnen niet ingezet worden in een volgende dierstudie.

## 4 Drie V's

### 4.1 Vervanging

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdier vrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Het testen en ontwikkelen van vaccins kan deels in vitro plaatsvinden, echter slechts in het levend diermodel kan de effectiviteit, werkzaamheid en zuiverheid van vaccins en vaccinkandidaten worden beoordeeld.

### 4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Naast een goede statistische onderbouwing voor de aantal dieren per experiment zijn de aantallen gebaseerd op de verschillende wettelijk voorgeschreven EP monografieën.

### 4.3 Verfijning

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Kippen zijn het doeldier.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt

De dieren worden dagelijkse klinisch geïnspecteerd en bij ziekte of aantasting van het welzijn worden de inspecties opgevoerd zodat het humane eindpunt beter kan worden bepaald.

De experimenten worden uitgevoerd door bevoegd en competent personeel.

mogelijk te houden.

**5** In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



# DEC-advies

---

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer  
niet bekend
2. Titel van het project  
Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins en vaccin kandidaten.
3. Titel van de NTS  
Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins en vaccin kandidaten.
4. Type aanvraag  
nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:  
DEC BIAHO  
[REDACTED]  
[REDACTED]@boehringer-ingenelheim.com
6. Adviestraject  
Besproken in vergadering 27-februari-2015 te Weesp
7. Eventueel horen van aanvrager  
Aanvrager is gehoord in de vergadering van 27-februari-2015 te Weesp  
Strekking van de vraag en daaropvolgend aanpassing van de aanvraag.  
3.4.4.1 afname veren is slecht omschreven waarop het studieprotocol is aangepast.  
3.4.4.3 Verzoek tot reductie van het aantal dieren waarvan bloed zou worden afgenomen op dag 1 waarop het aantal dieren is gereduceerd van 10 naar 5.

## B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag
3. De DEC was competent om hierover te adviseren

## C. Beoordeling door de DEC (inhoud)

1. Het project is:

uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en wettelijk vereist

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstellingen
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een essentieel belang
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project
5. Er is geen sprake van bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en statistisch onderbouwd. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

## D. Ethische afweging

De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van dieren, de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij dit aantal dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Het is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald.

10 december 2014

Op termijn kan het project voordelen opleveren voor mens en dier.

## **E. Advies**

### **1. Advies aan de CCD**

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

### **2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus**





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv  
[REDACTED]  
J.C. van Houtenlaan 36  
1381 CP Weesp

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
[AVD22400201568](#)

**Uw referentie**

**Bijlagen**

Datum 31 maart 2015  
Betreft Aanvullende informatie vergunningsaanvraag

Geachte [REDACTED]

Op 26 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer AVD22400201568.

**Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

-In uw projectvoorstel geeft u aan dat uw onderzoek zowel in de categorie 'Translationeel of toegepast onderzoek' valt als in de categorie 'Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie'. In de 3 bijlagen 'Beschrijving dierproeven' geeft u echter aan dat uw onderzoek niet wettelijk vereist is. U wordt verzocht deze discrepantie toe te lichten.

-In onderdeel 3.1 van het projectvoorstel dient u, zoals beschreven in de toelichting, de nationale en/of internationale achtergrond, context en/of aanleiding van de hoofddoelstelling van uw project te beschrijven. Deze informatie mist in uw projectvoorstel. U wordt verzocht deze informatie alsnog te verstrekken.

-In onderdeel 3.2 van het projectvoorstel dient u informatie te verstrekken over de haalbaarheid van het project. Deze informatie mist in uw projectvoorstel. U wordt verzocht deze informatie alsnog te verstrekken.

-Om inzicht te krijgen in de strategie die gevolgd gaat worden om de hoofddoelstelling van het project te bereiken, wordt u verzocht toe te lichten hoe de verschillende dierproeven onderling samenhangen en hoe zij zich verhouden tot de hoofddoelstelling van het project. Bovendien zijn de in uw projectvoorstel genoemde 'Proof of Mechanism', 'Proof of Principle' en 'Proof of concept' niet uitgewerkt. U wordt verzocht voor elk van de type dierproeven te beschrijven welke criteria zullen worden toegepast om tot een beslissing te komen over het starten en continueren van de desbetreffende dierproef.

-U wordt verzocht, in het kader van de 3V's, voor alle dierproeven te beschrijven waarom het beoogde doel niet kan worden bereikt zonder gebruik te maken van deze dieren, met een andere opzet waardoor minder dieren nodig zijn en met een andere opzet waardoor de dieren minder ongerief ondervinden.

-In de bijlagen 'Beschrijving dierproeven' geeft u aan dat de dieren beperkt zullen worden in hun bewegingsvrijheid door huisvesting in een isolator. Voldoet u (gedurende de gehele dierproef) ondanks de beperking in bewegingsvrijheid wel aan de eisen omtrent de minimale vloeroppervlakte en het maximum aantal dieren per m<sup>2</sup> zoals beschreven in Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU, rekening houdend met de toename in lichaamsgewicht van de dieren gedurende de dierproef? U wordt verzocht aanvullende informatie te verstrekken over de huisvesting van de dieren. Mocht u niet gedurende de gehele dierproef te kunnen voldoen aan Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU, dient u dit wetenschappelijk te onderbouwen.

-U wordt verzocht in bijlage 3.4.4.1 de primaire uitkomstparameters te beschrijven in relatie tot de handelingen aan de dieren.

-In de bijlagen 3.4.4.2 en 3.4.4.3 geeft u aan dat 1 dag oude dieren geethanaseerd worden door middel van decapitatie. Voor de oudere dieren geeft u de wijze van doden echter niet aan. U wordt verzocht toe te lichten op welke wijze u van plan bent de dieren te doden.

-In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u dat u een vaccin wilt ontwikkelen dat minder bijwerkingen heeft dan momenteel beschikbare vaccins. U bent van plan om in dierproef 3.4.4.3 de effectiviteit van de 2 in 3.4.4.2 op bijwerkingen geteste kandidaat vaccins te testen. U wordt verzocht toe te lichten of de in 3.4.4.3 beschreven dierproef zal worden uitgevoerd indien 1 of beide kandidaat vaccins evenveel of meer bijwerkingen hebben dan de commerciële vaccins.

-In bijlage 3.4.4.2 geeft u aan dat de commercieel beschikbare vaccins ernstige bijwerkingen hebben. Aangezien u een dergelijk vaccin als positieve controle gebruikt in uw dierproeven (3.4.4.2 en 3.4.4.3), wordt u verzocht te beschrijven welke bijwerkingen dit vaccin heeft, in hoeverre deze bijwerkingen van invloed zijn op de ongerief classificatie van de dieren die dit vaccin toegediend zullen krijgen en of deze bijwerkingen dusdanig ernstige vormen aankunnen nemen dat het toepassen van humane eindpunten noodzakelijk zou kunnen zijn.

-U wordt tevens verzocht toe te lichten of u in bijlage 3.4.4.1 bij de beschrijving humane eindpunten en classificatie van het ongerief ook rekening gehouden heeft met eventuele onverwachte bijwerkingen van de kandidaat vaccins.

-In bijlage 3.4.4.1 geeft u aan rekening te houden met 1 overleden dier per unit. U wordt verzocht toe te lichten waarom u verwacht dat 20% van de dieren komt te overlijden.

-U wordt verzocht toe te lichten waarom de herkomst van de dieren in 3.4.4.2 en 3.4.4.3 niet gelijk kan worden gehouden.

**Datum**

31 Maart 2015

**Onze referentie**

AVD22400201568

-In bijlage 3.4.4.3 geeft u aan dat de 10 dieren die als controle gebruikt worden allen ernstig ongerief zullen ondergaan en naar alle waarschijnlijkheid zullen sterven ten gevolge van de challenge. U wordt verzocht toe te lichten hoe u tot het benodigde aantal controle dieren bent gekomen. U geeft bovendien aan dat al deze dieren de humane eindpunten zullen bereiken. Is het voor het behalen van de doelstelling noodzakelijk dat deze dieren tot het bereiken van de humane eindpunten in de proef gehouden worden? U geeft ook aan dat het niet verenigbaar is met de proef om pijnstillingsmethoden te gebruiken. U wordt verzocht dit te onderbouwen.

-U wordt verzocht in uw NTS het totale aantal dieren weer te geven. De CCD wil u er tenslotte op wijzen dat de NTS een juiste weergave dient te geven van het project en dient te zijn geschreven in voor een breed publiek begrijpelijk taalgebruik.

**Opsturen informatie**

U heeft 14 dagen de tijd om de ontbrekende informatie op te sturen. De CCD zou uw aanvraag echter graag tijdens haar eerstvolgende vergadering behandelen. De CCD zou de gevraagde informatie derhalve uiterlijk donderdag 02 april 2015 van u ontvangen. U kunt deze informatie onder vermelding van het aanvraagnummer (AVD22400201568) aanleveren via NetFTP of per post. Indien u de informatie per post verstuurd, gebruik dan het bijgevoegde formulier.

**Wanneer een beslissing**

De beslistermijn op uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat bovengenoemde informatie is ontvangen. Na ontvangst van uw reactie/de ontbrekende informatie nemen wij uw aanvraag verder in behandeling. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



## Melding

### Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl)
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- |                |  |            |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager |  |            |
| Postcode       |  | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?  
*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*
- |                |  |
|----------------|--|
| Aanvraagnummer |  |
|----------------|--|

### 2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?  
*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- |                          |  |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |

### 3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- |              |   |      |
|--------------|---|------|
| Naam         |   |      |
| Datum        | - | - 20 |
| Handtekening |   |      |
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

DEC BIAHO

Postbus 36  
1380 AA Weesp

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
[AVD22400201568](#)

**Uw referentie**

**Bijlagen**

Datum 31 maart 2015  
Betreft Aanvullende informatie vergunningsaanvraag

Geachte [REDACTED]

Op 26 maart 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw commissie advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer AVD22400201568.

**Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om de aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Het door u uitgebrachte advies aan de CCD is zwaarwegend. De stappen in het beoordelingsproces en de ethische afweging moeten navolgbaar zijn. De CCD zou daarom graag inzage krijgen in uw overwegingen en dilemma's. Dit geldt met name voor de vragen over de haalbaarheid van de doelstelling, de ongeriefsclassificatie en de 3V's.

U wordt ook verzocht (B.4) aan te geven of het advies op onafhankelijke en onpartijdige wijze tot stand is gekomen.

De CCD zou tenslotte graag van u willen weten hoe de DEC de verschillende elementen uit het projectvoorstel heeft laten meewegen bij de ethische afweging en waar knelpunten kunnen liggen.

**Opsturen informatie**

De CCD zou de gevraagde informatie graag uiterlijk donderdag 02 april 2015 van u ontvangen.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post

**Datum**

31 Maart 2015

**Onze referentie**

[AVD22400201568](#)



## Melding

### Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl)
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- |                |  |            |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager |  |            |
| Postcode       |  | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?  
*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*
- |                |  |
|----------------|--|
| Aanvraagnummer |  |
|----------------|--|

### 2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?  
*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- |                          |  |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |

### 3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- |              |   |      |
|--------------|---|------|
| Naam         |   |      |
| Datum        | - | - 20 |
| Handtekening |   |      |
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag



Betreft: Aanvullende informatie vergunningsaanvraag  
Referentie: AVD22400201568  
Datum: 01-April-2015

Geachte Centrale Commissie Dierproeven,

Hartelijk dank voor de snelle reactie en de geboden mogelijkheid om nog voor de eerstvolgende vergadering van de CCD een respons te geven zodat de aanvraag in deze vergadering behandeld kan worden.

Hieronder staat per vraag of opmerking een reactie en/of is aangegeven welke aanvullende informatie is toegevoegd aan de vergunningsaanvraag voor het project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer AVD22400201568.

Vraag: In uw projectvoorstel geeft u aan dat uw onderzoek zowel in de categorie 'Translationeel of toegepast onderzoek' valt als in de categorie 'Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie'. In de 3 bijlagen 'Beschrijving dierproeven' geeft u echter aan dat uw onderzoek niet wettelijk vereist is. U wordt verzocht deze discrepantie toe te lichten.

*Antwoord: Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv bezit een proefdierfaciliteit waar dierexperimenten worden uitgevoerd ten behoeve van de ontwikkeling van nieuwe vaccins, of dierexperimenten welke wettelijk zijn vereist voor registratie van nieuwe vaccins of bij productie van bestaande vaccins. Het testen van vaccinkandidaten wordt wanneer mogelijk volgens de Europese Farmacopoea uitgevoerd zodat data gegenereerd in deze studies voor registratie van een nieuw vaccin kan worden gebruikt. Desalniettemin is het aanmerken van de dierexperimenten als wettelijk vereist incorrect, en is deze categorie naar aanleiding van uw vraag verwijderd.*

Vraag: In onderdeel 3.1 van het projectvoorstel dient u, zoals beschreven in de toelichting, de nationale en/of internationale achtergrond, context en/of aanleiding van de hoofddoelstelling van uw project te beschrijven. Deze informatie mist in uw projectvoorstel. U wordt verzocht deze informatie alsnog te verstrekken.

*Antwoord: In onderdeel 3.1 is de bestaande tekst ("Bestaande vaccins moeten volgens Europese Wetgeving worden getest volgens de geldende monografieën van de Europese Farmacopoea. Ook nieuwe vaccins (en vaccinkandidaten) dienen te moeten worden getest op veiligheid en werkzaamheid in dierproeven welke gebaseerd zijn op de verschillende EP monografieën") vervangen voor: "Pluimveeziekten bij leg-, mest- en reproductiekippen kunnen slechts door vaccinatie voldoende bestreden worden, en zijn in sommige gevallen zelfs wettelijk verplicht gesteld zoals vaccinatie tegen de ziekte van Marek en tegen de ziekte van NewCastle. Eenmalig vaccineren met een levend of geïnactiveerd vaccin is echter vaak onvoldoende om gedurende de hele opfokperiode voldoende bescherming te bieden. Onder andere het ontwikkelen van combinatievaccins kan het aantal*



*vaccinaties beperken. De werkzaamheid van bestaande enkelvoudige en meervoudige vaccins kan echter onvoldoende worden door genetische variatie van het virus, en in mindere mate van de bacterie. Daarnaast blijkt in praktijk dat werkzame vaccins soms veel bijwerkingen geven. Het ontwikkelen van pluimveevaccins blijft daarmee een onderzoeksgebied dat niet alleen een groot economisch belang heeft maar juist ook een dierwelzijnsbelang. De ontwikkeling van een vaccin vindt tot bepaalde hoogte in vitro plaats, echter de daadwerkelijke werking van het vaccin kan slechts in vivo worden onderzocht. Verder zijn bij de registratie van nieuwe vaccins en na produceren van bestaande vaccins verschillende wettelijk voorgeschreven dierstudies nodig welke staan beschreven in de verschillende monografieën van de Europese Farmacopoea.”*

Vraag: In onderdeel 3.2 van het projectvoorstel dient u informatie te verstrekken over de haalbaarheid van het project. Deze informatie mist in uw projectvoorstel. U wordt verzocht deze informatie alsnog te verstrekken.

*Antwoord: In onderdeel 3.2 is de bestaande tekst (“Geproduceerde vaccins moeten volgens wettelijke bepaling worden getest volgens de diverse EP monografieën. Voor het testen van vaccinkandidaten op werkzaamheid en veiligheid is het wenselijk dat deze worden getest volgens de verschillende EP monografieën of volgens dierproeven welke gebaseerd zijn op deze monografieën.”) vervangen voor: “De hoofddoelstelling van het project is het ontwikkelen van vaccins tegen pluimveeziekten welke veilig en werkzaam zijn. Het ontwikkelen van vaccins is een langdurig proces. Met verschillende studies in vitro wordt een Proof of Mechanism en een Proof of Principle aangetoond, alvorens een nieuw product te testen in vivo. Alle producten die beschreven staan in de verschillende dierproeven lijken in vitro veelbelovend te zijn en daarom is de haalbaarheid van de geformuleerde doelstelling groot.”*

Vraag: Om inzicht te krijgen in de strategie die gevolgd gaat worden om de hoofddoelstelling van het project te bereiken, wordt u verzocht toe te lichten hoe de verschillende dierproeven onderling samenhangen en hoe zij zich verhouden tot de hoofddoelstelling van het project. Bovendien zijn de in uw projectvoorstel genoemde ‘Proof of Mechanism’, ‘Proof of Principle’ en ‘Proof of concept’ niet uitgewerkt. U wordt verzocht voor elk van de type dierproeven te beschrijven welke criteria zullen worden toegepast om tot een beslissing te komen over het starten en continueren van de desbetreffende dierproef.

*Antwoord: In onderdeel 3.4.3 is de bestaande tekst (“De ontwikkeling van vaccins gaat via een Proof of Mechanism (POM), Proof of Principle (POP), en een Proof of Concept (POC) waarna pas met voldoende resultaat het definitieve bewijs in een dierproef zal worden onderzocht.”) vervangen voor: “De hoofddoelstelling van het project is het bepalen van de werkzaamheid en veiligheid van pluimveevaccins en pluimveevaccinkandidaten. De ontwikkeling van vaccins gaat via een Proof of Mechanism (POM) dat betrekking heeft op de vroegste ontwikkelfase waarin wordt getest of op biochemisch niveau het beoogde resultaat wordt bereikt. Vervolgens wordt via een Proof of Principle (POP) en een Proof of Concept (POC) het effect geëvalueerd, waarna pas na voldoende resultaat het definitieve bewijs in een dierproef zal worden onderzocht.”*

Vraag: U wordt verzocht, in het kader van de 3V's, voor alle dierproeven te beschrijven waarom het beoogde doel niet kan worden bereikt zonder gebruik te maken van deze dieren, met een andere

opzet waardoor minder dieren nodig zijn en met een andere opzet waardoor de dieren minder ongerief ondervinden.

Antwoord:

*3.4.4.1 (15-003 Testing the in vivo replication of rechVT candidate vector constructs)*

*Na positief resultaat in vitro moet in vivo worden getest of de kandidaten repliceren in de verschillende weefsels. De experimentele unit bestaat, vanwege 2 monsternamen momenten, uit 5 dieren. Per experimentele unit zijn minstens 3 dieren met een respons benodigd om conclusies te kunnen trekken uit de resultaten. Rekening houdend met één non-responder en één overleden dier per unit, als gevolg van normale uitval, rechtvaardigt het aantal van 5 dieren per unit, en dus 10 dieren per groep. Door het combineren van 4 verschillende rechVT kandidaten per sessie is het aantal positief controle groepen gereduceerd. De negatief controle groep wordt slechts in één sessie toegevoegd (indien de flock van moederdieren niet veranderd). Door het aantal rechVT kandidaten op te splitsen in 4 kandidaten per sessie, wordt extra keuzemomenten toegevoegd en kan bij een positief resultaat de volgende sessie of sessies worden geannuleerd. De kip is het doeldier en kan daardoor niet worden vervangen door een andere diersoort.*

*3.4.4.2 (15-004 Testing of NDV MLV vaccine candidates for clinical safety)*

*Na positief resultaat in vitro moet in vivo de veiligheid van het ontwikkelde vaccin worden getest. Met behulp van statistische analyse is de groepsgrootte bepaald zodat de resultaten een statistisch verschil kunnen aantonen tussen de verschillende groepen. De spreiding in gewicht tussen broilers van dezelfde leeftijd (met behulp van de variantie van de resultaten van studie 14-048 en relatieve delta van 10%; minimaal 21 dieren per groep), het op SD7 offeren van 5 dieren per groep voor ciliostasis, en het minimaal benodigde aantal samples voor een statistisch te verantwoorden resultaat bepaald door de ELISA (minimaal 23 dieren per groep) verantwoordt, rekening houdend met normale uitval, het aantal van 30 dieren per groep. De kip is het doeldier en kan daardoor niet worden vervangen door een andere diersoort.*

*3.4.4.3 (15-009 Testing the efficacy of tsNDv against a velogenic NDv challenge)*

*Na positief resultaat in vitro moet in vivo de werkzaamheid van het ontwikkelde vaccin worden getest. Het aantal dieren per groep is gebaseerd op EP monografie 450. De groep dieren gevaccineerd met het commerciële vaccin wordt ingezet als positieve controle groep. De kip is het doeldier en kan daardoor niet worden vervangen door een andere diersoort.*

Vraag: In de bijlagen 'Beschrijving dierproeven' geeft u aan dat de dieren beperkt zullen worden in hun bewegingsvrijheid door huisvesting in een isolator. Voldoet u (gedurende de gehele dierproef) ondanks de beperking in bewegingsvrijheid wel aan de eisen omtrent de minimale vloeroppervlakte en het maximum aantal dieren per m<sup>2</sup> zoals beschreven in Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU, rekening houdend met de toename in lichaamsgewicht van de dieren gedurende de dierproef? U wordt verzocht aanvullende informatie te verstrekken over de huisvesting van de dieren. Mocht u niet gedurende de gehele dierproef te kunnen voldoen aan Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU, dient u dit wetenschappelijk te onderbouwen.

Antwoord:

*3.4.4.1 (15-003 Testing the in vivo replication of rechVT candidate vector constructs)*

*SPF-legdieren worden van 0 tot 21 dagen leeftijd in het dierexperiment ingezet wat overeenkomt met 125 gram per kip maximaal op 21 dagen leeftijd. Met maximaal 10 dieren*

*per isolator van 1m<sup>2</sup> wordt voldaan aan de wettelijke eis van minimale totale oppervlakte tot 200 gram lichaamsgewicht van 1m<sup>2</sup>, minimale oppervlakte per dier van 0.025m<sup>2</sup>, en minimale hoogte van 30cm.*

*3.4.4.2 (15-004 Testing of NDV MLV vaccine candidates for clinical safety)*

*Commercieel verkregen broilers worden van 1 tot 28 dagen leeftijd wat overeenkomt met maximaal 1.5kg per dier gehouden in groepen van 30 dieren in een stal met een oppervlakte van minimaal 10m<sup>2</sup> en voldoen hiermee aan de wettelijke eis.*

*3.4.4.3 (15-009 Testing the efficacy of tsNDv against a velogenic NDv challenge)*

*SPF-legdieren worden van 0 tot 35 dagen leeftijd in het dierexperiment ingezet wat overeenkomt met 425 gram per dier maximaal op 35 dagen leeftijd. Met maximaal 10 dieren per isolator van 1m<sup>2</sup> wordt voldaan aan de wettelijke eis van minimale oppervlakte tot 600gram lichaamsgewicht van 1m<sup>2</sup>, minimale oppervlakte per dier van 0.05m<sup>2</sup>, en minimale hoogte van 40cm.*

Vraag: U wordt verzocht in bijlage 3.4.4.1 de primaire uitkomstparameters te beschrijven in relatie tot de handelingen aan de dieren.

*Antwoord: De primaire uitkomstparameter van 3.4.4.1 is de mate van replicatie van virus in veren, bloed, en lever. Op 7 en 14 dagen post vaccinatie wordt van alle kippen 5 tot 10 veren afgenomen. Op 14 dagen post vaccinatie wordt per groep van 10 dieren, 5 dieren maximaal bloed afgenomen via hartpunctie onder anesthesie. Direct na bloedafname worden de dieren geëuthanaseerd en aangeboden voor sectie. Op 21 dagen post vaccinatie wordt van de resterende 5 dieren per groep, 5 tot 10 veren afgenomen, en maximaal bloed afgenomen via hartpunctie onder anesthesie. Na bloedafname worden de dieren geëuthanaseerd en aangeboden voor sectie.*

Vraag; In de bijlagen 3.4.4.2 en 3.4.4.3 geeft u aan dat 1 dag oude dieren geëuthanaseerd worden door middel van decapitatie. Voor de oudere dieren geeft u de wijze van doden echter niet aan. U wordt verzocht toe te lichten op welke wijze u van plan bent de dieren te doden.

*Antwoord: Dieren worden geëuthanaseerd door middel van een overdosis CO<sub>2</sub>-gas.*

Vraag: In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u dat u een vaccin wilt ontwikkelen dat minder bijwerkingen heeft dan momenteel beschikbare vaccins. U bent van plan om in dierproef 3.4.4.3 de effectiviteit van de 2 in 3.4.4.2 op bijwerkingen geteste kandidaat vaccins te testen. U wordt verzocht toe te lichten of de in 3.4.4.3 beschreven dierproef zal worden uitgevoerd indien 1 of beide kandidaat vaccins evenveel of meer bijwerkingen hebben dan de commerciële vaccins.

*Antwoord: Door de DEC is als voorwaarde gesteld dat pas mag worden gestart met dierproef 3.4.4.3 wanneer dierproef 3.4.4.2 is uitgevoerd en gebleken is dat het vaccin veilig kan worden toegediend. Aan deze voorwaarde zal worden voldaan.*

Vraag: In bijlage 3.4.4.2 geeft u aan dat de commercieel beschikbare vaccins ernstige bijwerkingen hebben. Aangezien u een dergelijk vaccin als positieve controle gebruikt in uw dierproeven (3.4.4.2 en 3.4.4.3), wordt u verzocht te beschrijven welke bijwerkingen dit vaccin heeft, in hoeverre deze bijwerkingen van invloed zijn op de ongerief classificatie van de dieren die dit vaccin toegediend

zullen krijgen en of deze bijwerkingen dusdanig ernstige vormen aankunnen nemen dat het toepassen van humane eindpunten noodzakelijk zou kunnen zijn.

*Antwoord: In bijlage 3.4.4.2 wordt gesproken over het optreden van klinische verschijnselen na vaccineren met bestaande vaccins. Het ongerief wordt hierdoor echter niet als ernstig geschat aangezien de klinische verschijnselen slechts relevant zijn voor het veroorzaken van een groeiachterstand welke een economisch impact heeft.*

Vraag: U wordt tevens verzocht toe te lichten of u in bijlage 3.4.4.1 bij de beschrijving humane eindpunten en classificatie van het ongerief ook rekening gehouden heeft met eventuele onverwachte bijwerkingen van de kandidaat vaccins.

*Antwoord: In alle studies zullen dieren die ernstige klinische verschijnselen, zoals respiratoire, ernstige gastro-intestinale, of neurologische afwijkingen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamelijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen.*

Vraag: In bijlage 3.4.4.1 geeft u aan rekening te houden met 1 overleden dier per unit. U wordt verzocht toe te lichten waarom u verwacht dat 20% van de dieren komt te overlijden.

*Antwoord: Normale uitval tijdens opfokperiode, niet toegeschreven aan de vaccinatie, wordt geschat op 1 dier totaal. Aangezien onbekend is in welke groep dit dier zich zal bevinden wordt aan elke groep 1 dier toegevoegd.*

Vraag: U wordt verzocht toe te lichten waarom de herkomst van de dieren in 3.4.4.2 en 3.4.4.3 niet gelijk kan worden gehouden.

*Antwoord: Dierexperiment 3.4.4.2 wordt uitgevoerd vóór dierexperiment 3.4.4.3. Commerciële broilers zijn het doeldier aangezien het vaccin wordt ontwikkeld voor vleeskuikens wat het testen van de veiligheid op deze dieren rechtvaardigt. Echter het testen van de werkzaamheid wordt uitgevoerd op SPF-dieren omdat dit voorgeschreven staat in de Europese Farmacopoea en het model op deze dieren is getest maar ook zodat mogelijke aanwezige maternale immuniteit in commerciële dieren geen vertekend beeld kan veroorzaken.*

Vraag: In bijlage 3.4.4.3 geeft u aan dat de 10 dieren die als controle gebruikt worden allen ernstig ongerief zullen ondergaan en naar alle waarschijnlijkheid zullen sterven ten gevolge van de challenge. U wordt verzocht toe te lichten hoe u tot het benodigde aantal controle dieren bent gekomen. U geeft bovendien aan dat al deze dieren de humane eindpunten zullen bereiken. Is het voor het behalen van de doelstelling noodzakelijk dat deze dieren tot het bereiken van de humane eindpunten in de proef gehouden worden? U geeft ook aan dat het niet verenigbaar is met de proef om pijnstillingsmethoden te gebruiken. U wordt verzocht dit te onderbouwen.

*Antwoord: het aantal dieren is volgens de Europese Farmacopoea. In alle studies zullen dieren die ernstige klinische verschijnselen, zoals respiratoire, ernstige gastro-intestinale, of neurologische*

*afwijkingen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag direct worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen zodat pijnstilling dat eveneens onverenigbaar is met de proef in verband met beïnvloeden van de immuunrespons onnodig zal zijn.*

Vraag: U wordt verzocht in uw NTS het totale aantal dieren weer te geven. De CCD wil u er tenslotte op wijzen dat de NTS een juiste weergave dient te geven van het project en dient te zijn geschreven in voor een breed publiek begrijpelijk taalgebruik.

*Antwoord: het aantal dieren per studie is toegevoegd en de tekst is aangepast aan de hand van bovenstaande antwoorden in begrijpelijk taalgebruik.*

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd.

Met vriendelijke groet,







> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv

████████████████████  
J.C. van Houtenlaan 36  
1381 CP Weesp

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
[AVD22400201568](#)

**Uw referentie**

**Bijlagen**

Datum 22 April 2015  
Betreft Aanvullende informatie vergunningsaanvraag

Geachte ██████████,

Op 26 maart 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om het project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer AVD22400201568.

**Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om de aanvraag verder te kunnen beoordelen:

In bijlage 3.4.4.1 van uw aanvraag geeft u aan dat er 20 recombinant vaccin kandidaten getest gaan worden. Daarnaast geeft u aan dat voor de ontwikkeling van elk vaccin gebruik wordt gemaakt van een Proof of Principle, Proof of Mechanism en Proof of Concept. Slechts bij voldoende resultaat zal het vaccin in een dierproef worden onderzocht. Om, in het kader van vermindering, inzicht te krijgen in uw strategie en het tot stand komen van het benodigd aantal dieren, wordt u verzocht toe te lichten hoe u tot het aantal van 20 te testen recombinant vaccin kandidaten bent gekomen.

In uw antwoord op onze brief van 31-03-2015 heeft u aangegeven dat er, door het opsplitsen van de kandidaat vaccins, keuzemomenten ontstaan die het, bij een positief resultaat, mogelijk maken een volgende sessie te annuleren. U wordt verzocht, in het kader van vermindering, aan te geven welk resultaat u als voldoende positief beschouwd om een volgende sessie te annuleren.

U heeft in uw antwoord op onze brief van 31-03-2015 aangegeven dat al bestaande vaccins voor Newcastle disease een groeiachterstand veroorzaken. U geeft aan dat deze groeiachterstand een economische impact heeft. Om inzicht te krijgen in het belang van uw onderzoek en het ontwikkelen van een vaccin voor Newcastle disease met minder bijwerkingen, wordt u verzocht toe te lichten in welke mate er een groeiachterstand ontstaat, hoe deze groeiachterstand het welzijn van de dieren beïnvloedt, wat de economische impact is van deze

groeiachterstand en welke mate van vermindering van bijwerkingen volgens u haalbaar is.

**Datum**

22 April 2015

**Onze referentie**

AVD22400201568

Tot slot heeft u aangegeven pas te starten met dierproef 3.4.4.3 indien gebleken is dat het vaccin veilig kan worden toegediend. Om, in het kader van vermindering, inzicht te krijgen in uw strategie en het tot stand komen van het benodigd aantal dieren, wordt u verzocht toe te lichten wanneer u een vaccin als veilig genoeg beschouwd om te kunnen starten met dierproef 3.4.4.3.

**Opsturen informatie**

U heeft 14 dagen de tijd om de ontbrekende informatie op te sturen. De CCD zou de gevraagde informatie echter graag uiterlijk donderdag 24 april 2015 van u ontvangen. U kunt deze informatie onder vermelding van het aanvraagnummer (AVD22400201568) aanleveren via NetFTP of per post. Indien u de informatie per post verstuurd, gebruik dan het bijgevoegde formulier.

**Wanneer een beslissing**

De beslistermijn op uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat bovengenoemde informatie is ontvangen. Na ontvangst van uw reactie/de ontbrekende informatie nemen wij uw aanvraag verder in behandeling. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut). De CCD zou de gevraagde informatie graag uiterlijk donderdag 02 april 2015 van u ontvangen.

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



## Melding

### Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl)
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- |                |  |            |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager |  |            |
| Postcode       |  | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?  
*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*
- |                |  |
|----------------|--|
| Aanvraagnummer |  |
|----------------|--|

### 2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?  
*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- |                          |  |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |

### 3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- |              |   |      |
|--------------|---|------|
| Naam         |   |      |
| Datum        | - | - 20 |
| Handtekening |   |      |
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag





Betreft: Aanvullende informatie vergunningsaanvraag

Referentie: AVD22400201568

Datum: 23-april-2015

Geachte Centrale Commissie Dierproeven,

Hartelijk dank voor de snelle reactie en de wederom geboden mogelijkheid om snel een respons aan te leveren om de aanvraag niet verder te vertragen.

Hieronder wordt per vraag de aanvullende informatie voor de vergunningsaanvraag voor het project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer AVD22400201568 geleverd.

**Vraag:** In bijlage 3.4.4.1 van uw aanvraag geeft u aan dat er 20 recombinant vaccin kandidaten getest gaan worden. Daarnaast geeft u aan dat voor de ontwikkeling van elk vaccin gebruik wordt gemaakt van een Proof of Principle, Proof of Mechanism en Proof of Concept. Slechts bij voldoende resultaat zal het vaccin in een dierproef worden onderzocht. Om, in het kader van vermindering, inzicht te krijgen in uw strategie en het tot stand komen van het benodigd aantal dieren, wordt u verzocht toe te lichten hoe u tot het aantal van 20 te testen recombinant vaccin kandidaten bent gekomen.

*Antwoord: De verschillende constructs zijn op dit moment nog niet allemaal ontwikkeld en het aantal van maximaal 20 te testen constructs is een schatting gemaakt door de R&D afdeling omdat niet te voorspellen is welk construct, die ondanks dupliceerbare goede resultaten in vitro, eveneens in vivo zal gaan repliceren.*

**Vraag:** In uw antwoord op onze brief van 31-03-2015 heeft u aangegeven dat er, door het opsplitsen van de kandidaat vaccins, keuzemomenten ontstaan die het, bij een positief resultaat, mogelijk maken een volgende sessie te annuleren. U wordt verzocht, in het kader van vermindering, aan te geven welk resultaat u als voldoende positief beschouwd om een volgende sessie te annuleren.

*Antwoord: Zodra een construct gevonden is dat in vivo replicatie laat zien, dat wil zeggen isolatie van het construct uit de tenminste één van de onderzochte weefsels, worden alle nog geplande dierproeven op andere constructen geannuleerd. Nogmaals moet benadrukt worden dat alleen constructen die uitvoerig in vitro zijn getest en bij herhaling goede resultaten hebben opgeleverd, worden ingezet in een dierproef. Helaas heeft een eerdere studie laten zien dat ondanks dat een construct in vitro replicateerde, dit niet werd geobserveerd in vivo.*

**Vraag:** U heeft in uw antwoord op onze brief van 31-03-2015 aangegeven dat al bestaande vaccins voor Newcastle disease een groeiachterstand veroorzaken. U geeft aan dat deze groeiachterstand een economische impact heeft. Om inzicht te krijgen in het belang van uw onderzoek en het ontwikkelen van een vaccin voor Newcastle disease met minder bijwerkingen, wordt u verzocht toe

te lichten in welke mate er een groeiachterstand ontstaat, hoe deze groeiachterstand het welzijn van de dieren beïnvloedt, wat de economische impact is van deze groeiachterstand en welke mate van vermindering van bijwerkingen volgens u haalbaar is.

*Antwoord: Sommige commercieel verkrijgbare vaccins worden slecht getolereerd door één-dags-kuikens. De meeste van deze vaccins zijn als gevolg daarvan geregistreerd vanaf 2-weken-leeftijd, maar daardoor minder geschikt voor vleeskuikens. Het welzijn van de dieren wordt echter niet aangetast door de groeiachterstand maar door de bijwerkingen die optreden na gebruik in één-dags-kuikens en deze groeiachterstand veroorzaken, zoals respiratoire verschijnselen en een verhoogde susceptibiliteit voor secundaire bacteriële infecties. De mate van groeiachterstand is echter slecht te kwantificeren maar wordt wel substantieel in het veld gezien wat blijkt uit het preventief gebruik van antibiotica voor het couperen van de bijwerkingen, terwijl dat volledig tegenstrijdig is met het huidige antibioticabeleid. Boehringer Ingelheim wil daarom een vaccin ontwikkelen dat minder bijwerkingen veroorzaakt in één-dags-kuikens en voor dat doel is gekozen voor een temperature sensitive(ts) NDV. Het ts concept is wijdverbreid geaccepteerd bij het ontwikkelen van respiratoir toegediende levende vaccins, zoals tegen mycoplasma en aviaire influenza, omdat deze vaccins na toediening in de gastheer alleen repliceren in het perifere respiratoire epitheel zodat wel een goede interactie met het immuunsysteem zal plaats vinden maar het risico op gegeneraliseerde infecties afneemt. Daarmee is de mate van vermindering van bijwerkingen, die haalbaar is met dit concept groot. Het ontwikkelen van een ts vaccin voor één-dags-kuikens heeft daarom niet alleen een economische impact door de reductie van bijwerkingen, en daarmee groeiachterstand, maar ook daarmee samenhangend de afname van het gebruik van antibiotica.*

Vraag: Tot slot heeft u aangegeven pas te starten met dierproef 3.4.4.3 indien gebleken is dat het vaccin veilig kan worden toegediend. Om, in het kader van vermindering, inzicht te krijgen in uw strategie en het tot stand komen van het benodigd aantal dieren, wordt u verzocht toe te lichten wanneer u een vaccin als veilig genoeg beschouwd om te kunnen starten met dierproef 3.4.4.3.

*Antwoord: De veiligheid van de vaccinkandidaten wordt beoordeeld aan de hand van het optreden van klinische symptomen, groeivertraging, en de reductie van ciliaire activiteit in de trachea na toediening. Deze parameters worden vergeleken met dieren die een commercieel vaccin krijgen toegediend. Elke vermindering van bijwerkingen leidt tot verbetering van het welzijn van dieren in de praktijk en daarmee is het verantwoord om dierproef 3.4.4.3 op te starten als sprake is van enige reductie.*

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd.

Met vriendelijke groet,

23 apr 2015



## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv
- 1.3 Vul de titel van het project in. Testen van werkzaamheid, veiligheid, en zuiverheid van pluimvee-vaccins en vaccin-kandidaten (201501).

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
  - Translationeel of toegepast onderzoek
  - Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
  - Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
  - Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
  - Hoger onderwijs of opleiding
  - Forensisch onderzoek
  - Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Pluimveeziekten bij leg-, mest- en reproductiekippen kunnen slechts door vaccinatie voldoende bestreden worden, en zijn in sommige gevallen zelfs wettelijk verplicht gesteld zoals vaccinatie tegen de ziekte van Marek en tegen de ziekte van Newcastle. Eenmalig vaccineren met een levend of geïnactiveerd vaccin is echter vaak onvoldoende om gedurende de hele opfokperiode voldoende bescherming te bieden. Onder andere het ontwikkelen van combinatievaccins kan het aantal vaccinaties beperken. De werkzaamheid van bestaande enkelvoudige en meervoudige vaccins kan echter onvoldoende worden door genetische variatie van het virus, en in mindere mate van de bacterie. Daarnaast blijkt in praktijk dat werkzame vaccins soms veel bijwerkingen geven. Het ontwikkelen van pluimveevaccins blijft daarmee een onderzoeksgebied dat niet alleen een groot economisch belang heeft maar juist ook een dierwelzijnsbelang. De ontwikkeling van een vaccin vindt tot bepaalde hoogte in vitro plaats, echter de daadwerkelijke werking van het vaccin kan slechts in vivo worden onderzocht. Verder zijn bij de registratie van nieuwe vaccins en na produceren van bestaande vaccins verschillende wettelijk voorgeschreven dierstudies nodig welke staan beschreven in de verschillende monografieën van de Europese Farmacopoea.

#### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

De hoofddoelstelling van het project is het ontwikkelen van vaccins tegen pluimveeziekten welke veilig en werkzaam zijn. Het ontwikkelen van vaccins is een langdurig proces. Met verschillende studies in vitro wordt een Proof of Mechanism en een Proof of Principle aangetoond, alvorens een nieuw product te testen in vivo. Alle producten die beschreven staan in de verschillende dierproeven lijken in vitro veelbelovend te zijn en daarom is de haalbaarheid van de geformuleerde doelstelling groot.

#### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Pluimvee vaccins zijn nodig om de pluimveeziektes te bestrijden. Nieuwe vaccinkandidaten worden gezocht om aan de vraag vanuit het veld naar veiligere, welzijnsverbeterende en beter werkzame vaccins te kunnen blijven voldoen.

#### 3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Vaccinkandidaten worden getest in vitro voordat deze in vivo worden ingezet in een dierproef. Bestaande vaccins worden volgens wettelijke bepaling getest.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

In veiligheid-studies en zuiverheid-studies worden vaccins (en vaccinkandidaten) volgens normale of meervoudige dosering toegediend. In werkzaamheid-studies worden gevaccineerde dieren gechallenged met het pathogeen waarmee het vaccin is geformuleerd.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De hoofddoelstelling van het project is het bepalen van de werkzaamheid en veiligheid van pluimveevaccins en pluimveevaccinkandidaten. De ontwikkeling van vaccins gaat via een Proof of Mechanism (POM) dat betrekking heeft op de vroegste ontwikkelfase waarin wordt getest of op biochemisch niveau het beoogde resultaat wordt bereikt. Vervolgens wordt via een Proof of Principle (POP) en een Proof of Concept (POC) het effect geëvalueerd, waarna pas na voldoende resultaat het definitieve bewijs in een dierproef zal worden onderzocht.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

| Volgnummer | Type dierproef   |
|------------|--|
| 1          | 15-003 Testing the in vivo replication of rechVT candidate vector constructs |
| 2          | 15-004 Testing of NDV MLV vaccine candidates for clinical safety             |
| 3          | 15-009 Testing the efficacy of tsNDv against a velogenic NDv challenge       |
| 5          |  |
| 6          |  |
| 7          |  |
| 8          |  |
| 9          |  |
| 10         |  |



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operation bv
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef      |
|------------|---------------------|
| 3.4.4.1.   | toegepast onderzoek |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Het vaccineren van kippen op 1-dag-leeftijd, met een HVT die een additioneel antigeen tot expressie kan brengen is succesvol gebleken in het beheersen van IBD, ND en ziekte van Marek. Tot nu toe is er echter geen recombinant HVT vaccin beschikbaar die meerdere antigenen tot expressie kan brengen. De ontwikkeling van een bovenstaand vaccin is alleen mogelijk wanneer naast de resultaten van in vitro testen, ook getest wordt dat HVT replicateert in vivo. Voor dit doel worden tot 20 recombinant HVT constructen getest in 1-dag-oude SPF kippen waarna virus replicatie wordt getest in verschillende weefsels op 7, 14, en 21 dagen postvaccinatie. Voor het bepalen van de basale waarden van de verschillende parameters is een positief controle groep met dieren die worden gevaccineerd met een wildtype rechVT, en eenmalig een negatief controle groep met dieren die onbehandeld blijven benodigd.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Tien één-dag-oude SPF kippen per groep worden subcutaan in de nek gevaccineerd met 0.2ml van één van de 20 recombinant HVT vaccin kandidaten. Op 7 en 14 dagen post vaccinatie wordt van alle kippen 5 tot 10 veren afgenomen. Op 14 dagen post vaccinatie wordt per groep van 10 dieren, 5 dieren maximaal bloed afgenomen via hartpunctie onder anesthesie. Direct na bloedafname worden de dieren geëuthanaseerd en aangeboden voor sectie. Op 21 dagen post vaccinatie wordt van de resterende dieren 5 tot 10 veren afgenomen, en maximaal bloed afgenomen via hartpunctie onder anesthesie. Na bloedafname worden de dieren geëuthanaseerd en aangeboden voor sectie.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De experimentele unit bestaat, vanwege 2 monsternamen momenten, uit 5 dieren. Per experimentele unit zijn minstens 3 dieren met een respons benodigd om conclusies te kunnen trekken uit de resultaten. Rekening houdend met één non-responder en één overleden dier per unit rechtvaardigt het aantal van 5 dieren per unit, en dus 10 dieren per groep.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Kip is het doeldier; SPF-dieren (eigen fok) ter voorkomen van interferentie met MDA; 260 dieren totaal opgesplitst in:

5 sessies met per sessie 1 groep van 10 positief controle dieren;

1 sessie met 1 groep van 10 negatief controle dieren;

5 sessies met per sessie 4 groepen van 10 rechVT behandelde dieren van 1-dag leeftijd.

Duur studie tot 21 dagen leeftijd.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Na positief resultaat in vitro moet in vivo worden getest of de kandidaten repliceren in de verschillende weefsels. De experimentele unit bestaat, vanwege 2



monsternamen momenten, uit 5 dieren. Per experimentele unit zijn minstens 3 dieren met een respons benodigd om conclusies te kunnen trekken uit de resultaten. Rekening houdend met één non-responder en één overleden dier in totaal (als gevolg van normale uitval, echter onbekend in welke groep), rechtvaardigt het aantal van 5 dieren per unit, en dus 10 dieren per groep. Door het combineren van 4 verschillende rechVT kandidaten per sessie is het aantal positief controle groepen gereduceerd. De negatieve controle groep wordt slechts in één sessie toegevoegd (indien de flock van moederdieren niet verandert). Door het aantal rechVT kandidaten op te splitsen in 4 kandidaten per sessie, wordt extra keuzemomenten toegevoegd en kan bij een positief resultaat de volgende sessie of sessies worden geannuleerd. De kip is het doeldier en kan daardoor niet worden vervangen door een andere diersoort. Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De kans op pijn, lijden of angst is verwaarloosbaar klein. Dieren worden in een isolator op onderdruk gehuisvest waardoor de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum is beperkt.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De dierproef is nodig voor het testen van nieuwe constructs voor het ontwikkelen van nieuwe vaccins. De dierproef is niet wettelijk verplicht en betreft een nieuwe aanvraag.

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fixatie voor toepassen identificatie door middel van wing-tags/poottring; fixatie voor toediening vaccin; toediening vaccin subcutaan op 1-dag leeftijd; fixatie voor afname veren; 1 of 2 maal afname 5 - 10 veren; beperking bewegingsruimte door huisvesting isolator.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

zie boven

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Verrijkmateriaal in de vorm van zitstokken wordt aangeboden.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

licht ongerief

**Einde experiment**

#### **L. Wijze van doden**

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Van alle dieren wordt maximaal bloed afgenomen onder anaesthesie, en daarna geëuthanaseerd zodat sectie kan worden uitgevoerd.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef      |
|------------|---------------------|
| 3.4.4.2    | toegepast onderzoek |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Newcastle disease (ND) is een zeer besmettelijke pluimveeziekte met een grote economische impact. Stringente hygiënische maatregelen alleen zijn niet voldoende om uitbraken te voorkomen zodat ND alleen met behulp van vaccinatie kan worden bestreden. De beschikbare ND virus MLV's tonen echter verschillende mate van attenuatie wat zich uit in klinische verschijnselen in één-dag-oude kuikens. Sommige vaccins, zoals Volvac, veroorzaken veel verschijnselen in één-dag-oude broilers. Om deze reden is het noodzakelijk om een vaccin te ontwikkelen dat minder bijwerkingen geeft in deze dieren. Voor dit doel zijn twee temperature-sensitive (ts) vaccin kandidaten gebaseerd op de ND virus stam LaSota geselecteerd die repliceren op het perifere epitheel in plaats van in de trachea, longen en luchtzakken. Om te testen of deze vaccin-kandidaten minder bijwerkingen veroorzaken worden per vaccin 30 commerciële

broilers op één dag leeftijd gevaccineerd met ts-NDv C1 of C2. Ter vergelijking worden evenveel broilers gevaccineerd volgens bijsluiter met Volvac ND MLV, of Clone 30, dat fungeert als benchmark. Een vijfde groep van 40 commerciële broilers wordt niet gevaccineerd maar fungeert als negatief controle groep. Van 10 dieren van de negatieve controle groep wordt op één dag leeftijd bloed afgenomen door middel van decapitatie. Op 8, 15, 22, en 29 dagen leeftijd worden alle dieren gewogen. Op 8 dagen en op 29 dagen leeftijd wordt van elke groep 5 dieren geëuthanaseerd ter beoordeling van ciliostasis. Op 15, 22, en 29 dagen leeftijd wordt van alle dieren bloed afgenomen. Op 29 dagen leeftijd worden alle overgebleven dieren geëuthanaseerd. De primaire uitkomstparameter zijn de klinische verschijnselen, ciliostasis en verschillen in lichaamsgewicht, secundair serologie.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

In totaal worden 160 dieren ingezet in de dierproef. Op de dag van uitkomst worden 120 van de 160 broilers oculair gevaccineerd met 0.03ml van één van de vier vaccins. Van de overige 40 dieren wordt van 10 dieren bloed afgenomen door middel van decapitatie. Alle dieren worden gewogen op 8, 15, 22, en 29 dagen leeftijd. Op 15, 22, en 29 dagen leeftijd wordt van alle dieren 1 – 2ml bloed afgenomen. Op 8 dagen en op 29 dagen leeftijd wordt van elke groep 5 dieren geëuthanaseerd. Op 29 dagen leeftijd worden alle overgebleven dieren geëuthanaseerd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De spreiding in gewicht tussen broilers van dezelfde leeftijd (met behulp van de variantie van de resultaten van studie 14-048 en relatieve delta van 10%; minimaal 21 dieren per groep), het op SD7 offeren van 5 dieren per groep voor ciliostasis, en het minimaal benodigde aantal samples voor een statistisch te verantwoorden resultaat bepaald door de ELISA (minimaal 23 dieren per groep) verantwoordt, rekening houdend met uitval) het aantal van 30 dieren per groep.

## **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Kip is het doeldier; commerciële broilers vanwege doeltype; 160 dieren totaal opgesplitst in:

2x30 dieren gevaccineerd met tsNDv C1 ofsC2;

1x30 dieren gevaccineerd met Volvac ND MLV (positief controle groep);

1x30 dieren gevaccineerd met een commercieel vaccin (positief controle groep);

1x40 dieren ongevaccineerd (negatief controle groep).

Duur studie tot 29 dagen leeftijd.

## **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Na positief resultaat in vitro moet in vivo de veiligheid van het ontwikkelde vaccin worden getest. Met behulp van statistische analyse is de groepsgrootte bepaald zodat de resultaten een statistisch verschil kunnen aantonen tussen de verschillende groepen. De spreiding in gewicht tussen broilers van dezelfde leeftijd (met behulp van de variantie van de resultaten van studie 14-048 en relatieve delta van 10%; minimaal 21 dieren per groep), het op SD7 offeren van 5 dieren per groep voor ciliostasis, en het minimaal benodigde aantal samples voor een statistisch te verantwoorden resultaat bepaald door de ELISA (minimaal 23 dieren per groep) verantwoordt, rekening houdend met normale uitval, het aantal van 30 dieren per groep. De kip is het doeldier en kan daardoor niet worden vervangen door een andere diersoort.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Niet van toepassing want geen aanleiding.

#### **Herhaling en duplicering**

##### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De dierproef is nodig voor het testen van nieuwe vaccinkandidaten voor het ontwikkelen van nieuwe vaccins. De dierproef is niet wettelijk verplicht en de aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

#### **Huisvesting en verzorging**

##### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

##### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### Ongeriefinschatting/humane eindpunten

#### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fixatie voor toepassen identificatie door middel van wing-tags/pootring; fixatie voor toediening vaccin (120 dieren); toediening vaccin (120 dieren) oculair op 1-dag leeftijd; fixatie voor afname bloed (10 dieren via decapitatie, 115 dieren driemaal, 25 dieren tweemaal); afname bloed; fixatie voor opnemen lichaamsgewicht.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Zie boven.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Geen maatregelen nodig.

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren worden aangeboden voor sectie of kunnen aan het einde van de studie niet meer hergebruikt worden.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja





## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 22400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef      |
|------------|---------------------|
| 3.4.4.3    | toegepast onderzoek |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

## 2 Beschrijving dierproeven

### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Newcastle disease (ND) is een zeer besmettelijke pluimveeziekte met een grote economische impact. Stringente hygiënische maatregelen alleen zijn niet voldoende om uitbraken te voorkomen zodat ND alleen met behulp van vaccinatie kan worden bestreden. De kans bestaat echter dat het RNA virus genetisch kan veranderen in een ander serotype. De beschikbare ND virus MLV's tonen verschillende mate van attenuatie wat zich uit in klinische verschijnselen in één-dag-oude kuikens. In deze dierproef worden twee temperature-sensitive (ts) vaccin kandidaten gebaseerd op de ND virus stam LaSota getest op effectiviteit wat betreft het induceren van bescherming in SPF legkippen volgens de EP monografie 450. In totaal worden 3 groepen van 20 SPF-legkippen gevaccineerd met ts-NDv C1, C2, of een commercieel verkrijgbaar vaccin, en vervolgens gechallenged met NDv Herts. Een vierde groep van 10 SPF-leghennen wordt niet

gevaccineerd maar als negatief controle groep alleen gechallenged. De primaire uitkomstparameter zijn de klinische verschijnselen, secundair serologie. Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

In totaal worden 75 dieren ingezet in de dierproef. Op de dag van uitkomst worden 60 van de 75 leghennen oculair gevaccineerd met 0.03ml van één van de drie vaccins. Van 5 dieren wordt via decapitatie bloed afgenomen. Van alle dieren wordt op 3 weken leeftijd bloed afgenomen en vervolgens IM gechallenged met 105 ELD50 NDv Herts in 0.1ml. Tot twee weken post-challenge worden de dieren dagelijks klinische geïnspecteerd en op 5 weken leeftijd worden alle overgebleven dieren geëuthanaseerd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Het aantal dieren is gebaseerd op EP monografie 450. De groep dieren gevaccineerd met het commerciële vaccin wordt ingezet als positieve controle groep.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Kip is het doeldier; SPF-dieren (eigen fok) ter voorkomen van interferentie met MDA; 75 dieren totaal opgesplitst in:

2x20 dieren gevaccineerd met tsNDv C1 of C2;

1x20 dieren gevaccineerd met een commercieel vaccin (positief controle groep);

1x10 dieren ongevaccineerd gechallenged (negatieve controle groep);

1x5 dieren ongevaccineerd voor bloedafname SD1

Duur studie tot 35 dagen leeftijd.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Na positief resultaat in vitro moet in vivo de werkzaamheid van het ontwikkelde vaccin worden getest. Het aantal dieren per groep is gebaseerd op EP monografie 450. De groep dieren gevaccineerd met het commerciële vaccin wordt ingezet als positieve controle groep. De kip is het doeldier en kan daardoor niet worden vervangen door een andere diersoort.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Dieren die ernstige klinische verschijnselen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag zullen worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamelijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen. Alle inspecties en/of beoordelingen worden opgenomen in het study report.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De dierproef is nodig voor het testen van nieuwe vaccinkandidaten voor het ontwikkelen van nieuwe vaccins. De dierproef is niet wettelijk verplicht en de aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### **Ongeriefinschatting/humane eindpunten**

#### **H. Pijn en pijnbestrijding**

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Niet verenigbaar met de proef.

Ja

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Fixatie voor toepassen identificatie door middel van wing-tags/pootring; fixatie voor toediening vaccin (60 dieren); toediening vaccin (60 dieren) oculair op 1-dag leeftijd; fixatie voor afname bloed (10 dieren tweemaal, 60 dieren eenmaal); afname bloed; fixatie voor toediening challenge IM; challenge-periode met kans op klinische symptomen en sterfte; beperking bewegingsruimte door huisvesting isolator.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Zie boven.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Dieren die ernstige klinische verschijnselen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag zullen worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamelijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen. Alle inspecties en/of beoordelingen worden opgenomen in het study report.

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Dieren die ernstige klinische verschijnselen vertonen met als gevolg dat deze dieren onnodig lijden door het niet kunnen uitvoeren van normaal gedrag zullen worden geëuthanaseerd. Dieren die lichamelijk letsel oplopen (bijvoorbeeld na aangepikt te zijn) waardoor normaal gedrag niet meer mogelijk is zullen indien onbehandelbaar worden geëuthanaseerd. Alle dieren worden gedurende de studie dagelijks klinische beoordeeld, of frequenter indien nodig, om zo tot een beter humaan eindpunt te komen. Alle inspecties en/of beoordelingen worden opgenomen in het study report.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

(10 van 75) 13%

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De negatieve controle dieren (10) zullen ernstig ongerief ondergaan en hoogstwaarschijnlijk ten gevolge van de challenge sterven. De dieren gevaccineerd

met het commerciële vaccin zullen matig ongerief ondergaan.

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren kunnen niet worden hergebruikt.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Boehringer Ingelheim  
Animal Health Operations bv

1 april 2015

Geachte leden van de CCD,

Uw kenmerk:AVD22400201568

Op 26 maart 2015 heeft u een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven van de BIAHO ontvangen. Naar aanleiding van die aanvraag heeft u op 31 maart 2015 een aantal vragen gesteld aan de DEC. De antwoorden op die vragen vindt u onderstaand.

Ons kenmerk:HvD/15.656

Proefdierdeskundige

Overwegingen en dilemma's van de DEC:

De DEC heeft er samen met de onderzoekers voor gekozen om in de projectaanvragen onderzoeksplannen te clusteren die bij een diersoort horen en die ook inzicht geven in welke onderzoeken betrekking hebben op eenzelfde product ontwikkeling. In de huidige aanvraag zijn 3 plannen opgenomen die alle 3 in detail door de DEC en de IvD zijn beoordeeld. De volgende overweging van de DEC zijn daarbij vastgelegd.

Tel. 0031 [REDACTED]

E-mail [REDACTED]@boehringer-  
ingelheim.com

C.J. van Houtenlaan 36  
1381 CP WEESP  
Postbus 36  
1380 AA WEESP  
The Netherlands  
www.boehringer-ingelheim.nl

#### 15-003

De commissie heeft het onderzoeksplan getoetst in haar vergadering van 27 februari 2015 met de volgende bevindingen. De commissie is van oordeel dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de betrokken dieren en dat voor het realiseren van dit doel geen alternatieven beschikbaar zijn. Voorts meent de commissie dat uitvoering van het onderzoek niet in strijd is met andere ethische overwegingen met betrekking tot het gebruik van proefdieren. De commissie is van mening dat de getrapte structuur van 4 constructs per test sessie bijdraagt aan de reductie van gebruikte dieren door combineren van controle groepen maar ook dat evalueren van resultaten voordat alle constructs getest zijn daaraan bijdraagt.

#### 15-004

De commissie heeft het onderzoeksplan getoetst in haar vergadering van 27 februari 2015 met de volgende bevindingen. De commissie is van oordeel dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de betrokken

Deutsche Bank: 26.51.75.240  
IBAN nr.: NL52DEUT0265175240  
Handelsregister: 55530133 Alkmaar  
BTW nr.: NL851752858B01



dieren en dat voor het realiseren van dit doel geen alternatieven beschikbaar zijn. Voorts meent de commissie dat uitvoering van het onderzoek niet in strijd is met andere ethische overwegingen met betrekking tot het gebruik van proefdieren. Bij haar overwegingen heeft de DEC besproken de geschiktheid van de Lasota stam voor dit doel en is overtuigd dat deze stam geschikt is. Tevens heeft de DEC overwogen of de gebruikte ELISA geschikt is om een meer perifere immuun response te detecteren (IgA i.p.v. IgG). Dit kon door de onderzoeker worden bevestigd.

**15-009**

De commissie heeft het onderzoeksplan getoetst in haar vergadering van 27 februari 2015 met de volgende bevindingen. De commissie is van oordeel dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief voor de betrokken dieren en dat voor het realiseren van dit doel geen alternatieven beschikbaar zijn. Voorts meent de commissie dat uitvoering van het onderzoek niet in strijd is met andere ethische overwegingen met betrekking tot het gebruik van proefdieren. In haar overwegingen heeft de DEC meegenomen dat er niet gebruik gemaakt kan worden van MDA positieve dieren omdat het challenge model daarvoor niet gevalideerd is.

Specifiek wordt gevraagd naar de haalbaarheid van de doelstelling, de ongeriefclassificatie en de 3V's. De haalbaarheid van de doelstelling is een aspect dat zwaar weegt voor de DEC als onderdeel van het belang dat afgewogen wordt tegen het verwachte ongerief. De ongeriefclassificatie wordt door de onderzoeker gepresenteerd aan de DEC en door zowel de IvD als de DEC getoetst. In geval van twijfel wordt door de DEC uitgegaan van een "worst case" model, zodat ook wanneer het ongerief hoog uitvalt dit is afgewogen tegen het belang van het onderzoek. Als vast onderdeel van de DEC evaluatie wordt beoordeeld of de onderzoeker voldoende onderzocht heeft of vermindering, vervanging of verfijning mogelijk is. Eventueel doet de DEC of de IvD aanbevelingen om 3V's toe te passen. Dit kan zelfs in de vorm van voorwaarden voor uitvoering van het onderzoeksplan.

Door onbekendheid met de documenten voor indiening van de projectaanvraag is onderdeel B4 weggelaten. De reden daarvoor is dat dit niet als relevant werd beschouwd omdat de externe leden onafhankelijk zijn en de interne leden, voor zover ze aan de beraadslaging deelnamen niet betrokken zijn bij het onderzoek.

Tot slot is gevraagd hoe de DEC de verschillende elementen uit het projectvoorstel heeft laten meewegen bij de ethische afweging en waar knelpunten kunnen liggen. Dit is verwoord onder de afwegingen die hierboven vermeld zijn per onderzoeksplan.

Hoogachtend







> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv

J.C. van Houtenlaan 36  
1381 CP Weesp  
Nederland

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD22400201568

**Uw referentie**  
uw ref

**Bijlagen**  
1

Datum 13 mei 2015

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 26 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer AVD22400201568. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 01 april 2015 en 23 april 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld op basis van door het secretariaat van de CCD gestelde vragen.

### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De CCD heeft een extra voorwaarde toegevoegd. Deze voorwaarde houdt in dat dierproef 3.4.4.3 alleen mag worden uitgevoerd indien de in 3.4.4.2 geteste kandidaat vaccins veilig zijn. De criteria hiervoor dienen voor aanvang van het project samen met de IvD te worden vastgesteld. Deze voorwaarde is toegevoegd om onnodig lijden van dieren te voorkomen.

U kunt met uw project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" starten. De vergunning wordt afgegeven van 15 mei 2015 tot en met 1 mei 2020.

### **Beoordeling achteraf**

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1 lid 1d en lid 3 van de Wet op de dierproeven. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie DEC BIAHO gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.



**Datum**  
13 mei 2015

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD22400201568

### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.


Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

### **Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

### **Bijlagen**

- Vergunning

- Hiervan deel uitmakend:
- DEC-advies
  - Weergave wet- en regelgeving



## Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Boehringer Ingelheim Animal Health Operations bv  
Adres: J.C. van Houtenlaan 36  
Postcode en woonplaats: 1381 CP Weesp  
Deelnemersnummer: 22400

deze projectvergunning voor het tijdvak 15 mei 2015 tot en met 1 mei 2020, voor het project "Testen van werkzaamheid, veiligheid en zuiverheid van pluimvee-vaccins (kandidaten)" met aanvraagnummer 22400201568, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC BIAHO. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 30 maart 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 26 maart 2015, en aangepast op 01 april 2015 na vragen van de CCD;
  - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 26 maart 2015, en aangepast op 01 april 2015 na vragen van de CCD;
  - c. Advies van dierexperimentencommissie, ontvangen op 26 maart 2015.

### Dierproeven

| Naam dierproef  | Diersoort                  | Aantal dieren | Ernst         | Voorwaarden  |
|---|----------------------------|---------------|---------------|--|
| Testing the in vivo replication of rechVT candidate vector constructs | Kip (eigen fok)            | 260           | Licht         |  |
| Testing of NDV MLV vaccine candidates for clinical safety             | Kip (commerciële broilers) | 160           | Licht         |  |
| Testing the efficacy of tsNDV against a velogenic NDV challenge       | Kip (eigen fok)            | 75            | Matig/Ernstig | Mag alleen worden uitgevoerd indien de in 3.4.4.2 geteste kandidaat vaccins veilig zijn. |

### Beoordeling achteraf

Uiterlijk 3 maanden na afloop van het project dient aan de CCD te worden gerapporteerd:

- a. of de doelstellingen van het project werden bereikt;
- b. de schade die de dieren hebben ondervonden, met inbegrip van de gebruikte aantallen en soorten proefdieren en de ernst van de dierproeven; en
- c. eventuele elementen die kunnen bijdragen tot het verder in praktijk brengen van artikel 10.

### Extra voorwaarden

**Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen**



De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat dierproef 3.4.4.3 alleen mag worden uitgevoerd indien de in 3.4.4.2 geteste kandidaat vaccins veilig zijn. De criteria hiervoor dienen voor aanvang van het project samen met de IvD te worden vastgesteld.

## **Weergave wet- en regelgeving**

### **Dit project en wijzigingen**

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

### **Verzorging**

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt.

Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

### **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.



### **Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand. Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

### **Beoordeling achteraf**

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden. In dit project worden dierproeven toegepast waarbij die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van een beoordeling achteraf.

Deze beoordeling zal uiterlijk augustus 2020 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van lijden van de proevendieren conform de vergunning waren.

31 MAART 2015



## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

|   |   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
|---|---|---|--------------------------------|---|---|------------|------------------------------|-----------------|----------------|--------------------|---------------------------------------|----------------|-------|------------|-------------|--------------------------|--|
| 1.1   | Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?<br><i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>                          | <input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in   10300<br><input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen  |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| 1.2   | Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.   | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Naam instelling of organisatie</td> <td>Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>4 1 0 5 5 6 2 9</td> </tr> </table>   | Naam instelling of organisatie | Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen                            | Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde                   | [REDACTED] | KvK-nummer                   | 4 1 0 5 5 6 2 9 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Naam instelling of organisatie                      | Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [REDACTED]  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| KvK-nummer  | 4 1 0 5 5 6 2 9   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| 1.3   | Vul de gegevens van het postadres in.<br><i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i> | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Straat en huisnummer</td> <td>Geert Groteplein-Noord 9</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td>9102</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>6525EZ Nijmegen</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL90ABNA0231209983</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>UMC St Radboud</td> </tr> </table>   | Straat en huisnummer           | Geert Groteplein-Noord 9  | Postbus   | 9102       | Postcode en plaats           | 6525EZ Nijmegen | IBAN           | NL90ABNA0231209983 | Tenaamstelling van het rekeningnummer | UMC St Radboud |       |            |             |                          |  |
| Straat en huisnummer                                | Geert Groteplein-Noord 9  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Postbus   | 9102  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Postcode en plaats                                  | 6525EZ Nijmegen   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| IBAN  | NL90ABNA0231209983  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Tenaamstelling van het rekeningnummer               | UMC St Radboud  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| 1.4   | Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.  | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</td> <td style="width: 50%;"><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">Wetenschappelijk onderzoeker</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2" style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>0 2 4</td> <td style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2" style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]@radboudumc.nl</td> </tr> </table> | (Titel) Naam en voorletters    | [REDACTED]  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw. | Functie    | Wetenschappelijk onderzoeker |                 | Afdeling       | [REDACTED]         |                                       | Telefoonnummer | 0 2 4 | [REDACTED] | E-mailadres | [REDACTED]@radboudumc.nl |  |
| (Titel) Naam en voorletters                         | [REDACTED]  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Functie   | Wetenschappelijk onderzoeker  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Afdeling  | [REDACTED]  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Telefoonnummer                                      | 0 2 4   | [REDACTED]  |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| E-mailadres   | [REDACTED]@radboudumc.nl  |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| 1.5   | <i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.  | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td style="width: 50%;"><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td></td> </tr> </table>  | (Titel) Naam en voorletters    | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. | Functie   |            | Afdeling                     |                 | Telefoonnummer |                    | E-mailadres                           |                |       |            |             |                          |  |
| (Titel) Naam en voorletters                         | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Functie   |   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Afdeling  |   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| Telefoonnummer                                      |   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |
| E-mailadres   |   |   |                                |   |   |            |                              |                 |                |                    |                                       |                |       |            |             |                          |  |



- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters  Dhr.  Mw.
- Functie Instantievoor Dierenwelzijn
- Afdeling IWKV
- Telefoonnummer 0 2 4
- E-mailadres instantievoordierenwelzijn@radboudumc.nl
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag
- Nee

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een wijziging voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een melding voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 24\_05\_2015
- Einddatum 01\_05\_2015
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC RU DEC
- Postadres Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen (
- E-mailadres
- Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia.
- Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patienten met congenitale bijnierhyperplasie.

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*
- Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- DEC-advies


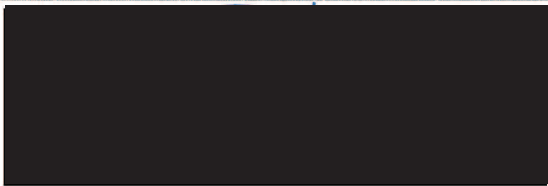
## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondertekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

|              |  |
|--------------|--|
| Naam         |   |
| Functie      | Instantie voor dierenwelzijn   |
| Plaats       | Nijmegen   |
| Datum        | 27 - 03 - 2015   |
| Handtekening |  |





**Form  
Project proposal**

- This form should be used to write the project proposal of animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed
- For more information on the project proposal, see our website([www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl)).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

**1 General information**

|     |  |   |
|-----|--|---|
| 1.1 | Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. | 10300   |
| 1.2 | Provide the name of the licenced establishment.  | Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen  |
| 1.3 | Provide the title of the project.  | Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia |

**2 Categories**

|     |   |  |
|-----|---|--|
| 2.1 | Please tick each of the following boxes that applies to your project. | <input type="checkbox"/> Basic Research<br><input checked="" type="checkbox"/> Translational or applied research<br><input type="checkbox"/> Regulatory use of routine production<br><input type="checkbox"/> Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare dier<br><input type="checkbox"/> Research aimed at preserving the species subjected to procedures<br><input type="checkbox"/> Higher education or training |
|-----|---|--|

---

Forensic enquiries

Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

---

### 3 General description of the project

#### 3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

Congenital adrenal hyperplasia (CAH), is a disease resulting from mutations in the genes of one of the enzymes involved in the production of aldosterone, cortisol and androgen from cholesterol in the adrenal cortex. The most affected enzyme is 21-hydroxylase. This causes a blockade in the formation of aldosterone and cortisol, with accumulation of precursors before the enzymatic block and overproduction of the not affected androgens. This causes a clinical picture characterized by symptoms of cortisol and mineralocorticoid deficiency resulting in vomiting and salt-wasting, leading to dehydration and death and in prenatal virilisation of the external genitalia in girls. Apart from excess of androgens, precursors of cortisol and aldosterone may accumulate, including 17-hydroxyprogesterone (17OHP), progesterone (P), 21-deoxycortisol (21DF) and androstenedione ( $\Delta 4$ ). CAH is treated with hydrocortisone and, in particular in case there is no residual function of 21-hydroxylase, a mineralocorticoid (fludrocortisone) to substitute for aldosterone deficiency. Goals of the glucocorticoid treatment is not only the substitution of the lack of cortisol but also to suppress the active pituitary adrenal axis with consequently suppression of precursors and androgens. Final goal of this treatment is the improvement of life expectancy and quality of life. CAH has been associated with an increased prevalence of cardiovascular risk factors, in particular adiposity, insulin resistance and slightly increase in blood pressure (Mooij, C.F. et al. Clin Endocrinol 2010). Since the low prevalence of CAH does not allow us to investigate the association between atherosclerosis and CAH directly, our knowledge of the impact of these risk factors on atherosclerosis in the general population strongly suggests that patients with CAH are at risk for development of atherosclerotic events. Furthermore, in a scarce study on this topic, intima media thickness appeared to be increased in (adult) patients with CAH, indicating vascular damage as a consequence of CAH and/or its treatment (Sartorato, P. et al. J Clin Endocrinol Metab 2007). Both excessive treatment with hydrocortisone and mineralocorticoids (fludrocortisone) as well as accumulation of previously mentioned steroid precursors may mediate these associations. These factors could act indirectly by mediating the development of a phenotype with increased cardiovascular risk (often referred to as the 'metabolic syndrome'). Alternatively or in concert, these steroids may also directly initiate or facilitate the atherosclerotic process. Two cell types act as the main directors of this process: the endothelial cells and inflammatory cells. In addition (and to complicate matters), these cells may also be involved in the pathogenesis of the metabolic syndrome. In this research project, we will assess the direct toxic effects of the above mentioned steroids on the capacity of the endothelium in rat small mesenteric resistance vessels (using the Mulvany myograph) to induce vasodilation in response to exposure to acetylcholine. This ex-vivo bio-assay sensitively detects alteration in endothelial function that is associated with the development of atherosclerosis (Davignon, J. et al Circulation 2004).

---

### 3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
  - If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?
- 

In this project, we want to answer the following question: what is the effect of adrenal steroid precursors relevant in the pathogenesis of Congenital Adrenal Hyperplasia (17-hydroxyprogesterone (17OHP), progesterone (P), 21-deoxycortisol (21DF) and androstenedione ( $\Delta 4$ )) and steroids relevant to the treatment (hydrocortisone and fludrocortisone) on microvascular function, in particular endothelium-dependent vasodilatation?

---

### 3.3 Relevance

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

---

Patients with Congenital Adrenal Hyperplasia often develop the metabolic syndrome (hypertension, diabetes, overweight) which exposes them to an increased risk of cardiovascular disease, atherosclerosis in particular. For physicians and patients, it is currently uncertain to what extent the disease itself (by accumulation of steroid precursors) or its therapy (including hydrocortisone and fludrocortisone) contribute to these cardiometabolic consequences. In addition, it is not known whether these steroid precursors and therapeutics have a direct toxic effect on microvessels that could contribute to the atherosclerotic process.

This project will increase our knowledge on the direct vascular effects of steroids involved in the pathogenesis and therapy of Congenital Adrenal Hyperplasia and could therefore provide some guidance for clinicians to the direction of subsequent clinical research on how to prevent cardiovascular disease in patients with this disorder.

As justified in the section 'animal procedures', there is no alternative to study the direct actions of steroids on endothelial function than in isolated vessels of healthy adult animals.

---

### 3.4 Research Strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

---

#### Substudy a

Healthy adult rats will be anaesthetised with pentobarbital. The animals will be euthanised with an overdose of the hypnotic pentobarbital. Immediately after healthy adult rats have been sacrificed, mesenteric resistance arterioles (diameter < 400 micrometer; 3-4/rat) will be isolated and suspended in a Mulvany myograph to assess the vasodilator response to acetylcholine and nitroprusside in absence and presence of hydrocortisone, fludrocortisone and steroid precursors involved in the pathogenesis of CAH. Twenty to sixty rats will be used for this study part (twenty when a single dose for each steroid is tested; depending on the results 1-3 doses will be investigated per steroid).

#### Substudy b

For those steroids or precursors that appeared to affect endothelium-dependent vasodilation in substudy 1 (with a maximum of 2 steroids), we will explore the role of various endothelium-derived relaxing factors in the steroid-induced endothelial toxicity: Nitric Oxide, prostanoids, and hyperpolarizing factors. Twenty rats are reserved for this part of the protocol.

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

The rats are euthanized under anesthesia with pentobarbital. Subsequently, mesenteric resistance vessels (diameter 150-400  $\mu\text{m}$ ) will be suspended in a Mulvany myograph and vasodilator response to vasodilators in absence and presence of steroids will be assessed according to standard procedures (substudy a). When this study reveals significant impact of steroids on vasodilator responses of mesenteric resistance vessels, in a subsequent study (substudy b) the role of endothelial relaxing factors will be assessed using pharmacological tools.

This project is feasible since the research team has a longlasting experience with the use of this experimental set-up (i.e. Riksen et al J Cardiovasc Pharmacol 2003; Smits et al J Cardiovasc Pharmacol 2002) and our poweranalysis shows that the number of animals needed to draw reliable conclusions is also feasible.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points

Substudy b (additional pharmacological experiments in isolated mesenteric resistance vessels to further explore the mechanism of endothelial vasodilator dysfunction) will only be performed if results of substudy a indicate an effect of the steroid precursors, hydrocortisone and/or fludrocortisone. This approach limits the number of rats needed in this project as much as possible. In addition, substudy b will serve as an internal verification of the observed impact of the steroid(precursors) on endothelial vasodilator function in substudy a.

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

| Serial number | Type of animal procedure   |
|---------------|----------------------------|
| 1             | Ex-vivo vasodilation model |

**Appendix**  
**Description animal procedures**

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

## 1 General information

| 1.1           | Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.                                  | 10300   |               |                          |   |                            |
|---------------|---|---|---------------|--------------------------|---|----------------------------|
| 1.2           | Provide the name of the licenced establishment.   | Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen  |               |                          |   |                            |
| 1.3           | List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form. | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Serial number</th> <th>Type of animal procedure</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Ex-vivo vasodilation model</td> </tr> </tbody> </table> | Serial number | Type of animal procedure | 1 | Ex-vivo vasodilation model |
| Serial number | Type of animal procedure  |   |               |                          |   |                            |
| 1             | Ex-vivo vasodilation model  |   |               |                          |   |                            |

## 2 Description of animal procedures

### A. Experimental approach and primary outcome parameters

---

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

---

For each animal, the experimental procedure starts with euthanasia with an overdose of pentobarbital (i.v.). This will be performed at the Central animal facility (CDL), Radboudumc. The primary outcome parameter is the vasodilator response to acetylcholine in mesenteric resistance arteries. This parameter provides a validated measure of the function of the endothelium to modulate vascular tone. The endothelial factors that are released in response to acetylcholine (NO, prostanoids and hyperpolarizing factors) play also a role in atherogenesis by modulating function of inflammatory cells and platelets and by regulating cell growth in the vascular wall.

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

---

After anesthesia with pentobarbital, and the rat has been killed with an overdose of pentobarbital, the abdomen is opened, the omentum is taken out and mesenteric resistance arteries are isolated and dissected under a microscope. On average three (maximally 4) mesenteric resistance vessels are subsequently suspended in a Mulvany Myograph and vasodilator responses are assessed ex-vivo. These procedures are performed at the laboratory of the [REDACTED]

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

---

For each vessel, the vasodilator response will be quantified in terms of log EC50 and Emax as determined using generally accepted curve fitting software (Graphpad Prism). The impact of steroids on vasodilator responses will be analysed by comparing log EC50 and Emax using paired t-tests. Based on previous studies at our department (i.e. Riksen et al J Cardiovasc Pharmacol 2003), we have performed power calculations indicating that for each steroid 6 vessels originating from 6 different animals should be sufficient to detect a minimal difference in log EC50 and Emax of 0.5 and 28% respectively. This analysis indicates that our model is sensitive enough to detect relevant differences in vasodilator responses. Furthermore, based on an estimate number of 3-4 vessels harvested per rat (which is achievable according to our experience), this analysis indicates that we can minimize the number of animals needed for this study to 20-60 animals in substudy a (depending on the number of steroid doses that we will explore; we will use maximally 3 doses per investigated steroid) and 20 animals in substudy b.

**B. The animals**

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Wistar rats will be used.

We want to assess the impact of steroids on endothelial vasodilator function in (small) mammals with normal physiology (no hypertension, diabetes or overweight) to prevent any bias of any other endothelium-modulating factors and to mimick the vascular condition of children with Congenital Adrenal Hyperplasia without any co-morbidity as much as possible. Less complex animals can not be used since results from these animals can not be translated to humans at all. Vessels from mice are too small to perform this type of experiments.

| Species                   | Origin | Maximum number of animals | Life stage |
|---------------------------|--------|---------------------------|------------|
| Male Wistar-Hannover rats | Harlan | 80                        | Adult      |

**C. Re-use**

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

**D. Replacement, reduction, refinement**

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

**replacement:** mammals (in stead of less complex animals) are needed to allow translation to humans. Unfortunately, we can not use humans at this stage, since in humans the endothelial effect of steroids can not be studied in isolation from their systemic adverse actions on blood pressure, insulin sensitivity and body weight.

**reduction:** This experiment has been devided in two substudies to allow exploration of a wide array of steroid precursors and therapeutics for Congenital Adrenal Hyperplasia first before zooming in on the mechanism of endothelial dysfunction. In this way, after 20 animals (3 vessels/animal) we will be able to conclude whether this approach detects any impact of the studied steroids on endothelial function. If none of the steroids appear to affect endothelial function, substudy b will be skipped.

**refinement:** By exposing isolated vessels to our interventions (addition of steroids) we can study the vascular impact of these interventions separately from any systemic action (blood pressure, insulin sensitivity, body weight etcetera) that these steroids might have when administered systemically in-vivo. Furthermore it reduces the impact of our study on animal welfare as much as possible, since euthanasia (with pentobarbital) is the only procedure that will be performed in the living animal.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

---

The only experimental procedure in the living animal will be euthanasia (under anesthesia), which limits the impact on animal welfare to a minimum.

## Repetition and Duplication

### E. Repetition

---

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

---

## Accommodation and care

### F. Accommodation and care

---

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

---

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

---



**F. Accommodation and care**

---

**G. Location where the animals procedures are performed**

---

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

---

No > Continue with question H.

---

Yes > Describe this establishment.

---

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

---

## **Classification of discomfort/humane endpoints**

**H. Pain and pain relief**

---

Will the animals experience pain during or after the procedures?

---

No > Continue with question I.

---

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

---

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

---

Yes

---

**I. Other aspects compromising the welfare of the animals**

---

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

---

No

Explain why these effects may emerge.

---

Not applicable

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

---

Not applicable

**J. Humane endpoints**

---

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

---

Indicate the likely incidence.

---

**K. Classification of severity of procedures**

---

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe ).

---

Discomfort code 1 (non-recovery), category: mild.

## End of experiment

**L. Method of killing**

---

Will the animals be killed during or after the procedures?

---

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

---

The experiment starts with euthanasia by pentobarbital overdose to allow us to dissect mesenteric resistance vessels without any suffering by the animal.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

---

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

---

Yes

---

**Format****Niet-technische samenvatting**

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven.
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

|     |                          |   |
|-----|--------------------------|---|
| 1.1 | Titel van het project    | Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patienten met congenitale bijnier hyperplasie |
| 1.2 | Looptijd van het project | 24-4-2015 - 1-5-2016  |
| 1.3 | Trefwoorden (maximaal 5) | Congenitale bijnier hyperplasie   |

## 2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Patiënten met een Congenitale bijnierhyperplasie hebben door een enzymdefect in de bijnier een gestoorde vorming van de bijnierhormonen cortisol en aldosteron. Deze hormonen spelen een belangrijke rol in de regulatie van water- en zout huishouding en de reactie op stress. Naast ophoping van voorlopers van deze hormonen zal door ontbreken van de normale terugkoppeling door cortisol naar de hypofyse veel ACTH worden gemaakt waardoor de bijnier sterk door ACTH wordt gestimuleerd en er veel androgenen worden gevormd. De behandeling van dit ziektebeeld bestaat primair uit toediening van cortisol (in de vorm van hydrocortison) waarbij vaak ook een vervanger van aldosteron dient te worden gegeven (fludrocortison). Uit klinisch onderzoek blijkt dat patiënten met dit ziektebeeld die met hydrocortison/fludrocortison worden behandeld een hoger lichaamsgewicht, hogere bloeddruk en vaker suikerziekte hebben in vergelijking met gezonden van de zelfde leeftijd. We denken daarom dat deze patiënten meer risico hebben op hart- en vaatziekte. Met dit onderzoek willen we de vasculaire gevolgen van deze hormonale stoornis beter in kaart brengen waardoor we uiteindelijk de therapie zodanig kunnen verbeteren dat de gevolgen voor de bloedvaten zo veel mogelijk beperkt blijven. Het endotheel speelt een belangrijke rol in de initiatie van atherosclerose. Stikstofoxide dat door het endotheel wordt afgegeven heeft daarbij een belangrijke beschermende functie. De mate waarin het endotheel in staat is stikstofoxide te maken kunnen we in het laboratorium meten door het endotheel bloot te stellen aan acetylcholine (een stof die via receptoren op het endotheel de stikstof-oxide productie activeert, waardoor vaatverwijding ontstaat. De vraag die we in dit onderzoek willen beantwoorden is of de voorlopers van cortisol en aldosteron danwel de therapie die wordt toegepast (hydrocortison, fludrocortison) een direkt verstorend effect hebben op het endotheel waardoor minder stikstofoxide wordt vrijgemaakt en daardoor minder vaatverwijding optreedt.
- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Uiteindelijk hopen we met de kennis die door dit onderzoek wordt verkregen de behandeling van (nu nog relatief jonge) patiënten met Congenitale Bijnierhyperplasie zodanig te verbeteren dat ze op latere leeftijd minder last krijgen van de invaliderende gevolgen van atherosclerose zoals hartinfarct, herseninfarct en verstoorde circulatie van de benen.

|     |   |  |
|-----|---|--|
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?                              | <p>Substudie a: minimaal 20, maximaal 60 Wistar ratten<br/>Volgens onze poweranalyse zouden 20 ratten (rekening houdend met uitval van 10%) voldoende moeten zijn om een relevant effect van 1 dosis van de diverse genoemde steroïden op acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding te kunnen detecteren. Omdat we bij onvoldoende resultaat de mogelijkheid willen openhouden nog twee additionele doseringen van ieder steroïd te onderzoeken zijn voor studie a maximaal 60 ratten noodzakelijk.</p> <p>Substudie b: 20 ratten<br/>Omdat de dosering van de (maximaal 2) te bestuderen steroïden uit studie a bekend is zijn voor dit onderdeel 20 ratten noodzakelijk.</p> |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | Het onderzoek begint met het doden van de ratten door middel van een overdosis pentobarbital. Bij leven is er een ongerief code 1, non-recovery (categorie: mild).   |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?                   | Ongerief code 1 (non-recovery)   |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop?   | De dieren worden gedood in de proef en via CDL afgevoerd.  |

## 4 Drie V's

|     |  |  |
|-----|--|--|
| 4.1 | <p><b>Vervanging</b> Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.</p> | <p>Bij de mens kan het geïsoleerd effect van 1 steroïd(precursor) op endotheelfunctie niet onderzocht worden zonder confounding door effect op bloeddruk, lichaamsgewicht of andere hormonen. Ratten zijn nodig omdat de vaatjes van ratten lijken op die van de mens. Muizen vaatjes zijn te klein om deze experimenten in uit te voeren.</p> |
|-----|--|--|

- 4.2 **Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.
- Door meerdere vaten per rat te gebruiken is het mogelijk om met een beperkt aantal ratten toch een groot aantal steroid(precursors) te screenen op hun effect op het endotheel. 6 vaten per groep is het absoluut minimum om representatieve resultaten te verkrijgen. Door de onderzoeksvraag op te splitsen in twee substudies, zal bij ontbreken van een effect van de gekozen steroiden op endotheelfunctie het aantal dieren dat voor dit experiment wordt opgeofferd tot een minimum van 20 worden beperkt. Indien substudie a in eerste instantie een negatief resultaat heeft (dwz we detecteren geen effect van een steroid op endotheelfunctie) dan willen we graag het onderzoek herhalen bij hogere doseringen van de diverse steroiden. Een maximum van in totaal 60 ratten zal voor substudie a worden ingezet. Omdat we door de resultaten van substudie a weten welke dosis van de steroiden we moeten gebruiken, hebben we voor substudie b slechts 20 ratten nodig.
- 4.3 **Verfijning** Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diemodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.
- Het gebruik van minder complexe diersoorten maakt translatie naar de mens onmogelijk. De mesenteriaalvaatjes van muizen zijn te klein voor toepassing in de Mulvany myograaf. Daarom is gekozen voor de rat. Het onderzoek kan helaas niet in de mens worden uitgevoerd omdat dan het directe effect van de steroiden op de vaatwand niet kan worden bestudeerd doordat systemische effecten van de steroiden (bloeddrukstijging, glucose stijging, toename lichaamsgewicht en beginnende atherosclerose) de resultaten van de metingen zal vertekenen. De vaatjes worden verwijderd uit gezonde ratten. Het onderzoek gebeurt in geïsoleerde vaatjes in een orgaanbad. In deze geïsoleerde gezonde vaatjes bestuderen we het effect van steroiden die verhoogd aanwezig zijn bij patiënten met congenitale bijnierhyperplasie. Door deze onderzoeksopzet kunnen we heel precies conclusies trekken over de acute effecten van deze steroiden op het endotheel van deze vaatjes. De effecten die we op dit endotheel meten hebben een belangrijke rol in het ontstaan van atherosclerose. Daardoor kunnen we met deze onderzoeksopzet precies nagaan of deze steroiden na korte blootstelling reeds veranderingen in het endotheel veroorzaken die atherosclerose bevorderen. Dit is precies de vraag die we met dit onderzoek proberen te beantwoorden. Deze vraag zouden we niet zo precies kunnen beantwoorden wanneer we de ratten in leven zouden blootstellen aan deze steroiden omdat dan ook andere effecten van deze steroiden (zoals toename in lichaamsgewicht, bloeddrukstijging en stijging van glucose) zouden bijdragen aan de effecten op de vaatwand.
- 4.4 Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.
- Doden zal geschieden onder minimaal invasieve anaesthesie.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



## DEC-advies

### A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: 2015-0005
2. Titel van het project: Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisones that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia.
3. Titel van de NTS: Endotheliale toxiciteit van bijnierprecursors, hydrocortison en fludrocortison die verhoogd zijn in patiënten met congenitale bijnier hyperplasie.
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC: RUDEC
  - telefoonnummer contactpersoon: 024-██████████
  - mailadres contactpersoon: ██████████@radboudumc.nl
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC: 27-01-2015
  - aanvraag compleet
  - in vergadering besproken: 03-02-2015
  - anderszins behandeld
  - termijnonderbreking(en) van 17-02-2015 tot 18-03-2015
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
  - aanpassing aanvraag: 18-03-2015
  - advies aan CCD: 24-03-2015
7. Eventueel horen van aanvrager
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager
  - Strekking van de vraag / vragen
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
  - Datum 17-02-2015
  - Strekking van de vraag / vragen: De onderzoekers worden verzocht te onderbouwen waarom zij dit project translationeel onderzoek bestempelen, terwijl het klinische probleem niet is aangetoond. Zij worden gevraagd referenties toe te voegen in de beschrijving van de wetenschappelijke achtergrond, en ook de haalbaarheid van het project beter toe te lichten. De onderzoekers wordt geadviseerd de ex-vivo experimenten in minder detail te beschrijven, om onnodige amendementen bij kleine wijzigingen te voorkomen. De onderzoekers willen functionele testen met leukocyten uitvoeren. Echter, het voorgestelde anestheticum heeft een remmende werking op leukocyten. De onderzoekers worden verzocht een ander anestheticum te gebruiken

dat dit effect niet heeft. Andere vragen betreffen kleine, soms slechts tekstuele, wijzigingen in de vergunningaanvraag.

- Datum antwoord: 17-03-2015 en 19-03-2015
  - Strekking van het antwoord: De gevraagde referenties van de wetenschappelijke achtergrond en haalbaarheid van de doelstelling zijn toegevoegd aan de aanvraag. De aanvrager licht toe waarom het klinisch probleem niet is aangetoond, maar wel degelijk bestaat, waarna de DEC akkoord gaat met de categorie translationeel onderzoek. De functionele testen met leukocyten worden achterwege gelaten.
  - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag. Het DEC-advies is van toepassing op de aangepaste aanvraag.
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)
- Aard expertise:
  - Deskundigheid expert:
  - Datum verzoek:
  - Strekking van het verzoek:
  - Datum expert advies:
  - Expert advies:

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag
3. De DEC is competent om hierover te adviseren. Zij acht zich voldoende onafhankelijk en onpartijdig, en beschikt over voldoende expertise om een advies uit te brengen over dit projectvoorstel.

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:
  - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling, namelijk 'what is the effect of adrenal steroid precursors relevant in the pathogenesis of Congenital Adrenal Hyperplasia (17-hydroxyprogesterone (17OHP), progesterone (P), 21-deoxycortisol (21DF) and androstenedione ( $\Delta 4$ )) and steroids relevant to the treatment (hydrocortisone and fludrocortisone) on microvascular function, in particular endothelium-dependent vasodilatation?'. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. Indien complicaties voor deze patiëntengroep verminderd kunnen worden, levert dat belangrijke gezondheidswinst op. Voorts kunnen de resultaten van dit onderzoek de aanleiding vormen voor verder fundamenteel onderzoek naar endotheelfunctie. De mogelijke bijdrage aan fundamenteel onderzoek naar vaatschade in meerdere ziektebeelden, vertegenwoordigt eveneens een reëel belang.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Deze onderzoeksgroep heeft veel ervaring met het beschreven onderzoeksmodel. De gekozen aanpak leidt in elk geval tot meer

- inzicht in het acute effect van steroïden op endotheel-afhankelijke vasodilatatie.
5. Bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren zijn niet van toepassing.
  6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief bij de dieren wordt uitsluitend bepaald door het doden middels een overdosis anestheticum. De DEC schat het ongerief voor de dieren daarom in als mild.
  7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten.
  8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. De resultaten uit substudie a worden gebruikt in substudie b, waardoor hier minder dieren nodig zijn. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 80 mannelijke Wistar ratten.
  9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. De dieren worden in het kader van dit ex-vivo onderzoek op een zo humaan mogelijke wijze gedood. De experimenten worden uitgevoerd op het daarna geïsoleerde weefsel. Verdere verfijning is niet mogelijk.  
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
  10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project, zelfstandig leesbaar, beknopt en begrijpelijk geformuleerd.

## 1 D. Ethische afweging

Op basis van de onder C genoemde overwegingen komt de DEC tot de volgende ethische afweging. Bij de dierproeven wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Voor alle dieren blijft het ongerief beperkt tot mild, omdat zij zonder voorafgaande handelingen op een zo humaan mogelijke wijze worden gedood.

Tegenover de nadelige gevolgen voor de dieren staat dat met dit onderzoek belangrijke wetenschappelijke inzichten kunnen worden verworven betreffende het acute effect van steroïden op vasodilatatie. Het is aannemelijk dat die inzichten kunnen bijdragen aan het verminderen van vaatschade bij CAH-patiënten, en mogelijk bruikbaar zijn bij fundamenteel onderzoek naar endotheelfunctie. De DEC acht het belang van **de** doelstelling substantieel, de concrete doelstellingen zijn haalbaar en kunnen niet zonder dieren worden behaald. Naar het oordeel van de commissie rechtvaardigt het belang van de doelstelling het op humane wijze doden van de dieren ten behoeve van het verkrijgen van weefsel waarmee dit onderzoek kan worden uitgevoerd.

## 2 E. Advies

1. Advies aan de CCD
  - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

**Van:** ██████████@radboudumc.nl  
**Verzonden:** woensdag 8 april 2015 16:55  
**Aan:** ZBO-CCD; ██████████@radboudumc.nl; ██████████@radboudumc.nl  
**Onderwerp:** RE: Aanvullende informatie aanvraag AVD10300201569

**Categorieën:** ██████████ Dossierhouder

Geachte ██████████

Dank u wel voor uw bericht. Er is inderdaad een foutje in de einddatum van het aanvraagformulier geslopen. Deze is aangepast. De naam ██████████ is uit de NTS verwijderd en de NTS is ook herschreven door de onderzoekers. Met betrekking tot de pentobarbital geven de onderzoekers onderstaande toelichting:

Op de vraag naar mogelijke impact van pentobarbital het volgende:

Pentobarbital kan de acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding in mesenteriaalvaten van de rat enigszins verminderen (Anaesth Analg 1994;78:823-830), maar pas in een concentratie van  $\sim 3 \times 10^{-4}$  M. Wij doseren pentobarbital in een dosis van 4-6 mg/100g, het verdelingsvolume van pentobarbital in acht nemend (J Pharm Sci 1984;73(8):1117-21), verwachten we onder die concentratie pentobarbital te blijven. In het verleden (A. Thijs, manuscript submitted) zijn er bovendien vergelijkbare experimenten gedaan waarbij ook 6mg/100g rat pentobarbital werd toegediend om de rat te termineren. Ook uit deze eerdere studies hebben we goede vasculaire responsen verkregen (zowel op nitroprusside als acetylcholine). Een eventueel residueel effect van deze lage dosis pentobarbital op de acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding ex vivo wordt ten slotte verdisconteerd door het gebruik van interne controles: metingen van acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding in afwezigheid van steroïden (alleen blootstelling aan pentobarbital). Ten laatste zal gebruik van bijvoorbeeld isofluraan de acetylcholine-geïnduceerde vaatverwijding waarschijnlijk meer beïnvloeden dan pentobarbital. Van andere anaesthetica weten we niet wat het effect zou kunnen zijn. Dit overwegend is onze voorkeur daarom naar pentobarbital gegaan.

Ik heb de gewijzigde documenten opnieuw ingediend via de server.

Met vriendelijke groet,

---

**Van:** ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]  
**Verzonden:** woensdag 8 april 2015 11:14  
**Aan:** ██████████  
**CC:** ██████████  
**Onderwerp:** Aanvullende informatie aanvraag AVD10300201569

Geachte ██████████,

Op 27 maart hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning ontvangen. Het gaat om uw project: "Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia".

Om uw aanvraag verder in behandeling te nemen hebben wij nog aanvullende informatie van u nodig:

- U beschrijft in uw projectaanvraag dat u gebruik maakt van pentobarbital als anesthesie en euthanasie middel. Kunt u nader toelichten of dit middel effect kan hebben op het weefsel dat u in dit project gaat bestuderen?
- De einddatum op het aanvraagformulier ligt in het verleden en is niet in overeenstemming met de datums op uw NTS. Wilt u een herzien aanvraag formulier insturen met de correcte looptijd van uw project?

- De niet technische samenvatting voldoet niet aan de eisen zoals gesteld in de Dierproeven regeling 2014, voor het invullen van de NTS kunt u gebruik maken van de handleiding aanvraag projectvergunning. Deze kunt u vinden op de website van de CCD: [www.zbo-ccd.nl/handleiding-aanvraag-projectvergunning-dierproeven](http://www.zbo-ccd.nl/handleiding-aanvraag-projectvergunning-dierproeven)
- In punt 3.6 van de NTS gebruikt u de naam █████, dit doet mogelijk afbreuk aan de anonimiteit van uw aanvraag en u kunt overwegen deze term te verwijderen uit de tekst.

Wij ontvangen graag voor vrijdag 10 april 2015 uw antwoord op onze vraag, en ook de aangepaste NTS en einddatum van uw project om uw aanvraag in de eerstvolgende vergadering van de CCD te kunnen bespreken.

Met vriendelijke groet,

██████████

Secretariaat Centrale Commissie Dierproeven

**Centrale Commissie Dierproeven** [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl)

.....  
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
.....

**T: 0900 2800028**

**E: [ZBO-CCD@minez.nl](mailto:ZBO-CCD@minez.nl)**

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Het Radboudumc staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel in het handelsregister onder nummer 41055629. The Radboud university medical center is listed in the Commercial Register of the Chamber of Commerce under file number 41055629.



# Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen  
t.a.v. [redacted]  
Geert Grooteplein Noord-9  
6525EZ Nijmegen  
Nederland

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)  
Info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10300201569

Datum 22 april 2015  
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning dierproeven

**Bijlagen**  
1

Geachte [redacted]

Op 31 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia' met aanvraagnummer AVD10300201569. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna de wet). U kunt met uw project 'Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia' starten. De vergunning wordt afgegeven van 24 mei 2015 tot en met 1 mei 2016.

### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie RUDEC gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet zijn de grondslag van dit besluit.

### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

**Datum**  
22 april 2015  
**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10300201569

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163.

Bijlagen  
- Vergunning  
Hiervan deelluitmakend: - DEC-advies

**Datum**  
22 april 2015  
**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10300201569

## Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen  
Adres: ~~Geert Groteplein Noord 9~~  
Postcode en woonplaats: 6525EZ Nijmegen  
Deelnemersnummer: 10300

deze projectvergunning voor het tijdvak 24 mei 2015 tot en met 1 mei 2016, voor het project 'Endothelial toxicity of adrenal precursors, hydrocortisone and fludrocortisone that are increased in patients with congenital adrenal hyperplasia' met aanvraagnummer AVD10300201569, volgens advies van RU DEC.

De functie van de verantwoordelijke onderzoeker is projectleider.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015 en aangepast op 8 april 2015;
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015;
  - b. Niet-Technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015 en aangepast op 8 april 2015;
  - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 24 maart 2015 ontvangen op 27 maart 2015.

### Dierproeven

| Naam dierproef             | Diersoort   | Aantal dieren  | Ernst |
|----------------------------|---|--|-------|
| Ex-vivo vasodilation model | Ratten (Wistar-Hannover) niet genetisch gemodificeerd; mannen | 1-3 groepen met 20 dieren<br>1x 20 dieren voor vervolgd studie indien substudie a een positief uitkomst geeft<br>Totaal: 80 dieren | Licht |



## **Weergave wet- en regelgeving**

### **Dit project en wijzigingen**

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

### **Verzorging**

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

### **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

### **Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een

**Datum**  
22 april 2015

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10300201569

matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.



31 MAART 2015

# Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

## 1 Gegevens aanvrager

1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

Ja > Vul uw deelnemernummer in | 10500  
 Nee > U kunt geen aanvraag doen

---

1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

|   |                             |
|---|-----------------------------|
| Naam instelling of organisatie                      | Rijksuniversiteit Groningen |
| Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [Redacted]                  |
| KvK-nummer  | 1 1 7 9 0 3 7               |

---

1.3 Vul de gegevens van het postadres in.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*

|                                       |                              |
|---------------------------------------|------------------------------|
| Straat en huisnummer                  | A. Deusinglaan 1, [Redacted] |
| Postbus                               |                              |
| Postcode en plaats                    | 9713AV GRONINGEN             |
| IBAN                                  | [Redacted]                   |
| Tenaamstelling van het rekeningnummer | Rijksuniversiteit Groningen  |

---

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

|                             |                                 |   |
|-----------------------------|---------------------------------|---|
| (Titel) Naam en voorletters | [Redacted]                      | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | Onderzoeker/Universitair docent |   |
| Afdeling                    | [Redacted]                      |   |
| Telefoonnummer              | [Redacted]                      |   |
| E-mailadres                 | [Redacted]@umcg.nl              |   |

---

1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.

|                             |                    |   |
|-----------------------------|--------------------|---|
| (Titel) Naam en voorletters | [Redacted]         | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | [Redacted]         |   |
| Afdeling                    | [Redacted]         |   |
| Telefoonnummer              | 0 5 0 [Redacted]   |   |
| E-mailadres                 | [Redacted]@umcg.nl |   |



- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- |                             |  |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     |  |
| Afdeling                    |  |
| Telefoonnummer              |  |
| E-mailadres                 |  |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- |  |
|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging mee met deze aanvraag</i> |
| <input type="checkbox"/> Nee   |

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- |   |
|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3   |
| <input type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2    |
| <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn<br>Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 |
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- |  |
|--|
| <input type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier |
| <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3   |
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- |  |
|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3                        |
| <input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6 |

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |                     |
|------------|---------------------|
| Startdatum | 0 1 _ 0 5 _ 2 0 1 5 |
| Einddatum  | 0 1 _ 0 5 _ 2 0 2 0 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- |   |
|---|
| Genen and polymorphismen in cardiale remodelering en hartfalen ontwikkeling |
|---|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- |   |
|---|
| Rol van genen in hartfalen ontwikkeling |
|---|
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |                              |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC    | DEC-RUG                      |
| Postadres   | A. Deusinglaan 1, HPC: FA 29 |
| E-mailadres | secrdec.umcg@umcg.nl         |

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege
- Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- Via een eenmalige incasso
- Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- Bijlagen beschrijving dierproeven, aantal: 5


## 6 Ondertekening


- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:


- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.


Naam 

Functie 

Plaats GRONINGEN

Datum 30 - 03 - 2015

Handtekening 





## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hogere onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Dankzij cardiovasculair onderzoek zijn de diagnostische methoden en de behandelingsopties voor cardiovasculaire ziekten (CVDs) sterk verbeterd en is de mortaliteit van CVDs de laatste decennia continu afgenomen. CVDs zijn zelfs niet langer de voornaamste doodsoorzaak bij mannen in Nederland (cijfers hartstichting). Als we de verhoogde prevalentie van risicofactoren voor CVDs, zoals obesitas en diabetes, en de verouderende populatie in ogenschouw nemen is dit een opmerkelijke prestatie. Dit toont aan dat cardiovasculair onderzoek zich heeft uitbetaald voor een grote groep patiënten. Desalniettemin zijn de sterftcijfers nog steeds aanzienlijk en kan er nog veel verbeterd worden. Opvallend is vooral dat bij hartfalen het sterftcijfer nagenoeg constant is gebleven (1). Dit betekent niet dat er geen verbeteringen zijn geweest in de behandeling, maar dit is een paradoxaal gevolg van de betere behandeling van andere CVDs en de verouderende populatie. Hartfalen is namelijk het pathologische eindsyndroom van de meeste andere cardiovasculaire aandoeningen, zoals een hartinfarct, hoge bloeddruk, coronair lijden, kleplijden en erfelijke genetische hartziekten (zgn. cardiomyopathieën). Bij hartfalen is het hart niet meer in staat om het lichaam op een adequate manier van bloed te voorzien. Dit heeft ernstige klachten tot gevolg en patiënten met hartfalen hebben nog steeds een slechte prognose, waarbij 50% van alle patiënten binnen 5 jaar na diagnose overlijden (2). Hartfalen is een syndroom met hoge prevalentie, tussen de 20% en 30% van de Nederlanders krijgt in zijn leven te maken met hartfalen.

Structurele en functionele veranderingen in het hart (zgn. cardiale remodelering) liggen ten grondslag liggen aan het ontwikkelen van hartfalen (4)(5). De belangrijkste remodeleringsprocessen zijn groei (hypertrofie) van hartspiercellen (cardiomyocyten) en verandering in de extracellulaire matrix zoals afzetting van bindweefsel (fibrose). Deze veranderingen zijn een aanpassing aan de veranderde condities en hebben initieel een compensatoir karakter, maar kunnen uiteindelijk leiden tot decompensatie met hartfalen als gevolg. Waarom de ene persoon wel hartfalen ontwikkelt en de ander niet, ondanks dezelfde risicofactoren, is niet duidelijk. Genetische factoren spelen hierbij klaarblijkelijk een belangrijke rol (3).

Zelfs bij bekende mono-genetische cardiomyopathieën zoals hypertrofische cardiomyopathie (HCM), dilated cardiomyopathie (DCM) en aritmogene rechter ventrikel cardiomyopathie (ARVC), is het vaak nog onduidelijk hoe het specifieke polymorfisme tot het ziektebeeld leidt. Vaak zijn er ook grote verschillen in de penetratie van het fenotype, waarbij sommige patiënten ernstig hartfalen ontwikkelen op jonge leeftijd, terwijl andere patiënten met hetzelfde polymorfisme slechts milde effecten krijgen. Daarnaast kan hetzelfde polymorfisme soms zelfs verschillende fenotypes laten zien, zoals bij sommige phospholamban (PLN) polymorphismen, waarbij ARVC of DCM kan optreden (7). Ook hier spelen additionele genetische predisposities een belangrijke rol.

Ondanks de verschillen in etiologie (myocard infarct, hoge bloeddruk, etc.) en de verschillende genetische predisposities worden alle hartfalen patiënten op dezelfde wijze behandeld. Hierbij bestaat de behandeling in bijna alle gevallen uit het voorschrijven van o.a. bètablokkers, Ace remmers of AngII-receptor remmers. Alhoewel deze therapie in veel gevallen de progressie van hartfalen kan afremmen is het niet in staat om het ziekteproces te stoppen. Daarnaast is het soms nog volstrekt onduidelijk of deze therapie voor sommige patiënten groepen (zoals bepaalde cardiomyopathieën) wel effectief is. Het is daarom van essentieel belang om de onderliggende genetische factoren die daarbij een rol spelen te onderzoeken en de moleculaire processen die door deze genetische

factoren worden beïnvloed op te helderen. Alleen dan kunnen we tot betere therapieën komen die patiënt specifiek zijn en die het ziekte proces hopelijk kunnen stoppen.

Ons onderzoek richt zich dan ook op het onderzoeken van de bijdrage van specifieke genen aan cardiale remodelerings processen, zoals hypertrophy en hart fibrotisering. Vanuit klinische studies [redacted] genome wide associatie studies (GWAS) [redacted] samenwerkingsverbanden en bioinformatica zijn en worden door ons genen geïdentificeerd die associaties laten zien met cardiovasculaire ziektes. Om deze associaties te bevestigen en de functie van het gen (coderen en niet-coderend) in cardiale remodelerings processen te begrijpen zal het noodzakelijk zijn om dier studies uit te voeren. Hierin kunnen namelijk de gen specifieke effecten op o.a. hypertrofie en fibrose worden onderzocht. Hierbij zal op zowel moleculair, cellulair en orgaan niveau de rol van het specifiek gen of polymorfisme onderzocht worden. Naast cellulaire studies zijn dier studies daarom van groot belang voor dit cardiologisch onderzoek. Alleen in een dier kunnen structurele orgaan veranderingen bestudeerd worden en kan de verandering in hartfunctie bepaald worden. Daarnaast zijn nierfunctie, hemodynamische parameters, neurohormonale invloeden en ontstekingsprocessen belangrijke factoren die tot cardiale remodelering aanzetten, en die niet goed buiten het lichaam nagebootst kunnen worden. Onze studies zullen resulteren in een beter fundamenteel begrip van de gen specifieke pathofysiologische mechanismen en kunnen leiden tot nieuwe, tot nu toe onbekende aangrijpingspunten voor farmacologische middelen. Gezien de aard van de ziekte en het grote aantal mensen die deze ziekte krijgt achten wij het verantwoord om deze ziekte in dieren te onderzoeken.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Ons doel is om genetische factoren die mogelijk van invloed zijn op het ontwikkelen van hartfalen te bestuderen en de moleculaire mechanismen die daar bij betrokken zijn op te helderen.

Daarnaast willen we onderzoeken of medicamenteuze behandelingsstrategieën effect hebben op cardiale remodelering in specifieke genetische modellen.

[redacted]  
[redacted]  
[redacted]  
[redacted]  
[redacted]  
[redacted] D.m.v. betere genetische methodes en bio informatica worden tevens steeds meer genen (coderend en niet coderend) en gen-polymorphismen ontdekt die kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van hartfalen en dit zal nieuwe targets voor onze studies opleveren.

Haalbaarheid:

Voor het ophelderen van specifieke moleculaire processen gebruiken we primaire cel cultures van cardiomyocyten of cardiale fibroblasten. Hierin kunnen we relatief eenvoudig genen silencen of tot overexpressie brengen en een groot aantal fenotypische en moleculaire processen ophelderen. Deze assays kunnen tevens gebruikt worden als een voorscreening voor het kiezen van toekomstige targets en daardoor een betere afweging kunnen maken van het te gebruiken proefdier. We hebben uitgebreide expertise in deze celmodellen.



Alhoewel we expertise hebben in het maken van genetische constructen, hebben we niet de expertise om zelf genetisch gemodificeerde proefdieren te maken. [REDACTED]

We hebben uitgebreide expertise in het onderzoeken van cardiovasculaire veranderingen in kleine proefdieren. [REDACTED]

Door dit onderzoek verwachten een bijdrage te kunnen leveren aan de opheldering van bepaalde vormen van cardiomyopathieën die lijden tot hartfalen en nieuwe genen te identificeren die kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van hartfalen. Dit kan leiden tot nieuwe inzichten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan hartfalen ontwikkeling. We hopen hiermee ook een bijdragen aan betere diagnostische of behandelings methoden te kunnen leveren.

### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Cardiovasculaire ziekten komen nog steeds veel voor en zijn een belangrijke doodsoorzaak in de Westerse wereld. Dankzij wetenschappelijk onderzoek zijn belangrijke stappen gemaakt in de diagnose en behandeling van cardiovasculaire ziekten. Patiënten met hartfalen hebben echter nog steeds een zeer slechte prognose. Ca. 50% van alle patiënten overlijdt binnen 5 jaar na de eerste diagnose. Door de toenemende vergrijzing en een toename van de risicofactoren zoals obesitas en diabetes is de verwachting dat het aantal hartfalen patiënten eerder toeneemt dan afneemt. D.m.v. betere genetische methodes en bio informatica worden steeds meer genen (coderend en niet coderend) en gen-polymorphismen ontdekt die kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van hartfalen. Deze genetische (pre)disposities spelen een belangrijke rol waarom sommige mensen wel hartfalen ontwikkelen, maar anderen niet. Hieronder vallen ook patiënten met genetische cardiomyopathieën die leiden tot hartfalen. Onderzoek naar genen en polymorphismen die mogelijk bijdragen aan de ontwikkeling van hartfalen kan daarom leiden tot betere inzichten in de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan hartfalen ontwikkeling. Dit kan leiden tot vroegtijdige detectie en de ontwikkeling van betere behandelingsmethoden voor patiënten met genetische predisposities voor hartfalen.

Het wetenschappelijke en maatschappelijke belang van het onderzoek is ook gedetailleerd getoetst door (veelal internationale) reviewers van aanvragen voor subsidie. Op dit moment zijn dat o.a. de volgende toegewezen subsidies:

1. VIDI [REDACTED]



[Redacted text block]

[Redacted text block]

[Redacted text block]

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

[Redacted text block]

[Redacted text block]

Referenties

1. Authors/Task Force Members, McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Bohm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Kober L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Ronnevik PK, Rutten FH, Schwitler J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, Document Reviewers, McDonagh T, Sechtem U, Bonnet LA, Avraamides P, Ben Lamin HA, Brignole M, Coca A, Cowburn P, Dargie H, Elliott P, Flachskampf FA, Guida GF, Hardman S, Iung B, Merkely B, Mueller C, Nanas JN, Nielsen OW, Orn S, Parissis JT, Ponikowski P. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. Eur Heart J 2012;
2. Zannad F, Briancon S, Juilliere Y, Mertes PM, Villemot JP, Alla F, Virion JM. Incidence, clinical and etiologic features, and outcomes of advanced chronic heart failure: the EPICAL Study. Epidemiologie de l'Insuffisance Cardiaque Avancee en Lorraine. J Am Coll Cardiol 1999;33:734-742.
3. MacRae CA. The genetics of congestive heart failure. Heart Fail Clin 2010;6:223-230.
4. Hill JA, Olson EN. Cardiac plasticity. N Engl J Med 2008;358:1370-1380.
5. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. J Am Coll Cardiol 2000;35:569-582.
6. [Redacted]

[REDACTED]

12. Arking DE, Pulit SL, Crotti L, van der Harst P, Munroe PB, Koopmann TT, Sotoodehnia N, Rossin EJ, Morley M, Wang X, Johnson AD, Lundby A, Gudbjartsson DF, Noseworthy PA, Eijgelsheim M, Bradford Y, Tarasov KV, Dorr M, Muller-Nurasyid M, Lahtinen AM, Nolte IM, Smith AV, Bis JC, Isaacs A, Newhouse SJ, Evans DS, Post WS, Waggott D, Lyytikainen LP, Hicks AA, Eisele L, Ellinghaus D, Hayward C, Navarro P, Ulivi S, Tanaka T, Tester DJ, Chatel S, Gustafsson S, Kumari M, Morris RW, Naluai AT, Padmanabhan S, Kluttig A, Strohmer B, Panayiotou AG, Torres M, Knoflach M, Hubacek JA, Slowikowski K, Raychaudhuri S, Kumar RD, Harris TB, Launer LJ, Shuldiner AR, Alonso A, Bader JS, Ehret G, Huang H, Kao WH, Strait JB, Macfarlane PW, Brown M, Caulfield MJ, Samani NJ, Kronenberg F, Willeit J, CArE Consortium, COGENT Consortium, Smith JG, Greiser KH, Meyer Zu Schwabedissen H, Werdan K, Carella M, Zelante L, Heckbert SR, Psaty BM, Rotter JJ, Kolcic I, Polasek O, Wright AF, Griffin M, Daly MJ, DCCT/EDIC, Arnar DO, Holm H, Thorsteinsdottir U, eMERGE Consortium, Denny JC, Roden DM, Zuvich RL, Emilsson V, Plump AS, Larson MG, O'Donnell CJ, Yin X, Bobbo M, D'Adamo AP, Iorio A, Sinagra G, Carracedo A, Cummings SR, Nalls MA, Jula A, Kontula KK, Marjamaa A, Oikarinen L, Perola M, Porthan K, Erbel R, Hoffmann P, Jockel KH, Kalsch H, Nothen MM, HRGEN Consortium, den Hoed M, Loos RJ, Thelle DS, Gieger C, Meitinger T, Perz S, Peters A, Prucha H, Sinner MF, Waldenberger M, de Boer RA, Franke L, van der Vleuten PA, Beckmann BM, Martens E, Bardai A, Hofman N, Wilde AA, Behr ER, Dalageorgou C, Giudicessi JR, Medeiros-Domingo A, Barc J, Kyndt F, Probst V, Ghidoni A, Insofia R, Hamilton RM, Scherer SW, Brandimarto J, Margulies K, Moravec CE, del Greco MF, Fuchsberger C, O'Connell JR, Lee WK, Watt GC, Campbell H, Wild SH, El Mokhtari NE, Frey N, Asselbergs FW, Mateo Leach I, Navis G, van den Berg MP, van Veldhuisen DJ, Kellis M, Krijthe BP, Franco OH, Hofman A, Kors JA, Uitterlinden AG, Witteman JC, Kedenko L, Lamina C, Oostra BA, Abecasis GR, Lakatta EG, Mulas A, Orru M, Schlessinger D, Uda M, Markus MR, Volker U, Snieder H, Spector TD, Arnlöv J, Lind L, Sundstrom J, Syvanen AC, Kivimaki M, Kahonen M, Mononen N, Raitakari OT, Viikari JS, Adamkova V, Kiechl S, Brion M, Nicolaidis AN, Paulweber B, Haerting J, Dominiczak AF, Nyberg F, Whincup PH, Hingorani AD, Schott JJ, Bezzina CR, Ingelsson E, Ferrucci L, Gasparini P, Wilson JF, Rudan I, Franke A, Muhleisen TW, Pramstaller PP, Lehtimäki TJ, Paterson AD, Parsa A, Liu Y, van Duijn CM, Siscovick DS, Gudnason V, Jamshidi Y, Salomaa V, Felix SB, Sanna S, Ritchie MD, Stricker BH, Stefansson K, Boyer LA, Cappola TP, Olsen JV, Lage K, Schwartz PJ, Kaab S, Chakravarti A, Ackerman MJ, Pfeufer A, de Bakker PI, Newton-Cheh C. Genetic association study of QT interval highlights role for calcium signaling pathways in myocardial repolarization. *Nat Genet* 2014;46:826-836.

13. Sotoodehnia N, Isaacs A, de Bakker PI, Dorr M, Newton-Cheh C, Nolte IM, van der Harst P, Muller M, Eijgelsheim M, Alonso A, Hicks AA, Padmanabhan S, Hayward C, Smith AV, Polasek O, Giovannone S, Fu J, Magnani JW, Marcianti KD, Pfeufer A, Gharib SA, Teumer A, Li M, Bis JC, Rivadeneira F, Aspelund T, Kottgen A, Johnson T, Rice K, Sie MP, Wang YA, Klopp N, Fuchsberger C, Wild SH, Mateo Leach I, Estrada K, Volker U, Wright AF, Asselbergs FW, Qu J, Chakravarti A, Sinner MF, Kors JA, Petersmann A, Harris TB, Soliman EZ, Munroe PB, Psaty BM, Oostra BA, Cupples LA, Perz S, de Boer RA, Uitterlinden AG, Volzke H, Spector TD, Liu FY, Boerwinkle E, Dominiczak AF, Rotter JJ, van Herpen G, Levy D, Wichmann HE, van Gilst WH, Witteman JC, Kroemer HK, Kao



3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

| Volgnummer | Type dierproef                       |
|------------|--------------------------------------|
| 1          | Isolatie van primair cellen          |
| 2          | Genetisch dier gemodificeerde dieren |
| 3          | Aorta constrictie                    |
| 5          | Ischemie/reperfusie                  |
| 6          | (Neuro)hormonale stimulatie          |
| 7          |                                      |
| 8          |                                      |
| 9          |                                      |
| 10         |                                      |



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer                            | Type dierproef  |
|---------------------------------------|---|
| <input type="text" value="3.4.4.1."/> | <input type="text" value="Isolatie van primaire cellen"/> |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Geïsoleerde primaire cellen uit het hart zijn een uitstekend model om verschillende moleculaire en cellulaire aspecten van hartziekten te onderzoeken. Terwijl er in de oncologie zeer veel cellijnen voor mechanistisch onderzoek beschikbaar zijn, is dit voor het hart helaas niet het geval. Daarnaast zijn cellijnen door hun proliferatieve karakter niet geschikt voor hypertrofie onderzoek.



\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Neonatale muizen en ratten (1-5 dagen) worden getermineerd via decapitatie, waarna het hart verwijderd wordt. Volwassen ratten en muizen worden getermineerd onder anesthesie waarbij het hart verwijderd wordt en de dieren verbloeden.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Het aantal benodigde dieren is afhankelijk van het aantal cellen dat nodig is voor bepaalde analyses. Dit hebben we in het verleden bepaald en hierop kunnen we het gebruik dus afstemmen.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Muis en rat. Van commerciële leverancier of eigen fok.

Neonatale pups (800 dieren/jaar) en volwassen (80 dieren/jaar) dieren.

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Ja, de moederdieren kunnen worden gebruikt voor de isolatie van adulte fibroblasten of cardiomyocyten.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

---

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: In de opstartfase van onderzoek gebruiken we cellijnen om experimenten en methodes op te zetten. We hebben een aantal (hart)speer cellijnen gebruikt [REDACTED] maar deze cellen missen de typische hartspiercel karakteristieken en deze cellen prolifereren in tegenstelling tot hartspiercellen. Deze cellen zijn daarom niet geschikt om hypertrofie of de mechanismen van hypertrofie in te onderzoeken.

Vermindering: We zijn reeds begonnen met het gebruik van cardiomyocyten die uit humane stamcellen worden gedifferentieerd. Dit is echter nog niet ver genoeg doorontwikkeld en deze cellen hebben nog een immatuur karakter. We verwachten wel dat dit het gebruik van rat en muis cardiomyocyten verder zal gaan verminderen.

Verfijning: Adulte dieren worden onder volledige anesthesie getermineerd. Bij pups worden de gedepiteerde hoofden direct in vloeibare stikstof gedaan om residuele hersenactiviteit direct te stoppen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Neonatale ratten (1-5 dagen) worden getermineerd via decapitatie. De hoofden worden in de vloeibare stikstof gedaan om overblijvende hersenactiviteit te elimineren. Volwassen ratten en muizen worden getermineerd onder anesthesie.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

We onderzoeken specifieke genen en mutaties, waarvan nog niet bekend is hoe deze bijdragen aan hartfalen. Dit is nagegaan d.m.v. literatuurstudies.

### **Huisvesting en verzorging**

#### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

I.v.m. mogelijke agressie worden moeder dieren single-caged gehuisvest. Hierdoor wordt voorkomen dat pups van de andere moederdieren worden opgegeten.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### Ongeriefinschatting/humane eindpunten

#### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Alleen bij terminatie van adulte dieren wordt narcose gebruikt

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

In zeldzame gevallen zien we baringsnood bij de moeder dieren.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Ca. 1-5%

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Terminaal

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Hart wordt gebruikt voor cel isolatie

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 10500
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Rijksuniversiteit Groningen
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef                  |
|------------|---------------------------------|
| 3.4.4.2    | Genetisch gemodificeerde dieren |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Onderzoeken wat het effect is van een genetische modificatie (transgeen, knock-out, knock-in) van een bepaald gen op het basale fenotype.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Voor basale fenotypering worden de genetisch gemodificeerde dieren en controle dieren gevolgd in de tijd, met tussendoor monitoring d.m.v. visuele inspectie en wegen. In het geval gebruik wordt gemaakt van inducible transgene dieren wordt het transgeen eerst geïnduceerd. Meestal gebeurt dit door middel van injectie van tamoxifen of doxycycline. Voor lijnen die nog niet "established" zijn volgens de richtlijnen van Directive 2010/63/EU, zal de genetische transmissie eerst over twee generaties bepaald worden en een initieel welzijnsrapport worden opgesteld. De fok van deze dieren zal onder dit dierexperiment vallen, totdat duidelijk is dat er geen noemenswaardig ongerief voor de dieren aanwezig is.

[Redacted text block]

[Redacted text block]

[Redacted text block]

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Power calculaties zullen worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

**B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Genetische gemodificeerde muizen en ratten. Als controles worden, daar waar mogelijk, wildtype nakomelingen gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen een levensstadium: [redacted]

[redacted]

[redacted] Is gemiddeld ca. 380 dieren/ jaar. Is gemiddeld ca. 300 dieren/ jaar. Voor 5 jaar is dit 1500 dieren.

[redacted]

[redacted]

[redacted]

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

### D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.



Vervanging: Genetische modellen worden over het algemeen eerst in cellulaire modellen onderzocht om een indruk te krijgen over het moleculaire mechanisme, hierdoor kunnen we betere keuzes maken in de te kiezen modellen/meetmethoden en primaire uitkomsten.

Vermindering: Door niet invasieve metingen kunnen we beter de voortgang van het fenotype monitoren en hoeven er dus op minder tijdstippen dieren geofferd worden.

Verfijning: Door niet invasieve monitoring kan het ontwikkelende fenotype waarschijnlijk tijdig worden geïdentificeerd en kunnen dieren tijdig worden getermineerd. Klinische medicatie voor het cardiale fenotype kan eventueel gebruikt worden. Adequaat gebruik van anesthesie zal ongerief bij metingen verminderen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Goede monitoring bij de basale fenotypering zal helpen voorkomen dat het vooraf vastgestelde ongerief niveau wordt overschreden.

### Herhaling en duplicering

#### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn specifieke modellen die niet eerder dan wel niet in deze vorm zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand literatuurstudies en andere experts in het veld.

### Huisvesting en verzorging

#### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

We kunnen niet uitsluiten dat een genetische modificatie ontwikkelingsdefecten of andere afwijkingen zal geven. Daarnaast is er een te verwachten kans dat de genetische modificatie resulteert in hart remodelering in de tijd en eventueel hart falen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De genetische modificatie

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Goede monitoring zorgt ervoor dat het vooraf bepaalde ongerief niveau niet zal worden overschreden.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstige ontwikkelings defecten of hartfalen ontwikkeling. Dieren met ernstig afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernst, hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Van de ca. 10 cardiale diermodellen/lijnen die we tot nu toe ontwikkelt hebben heeft slechts één lijn ernstig hartfalen ontwikkeld. Alle andere lijnen lieten geen noemenswaardig ongerief zien, of alleen na inductie van cardiale stress. De kans is dus relatief klein (ca. 10 %)

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

matig

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

TAC: Aan adequaat geanestheerde en geintubeerde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep de thorax geopend en wordt er een constrictie gemaakt met hecht draad van de transverse aorta, tussen de carotiden. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

AC: Aan adequaat geanestheerde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep het abdomen geopend en wordt er een constrictie gemaakt van de abdominale aorta (suprarenal). Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling.

Uitvalspercentage bij deze operaties door technisch falen is hooguit 10%

[Redacted content]

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Voor de meeste primaire uitkomstmaten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effect grootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt.

**B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Ratten en muizen, zowel wildtype en genetische gemodificeerde dieren. Als controles worden, daar waar mogelijk, wildtype nakomelingen gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. [REDACTED]

[REDACTED] Is gemiddeld ca. 280 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1400 dieren.

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

### D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: In cellen wordt voorwerk verricht voor een dierproef wordt gedaan.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt dmv powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn specifieke modellen die niet eerder dan wel niet in deze vorm zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De drukbelasting op de linker ventricel en activatie van het RAS systeem. De genetische modificatie zou dit eventueel kunnen verergeren of verminderen

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen.

#### **J. Humane eindpunten**

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij hartfalen. Dieren met ernstig afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernstige wondproblemen (indien van toepassing), hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit is erg afhankelijk van het genetisch model en de achtergrond, maar schatten dat ca. 5-10% van de dieren hartfalen kan ontwikkelen.

#### **K. Classificatie van ongerief**

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

matig

### **Einde experiment**

#### **L. Wijze van doden**

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja





## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer                           | Type dierproef                                   |
|--------------------------------------|--|
| <input type="text" value="3.4.4.4"/> | <input type="text" value="Ischemie/reperfusie"/> |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Een van de oorzaken van hartfalen is cardiale remodeling als gevolg van een hartinfarct. De ischemische periode kan hierbij permanent zijn of tijdelijk zoals het geval is bij dotteren, waarbij het vat van de patient weer wordt opengemaakt. Ischemie is dus een belangrijke reden van hartfalen ontwikkeling en het is belangrijk om de genetische factoren die hierbij betrokken zijn in deze setting te onderzoeken. [REDACTED]

[REDACTED]

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Tijdens een chirurgische ingreep wordt een de linker kransslagader geligeerd met een hechting. Dit geeft een verandering van kleur van het infarctgebied (het gebied 'at risk'). Deze hechting blijft permanent aanwezig of wordt na een vooraf vastgestelde tijd (meestal tussen de 30-60 minuten) weer verwijderd. Technisch falen hierbij ligt tussen de 10-30%. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond en de ontwikkeling van een verminderde hartfunctie geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling. [REDACTED]

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Voor de meeste primaire uitkomstmaten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effectgrootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt.

#### **B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Ratten en muizen, zowel wildtype en genetische gemodificeerde dieren. Als controles worden, daar waar mogelijk, wildtype nakomelingen gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstadia: Volwassen dieren. [REDACTED]

Is gemiddeld ca. 280 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1400 dieren.

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

### D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: In cellen wordt voorwerk verricht voordat een dierproef wordt opgezet.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt dmv powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn specifieke modellen die niet eerder dan wel niet in deze vorm zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer

de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### **Ongeriefinschatting/humane eindpunten**

#### **H. Pijn en pijnbestrijding**

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

#### **I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen**

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het infarct en mogelijk. De genetische modificatie zou dit eventueel kunnen verergeren of verminderen

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen

#### **J. Humane eindpunten**

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstig hartfalen. Dieren met ernstig afwijkend gedrag (gewichtsverlies > 15%, opstaande vacht, lethargie, ernstige wondproblemen (indien van toepassing), hijgen, locomotie) worden geëuthanaseerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit is erg afhankelijk van het genetisch model, de achtergrond en de tijdsduur, maar schatten dat ca. 5-20% van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen bij permanente ligatie, bij temporele ligatie is dit veel lager ca. 5%.

#### **K. Classificatie van ongerief**

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

ernstig

### **Einde experiment**

#### **L. Wijze van doden**

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

| 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.           | 10500  |            |                |         |                        |
|--|--|------------|----------------|---------|------------------------|
| 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. | Rijksuniversiteit Groningen  |            |                |         |                        |
| 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.     | <table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>3.4.4.5</td><td>(Neuro)hormonaal model</td></tr></tbody></table> | Volgnummer | Type dierproef | 3.4.4.5 | (Neuro)hormonaal model |
| Volgnummer   | Type dierproef   |            |                |         |                        |
| 3.4.4.5  | (Neuro)hormonaal model   |            |                |         |                        |

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

## 2 Beschrijving dierproeven

### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

(Neuro)hormonale activatie speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van hartfalen. Hartfalen patiënten worden dan ook bijna altijd behandeld met (neuro)hormonale remmers, zoals beta-blokkers. (Neuro)hormonale stimulatie kan ook in dieren worden nagebootst d.m.v. implantatie van osmotische minipompjes met (neuro)hormonale stoffen (bijv. isoproterenol of angiotensin). De relatie van bepaalde genetische factoren met (neuro)hormonale inductie van hartfalen kan dus in dit soort modellen onderzocht worden.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Aan adequaat geanestheeserde dieren wordt tijdens een chirurgische ingreep een osmotische minipomp (o.a. Alzet) in een subcutane pocket in de flank van het dier geïmplant. Deze pomp kan (neuro)hormonale stoffen bevatten, zoals angiotensine II, isoproterenol en/of phenylephrine, die langzaam zullen vrij komen. Dit zijn algemene technieken in het veld waar wij al jaren ervaring mee hebben. Het bijkomen uit narcose en de pijn aan de wond geeft matig ongerief, het ongerief wordt beperkt door gebruik van pijnstilling. Voorkortdurende experimenten (ca. een week) kunnen ook dagelijkse IP injecties worden gegeven.

[Redacted text block]

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Voor de meeste primaire uitkomstmaten hebben we een standaard deviatie en kunnen we een te verwachten effect grootte voorspellen. Door middel van powercalculaties kunnen daarmee het aantal dieren beperkt.

**B. De dieren**

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levenstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoorten: Ratten en muizen, zowel wildtype en genetische gemodificeerde dieren. Als controles worden, daar waar mogelijk, wildtype nakomelingen gebruikt.

Herkomst: Aankoop van commerciële leveranciers of andere instellingen, via samenwerkingsverbanden, dan wel eigen fok.

Aantallen en levensstatia: Volwassen dieren. Per jaar verwachten we bij drie genetische modellen een neurohormonaal experiment uit te voeren en eventueel ca. 40 extra dieren voor testen medicinale behandeling. Is gemiddeld ca. 280 dieren/ jaar. Voor 5 jaar gaat het dan om 1400 dieren.

#### **C. Hergebruik**

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

#### **D. Vervanging, vermindering en verfijning**

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: In cellen wordt voorwerk verricht voor een dierproef wordt gedaan.

Vermindering: Zo min mogelijk dieren worden gebruikt dmv powercalculatie en door het meenemen van ervaringen uit eerdere experimenten.

Verfijning: pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie en dieren worden goed gevolgd gedurende het experiment. Extra zorg wordt besteed gedurende de eerste dagen na operatie. Waar nodig krijgen de dieren suikerwater en vloeibaar voer en worden ze in een warme omgeving (26C) geplaatst.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Pijnstilling wordt gegeven tijdens en na de operatie.

### **Herhaling en duplicering**

#### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit zijn specifieke genetische modellen die niet eerder dan wel niet in deze vorm zijn onderzocht. Dit weten we aan de hand Literatuurstudies en experts uit het veld.

### **Huisvesting en verzorging**



#### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### Ongeriefinschatting/humane eindpunten

#### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

#### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief wordt veroorzaakt door wondpijn, het bijkomen uit de narcose en de mogelijke ontwikkeling van hartfalen. In de tijd ontwikkelen deze dieren hypertrofie en hartfalen, er wordt op gelet dat het vooraf vastgestelde ongerief niet wordt overschreden dmv adequate monitoring van de dieren

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Neurohormonale activatie. De genetische modificatie zou dit eventueel kunnen verergeren of verminderen

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Pijnstilling wordt gegeven om de wondpijn te verminderen

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij ernstige hartfalen.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Dit is erg afhankelijk van het genetisch model, maar schatten dat ca. 5-10 % van de dieren ernstig hartfalen kan ontwikkelen

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

matig

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Voor onderzoek van organen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

A Deusinglaan 1  
HPC FA 29  
9713 AV Groningen  
Nederland

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10500201583

**Uw referentie**

**Bijlagen**

1

Datum 21 April 2015  
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer,

Op 27 maart 2015 hebben wij de wijziging op uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project: "Genen en polymorphismen in cardiale remodellering en hartfalen ontwikkeling" met aanvraagnummer AVD10500201583. In uw aanvraag zitten voor mij nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

**Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

In de beschrijving dierproeven: bijlage 3.4.4.2 t/m 3.4.4.5 zijn er een aantal onduidelijkheden en inconsequenties voor wat betreft de aantallen dieren, zowel het aantal dieren per groep als het aantal lijnen dat u verwacht te karakteriseren als het aantal dieren dat u nodig denkt te hebben op jaarbasis. Het is daarnaast niet duidelijk wat de onderlinge relatie tussen de verschillende dierproeven is en wat de beslismomenten/ mijlpalen zijn. Hieronder zijn de vragen in meer detail toelicht:

Kunt u de bijlage beschrijving dierproeven 3.4.4.2 (blz 3 van 6) nader toelichten? Uw beschrijving van het aantal lijnen per jaar en het aantal dieren per groep is niet eenduidig.

Kunt u nader toelichten hoe u tot het aantal dieren van 100 per lijn komt voor de fok en initiële welzijnsevaluatie, met inachtneming van de richtlijnen in Directive2010/63/EU corrigendum 24 Januari 2013?

U beschrijft dat u over een periode van 5 jaar 15 genetische modificaties x 2 lijnen per modificatie karakteriseert, kunt u nader toelichten hoeveel van deze 30 lijnen u voor uw project verwacht te gaan inzetten en welke criteria u hiervoor gebruikt? U beschrijft het vervolgen van een fenotype over de tijd (maximaal 2 jaar), kunt u beschrijven hoe deze basale fenotypering zich verhoudt tot het inzetten van de dierproeven die u in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 beschrijft? Gaat u pas nadat de basale fenotypering is afgerond over tot het inzetten van de andere dierproeven? En

welke criteria gebruikt u als u voor het afronden van de fenotypering deze lijnen inzet in de beschreven dierproeven.

In bijlage 3.4.4.3 t/m 5 beschrijft u drie verschillende dierproeven. Hoe is de relatie tussen deze verschillende dierproeven en wat zijn de criteria op basis waarvan u beslist welke dierproef u voor welk fenotype inzet?

In bijlage 3.4.4.5 beschrijft u het gebruik van osmotische pompjes. Voor deze pompjes, afhankelijk van het gebruikte type, geldt een gebruiksperiode. Verwacht u dat u mogelijk een dier voor een tweede keer moet opereren om het pompje te verwijderen? En verwacht u extra ongerief als gevolg hiervan?

**Datum**

21 April 2015

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD10500201583

Wij vragen u deze vragen nader toe te lichten.

**Opsturen binnen veertien dagen**

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Gebruik hierbij het formulier dat u bij deze brief krijgt.

**Wanneer een beslissing**

Zodra wij de aanvullende informatie hebben ontvangen nemen wij uw aanvraag verder in behandeling. Zodra de leges zijn ontvangen, krijgt u binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



## Melding

### Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl)
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- |                |  |            |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager |  |            |
| Postcode       |  | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?  
*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*
- |                |  |
|----------------|--|
| Aanvraagnummer |  |
|----------------|--|

### 2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?  
*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- |                          |  |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |

### 3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- |              |   |      |
|--------------|---|------|
| Naam         |   |      |
| Datum        | - | - 20 |
| Handtekening |   |      |
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Universitair Medisch Centrum Groningen

06 MEI 2015

Hoofd [REDACTED]

Hoofd [REDACTED]

Aan  
Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

UMCG, [REDACTED]  
Antonius Deusinglaan 1  
9713 AV Groningen

Telefoon [REDACTED]

Datum 1 mei 2015

Onderwerp Antwoorden op aanvullende vragen project vergunning dierproeven met  
aanvraagnummer AVD10500201583

Geachte Centrale Commissie Dierproeven,

Hartelijk dank voor het aandachtig bestuderen van onze proefdieraanvraag met referentie nummer AVD10500201583. Naar aanleiding van deze aanvraag had U nog een aantal vragen, waarvoor nadere uitleg nodig was. Deze vragen heb ik in bijlage 1 zo zorgvuldig mogelijk proberen te beantwoorden. Hiervoor heb ik ook nog een aantal figuren bijgevoegd voor verdere illustratie (bijlage 2 en 3). Ik ga ervan uit dat deze antwoorden toereikend zijn en hoop dat de aanvraag nu positief beoordeeld kan worden.

Betreffende uw tweede vraag, over Directive2010/63/EU corrigendum 24 Januari 2013, zou ik graag nog een extra opmerking willen plaatsen. Naar mijn mening zou het goed zijn als de CCD een bepaald dieraantal hanteert aan de hand van de genoemde richtlijn. Dit zou het opstellen van aanvragen op dit punt aanzienlijk eenvoudiger maken en het hanteren van complexe reken schema's overbodig maken. Dit zal ook tot landelijke consensus leiden. Bij afwijking van het genoemde aantal zouden aanvragers kunnen aangeven waarom ze denken van dat aantal te moeten afwijken.

Met vriendelijke groet, [REDACTED]

Bijlagen: 3



umcg

## Bijlage 1

**Betreft:** Antwoorden op vragen van de CCD betreffende aanvraag projectvergunning dierproeven met referentie nummer AVD10500201583.

### Antwoorden:

**Vraag 1:** Kunt u de bijlage beschrijving dierproeven 3.4.4.2 (blz 3 van 6) nader toelichten? Uw beschrijving van het aantal lijnen per jaar en het aantal dieren per groep is niet eenduidig.

**Antw. 1:** Hierin is tot mijn spijt inderdaad een fout geslopen. Er staat dat er drie lijnen basaal gefenotypeerd worden. Daarna wordt in de berekening het cijfer 4 genoemd maar is er wel voor drie lijnen berekend. De juiste tekst had moeten zijn:

*Per jaar verwachten we drie genetische modellen basaal te fenotyperen. Het zal dan om ca. 3 genetische modellen x 6 groepen x 14 dieren per groep gaan en eventueel ca. 40 extra dieren voor testen medicinale behandeling. Is gemiddeld ca. 300 dieren/jaar (252+40). Voor 5 jaar is dit 1500 dieren.*

**Vraag 2:** Kunt u nader toelichten hoe u tot het aantal dieren van 100 per lijn komt voor de fok en initiële welzijnsevaluatie, met inachtneming van de richtlijnen in Directive2010/63/EU corrigendum 24 Januari 2013?

**Antw. 2:** Dit aantal dieren is een gemiddelde schatting die op de volgende aannames is gebaseerd. Er wordt uitgegaan van gemiddeld 6 nakomelingen per nest (bijv. bij C57BL6 muizen). Daarnaast maken we onderscheid tussen transgene dieren en knock-out/knock-in dieren.

Bij een nieuw transgeen model krijgen we meestal 1-4 founders aangeleverd. Indien het om mannelijke founders gaat worden hier 2 vrouwelijke dieren bij gezet in de fok om de kans op nakomelingen zo groot mogelijk te houden. Ca. 50% van de nakomelingen is transgeen. Bij twee nesten per generatie komen we dan theoretisch op ca. 70-80 dieren per lijn. Zie ook bijlage 1A.

Bij een nieuw knock-out/knock-in model krijgen we meestal 1-2 founders aangeleverd. Hier geldt weer hetzelfde als bij de transgene dieren en ca. 50% van de nakomelingen is heterozygoot. Na twee nesten per generatie komen we dan theoretisch op ca. 70-80 dieren per lijn. Echter, als extra stap zit hier ook nog in de kruising tussen F2 generatie heterozygoten om de homozygote nakomelingen te kunnen karakteriseren. Zie ook bijlage 1B. Daardoor rond de 100-110 dieren in totaal nodig

Gemiddeld dus ca. 100 dieren per lijn.



**Vraag 3:** U beschrijft dat u over een periode van 5 jaar 15 genetische modificaties x 2 lijnen per modificatie karakteriseert, kunt u nader toelichten hoeveel van deze 30 lijnen u voor uw project verwacht te gaan inzetten en welke criteria u hiervoor gebruikt?

**Antw. 3:** Ter verduidelijking, voor de initiële karakterisatie tot established lijn beginnen we meestal met 1-4 lijnen per genetisch model (gemiddeld 2 aangehouden). Afhankelijk van fok en bijvoorbeeld genexpressie (verschillende transgene lijnen laten meestal verschillende expressies zien), zal vervolgens met één lijn per genetisch model de verdere basale fenotypering gedaan worden. Indien nodig, kan een tweede lijn later worden gebruikt ter bevestiging. Indien een tweede lijn ter bevestiging gebruikt moet worden zal dit in mindering gebracht worden op het totaal aantal fenotyperingen. Het gaat dus in principe in eerste instantie om 15 volledige fenotyperingen, zoals beschreven.

In principe zal elk genetisch model gefenotypeerd worden volgens de beschrijving. Echter als al een uitgebreide fenotypering bekend is (literatuur), zal dit niet nodig zijn, en zal er vrijwel direct naar interventies zoals in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 genoemd overgestapt kunnen worden. Daarnaast zullen we bij ernstig fok ongerief kunnen afzien van verdere fenotypering. Hetzelfde geldt als andere fenotypes aan het licht komen die niet hart gerelateerd zijn. In dat geval moet de afweging gemaakt worden of deze andere fenotypes een effect op het hart kunnen hebben en er eventueel een ander model noodzakelijk is om de specifieke effecten op het hart te kunnen bestuderen (bijv. een cardiospecifiek model, Cre geïnduceerd model).

**Vraag 4:** U beschrijft het vervolgen van een fenotype over de tijd (maximaal 2 jaar), kunt u beschrijven hoe deze basale fenotypering zich verhoudt tot het inzetten van de dierproeven die u in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 beschrijft? Gaat u pas nadat de basale fenotypering is afgerond over tot het inzetten van de andere dierproeven? En welke criteria gebruikt u als u voor het afronden van de fenotypering deze lijnen inzet in de beschreven dierproeven.

**Antw. 4:** Een basale fenotypering is noodzakelijk om cardiale, maar ook andere fenotypes, te kunnen identificeren die door de genetische modificatie veroorzaakt kan worden. In ieder geval is ca. 6 maanden opvolgen van belang om vroege afwijkingen die van invloed kunnen zijn op de in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 genoemde dierproeven te kunnen uitsluiten.

De interventies zoals in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 genoemd worden meestal op een leeftijd van 8-12 weken ingezet en 4-8 weken gevolgd. Het is daarom noodzakelijk om deze eerste 20 weken goed gekarakteriseerd te hebben. Indien binnen deze tijd al sterke cardiale of andere afwijkingen ontstaan zullen interventies genoemd in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 vaak niet kunnen of niet meer relevant zijn. De interventies zoals genoemd in bijlage 3.4.4.3 t/m 5 zijn juist van interesse als er geen spontaan cardiaal fenotype ontstaat of slechts een lichte cardiale afwijking ontstaat tijdens dit tijdsbestek. In dat geval kan het effect van additionele factoren (zoals drukbelasting) op het cardiale fenotype in relatie tot deze genetische factor bestudeerd worden.





**Vraag 5:** In bijlage 3.4.4.3 t/m 5 beschrijft u drie verschillende dierproeven. Hoe is de relatie tussen deze verschillende dierproeven en wat zijn de criteria op basis waarvan u beslist welke dierproef u voor welk fenotype inzet?

**Antw. 5:** De dierproeven zoals beschreven in de bijlages 3.4.4.2 en 3.4.4.3 t/m 5 staan nogmaals kort toegelicht in de tabel in bijlage 2. Deze dierproeven bootsen allen een ander onderliggend probleem weer en geven verschillende aanpassingen (remodelering) van het hart. Hierbij spelen ook verschillende signaal transductie routes een rol. Dus afhankelijk van het proces waarin het genproduct een rol speelt zal het ene model relevanter zijn dan het andere. Dit staat ook in de aanvraag op blz. 6 beschreven, maar was misschien niet geheel duidelijk.

Ter verdere verduidelijking zal het te kiezen model o.a. afhankelijk zijn van:

- a. De specieke functie van het desbetreffende gen product. Met andere woorden in welk proces speelt dit gen een rol.
- b. De cellen waarin dit gen tot expressie komt (bijv. cardiomyocyt (hypertrofie) versus fibroblast (fibrose))
- c. De mogelijke associatie van dit gen met een bekend humaan hart probleem.
- d. De mogelijke afwijkingen die in de basale fenotypering worden gevonden.

Als voorbeeld, zal een drukbelasting model met name van interesse zijn bij genen die een rol spelen bij sarcomere functie of biomechanische signalering. Daarentegen zal een infarct of ischemie reperfusie proef (3.4.4.4) met name van belang zijn bij genen die een rol spelen bij apoptose of bescherming tegen reactive oxygen species (ROS). Bovenstaande modellen zijn allen ook klinisch relevant. Indien we naar specifiek (neuro)hormonaal gedreven processen willen bestuderen zal infusie van specieke (neuro)hormonen het beste model zijn.

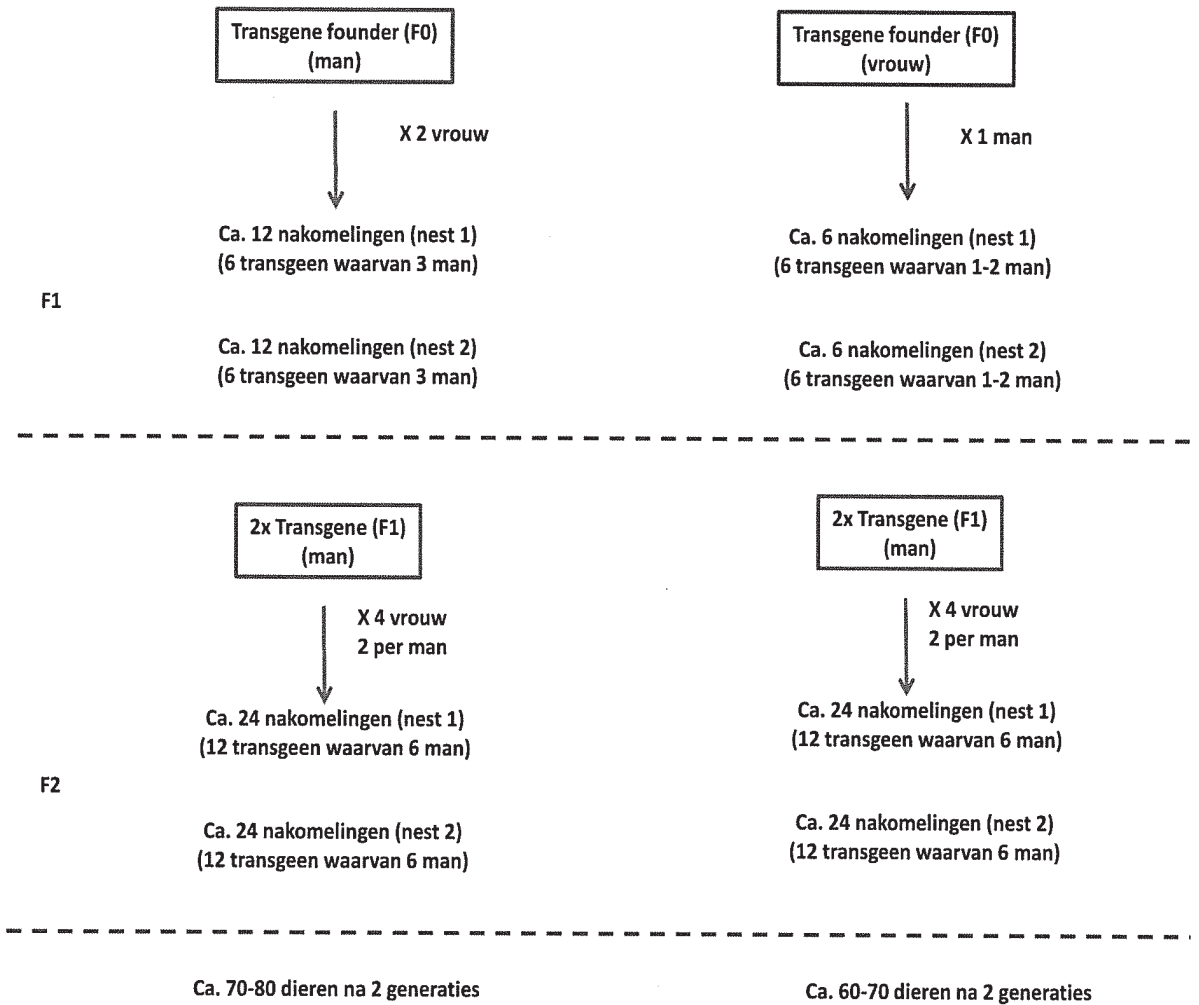
**Vraag 6:** In bijlage 3.4.4.5 beschrijft u het gebruik van osmotische pompjes. Voor deze pompjes, afhankelijk van het gebruikte type, geldt een gebruiksperiode. Verwacht u dat u mogelijk een dier voor een tweede keer moet opereren om het pompje te verwijderen? En verwacht u extra ongerief als gevolg hiervan?

**Antw. 6:** Onze ervaring is dat (neuro)hormonale infusie voor 2-4 weken bij muizen het gewenste effect geeft en bij ratten tot 8 weken. Dit zijn de tijdsduren waarin deze pompjes werkzaam zijn en verwijderen van de pompjes is dus niet noodzakelijk.

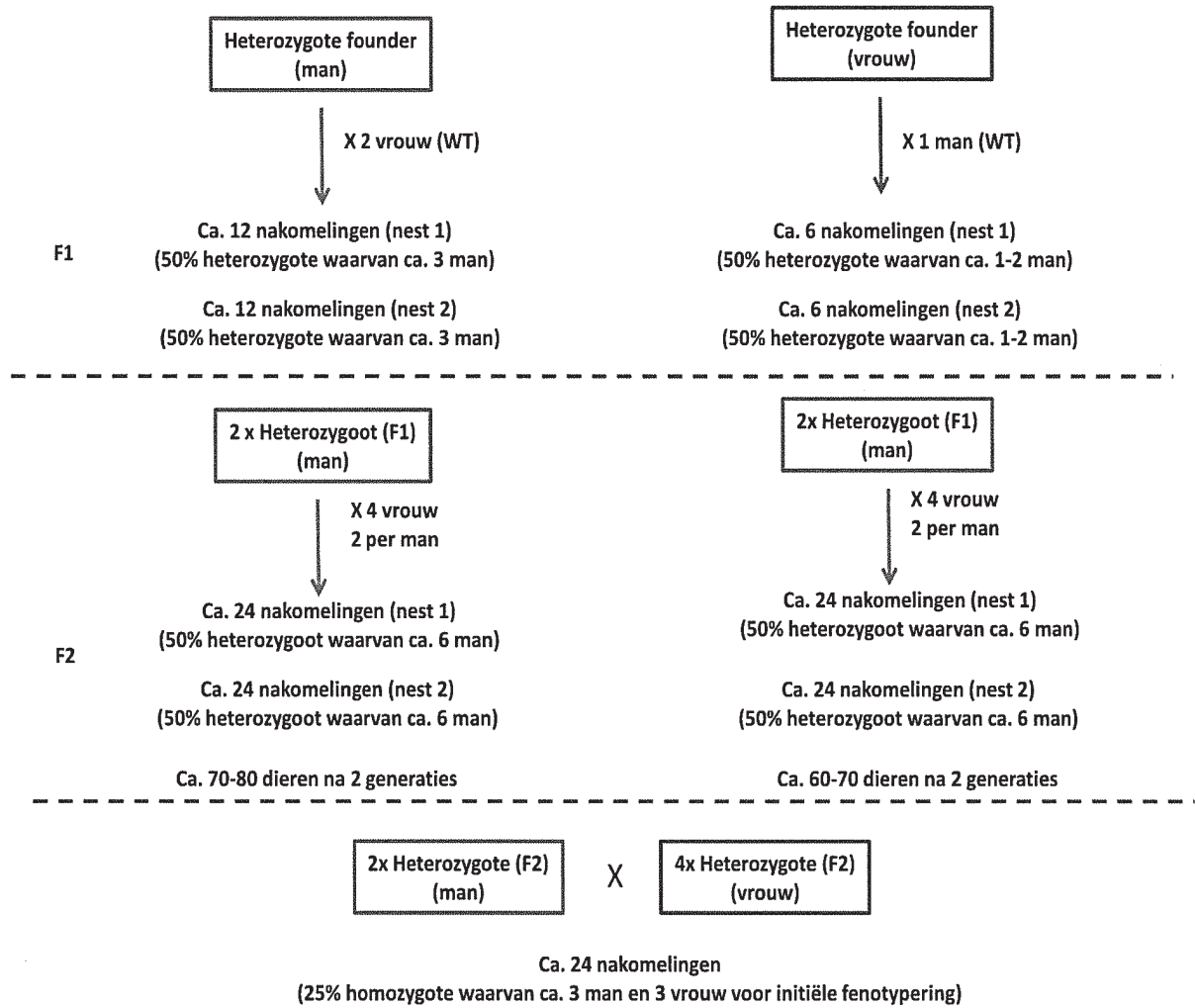


**Bijlage 2. Voorbeeld fok transgene en knock-out/in dieren voor initiële fenotypering**

**A. Fok transgene dieren**



**B. Fok Knock-out/Knock-in dieren**



**Bijlage 3.** Tabel met interventie karakteristieken

| <b>Bijlage</b> | <b>Techniek</b>   | <b>Onderliggend probleem</b>                          | <b>Belangrijke karakteristieken</b>   |
|----------------|---|---|---|
| 3.4.4.2        | Basale fenotypering   | Genetisch effect<br>tesamen met<br>veroudering        | Cardiale remodelering   |
| 3.4.4.3        | Constrictie transverse<br>aorta   | Drukbelasting (links)                                 | Linkerkamer hypertrofie<br>en fibrose, overgang naar<br>HF (ongeveer rond 8<br>weken)       |
| 3.4.4.3        | Constrictie abdominale<br>aorta   | RAAS activatie  | Neurohormonale<br>activatie (RAAS), cardiale<br>remodelering                                |
| 3.4.4.4        | Permanente ligatie<br>kransslagader   | Hartinfarct   | Groot litteken, cardiale<br>remodelering,<br>verminderde hartfunctie<br>en overgang naar HF |
| 3.4.4.4        | Tijdelijke ligatie<br>kransslagader   | Ischemie-reperfusie<br>(zoals bij dotteren)           | Reperfusie schade,<br>litteken vorming,<br>remodelering                                     |
| 3.4.4.5        | Infusie van hormonen<br>dmv minipompjes<br>(Angiotensine II,<br>isoprenaline/fenylefrine) | Direct effect hormonen<br>(RAAS; adrenerg<br>systeem) | Cell dood, hypertrofie,<br>fibrose  |






# advies DEC-RUG

---

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer (interne code RUG **8003**)
2. Titel van het project **De rol van genen en gen variaties in de ontwikkeling van hartfalen**
3. Titel van de NTS **De rol van genen en gen variaties in de ontwikkeling van hartfalen**
4. Type aanvraag:
  - nieuwe aanvraag projectvergunning
  - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
  - naam DEC-RUG
  - telefoonnummer contactpersoon 
  - mailadres contactpersoon 
  - mailadres contactpersoon 
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - ontvangen door DEC 09-03-2015
  - aanvraag compleet 11-03-2015
  - in vergadering besproken 19-03-2015
  - anderszins behandeld 26-03-2015
  - termijnonderbreking(en) van / tot 20 / 26 maart
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen **nvt**
  - aanpassing aanvraag 26-03-2015
  - advies aan CCD 27-03-2015
7. Eventueel horen van aanvrager
  - Datum **nvt**
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager

- Strekking van de vraag / vragen
- Strekking van het (de) antwoord(en)
  
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum 20-03-2015
- Strekking van de vraag / vragen

**De DEC heeft gevraagd:**

- **de aantallen dieren aan te passen aan de nieuwe richtlijn voor het ontwikkelen van 'GGO'-dieren**
- **enkele tekstuele verbeteringen in aanvraag aan te brengen.**
  - Datum antwoord 26-03-2015
  - Strekking van het (de) antwoord(en):

**De antwoorden hebben geleid tot correctie van de aanvraag en aanpassing van de NTS**

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise **nvt**
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Expert advies

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet) **Ja**
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren **Ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering **NVT**

## C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- X uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
- uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
- uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
- wettelijk vereist

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en) **JA**

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **essentieel / substantieel** belang

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project **JA**

5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd **NVT**

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd

**Bijlage1: JA**

**Bijlage2: JA**

**Bijlage3: JA**

**Bijlage4: JA**

**Bijlage5: JA**

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**.

**NEE, d.w.z geen methoden beschikbaar**

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en

informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.

**Per voorgestelde dierproef in de bijlagen is het aantal dieren realistisch ingeschat. De aanvrager gebruikt een strategie waarbij eerst cellen worden gebruikt en daarna pas diermodellen, om het aantal dieren te beperken. Doordat het aantal genen dat gevonden en getest gaat worden nog onbekend is, kan het totaal aantal dieren daarvoor niet concreet worden aangegeven.**

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd.

**De aanvraag is volledig in overeenstemming met mogelijkheden voor verfijning. De dieren worden gemonitord en indien noodzakelijk op grond van gedefinieerde humane eindpunten geëuthanaseerd.**

Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten **NVT**

**10.**

D

De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

**De achtergrond van deze projectbeschrijving is een heldere uiteenzetting van aanleiding, achtergrond en context van het voorgestelde onderzoek. Het medisch en maatschappelijk belang van het project is helder.**

## **D. Ethische afweging**

De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van dieren (niet), de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij dit aantal dieren wordt (niet) gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Het is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. Op termijn kan het project (geen) voordelen opleveren voor mens, dier of milieu

**De DEC is van oordeel dat de doelen en onderzoeksopzet van het project het gebruik van proefdieren rechtvaardigen. Daarbij is ook afgewogen dat de resultaten uiteindelijk van klinische waarde kan zijn voor de**



**mens, aangezien cardiovasculaire ziekten, en hartfalen in het bijzonder, een veel-voorkomend probleem is.**

## **E. Advies**

### 1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
  - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is
  - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren
  - De volgende tekortkomingen in de aanvraag
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
  - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
  - Voor de uitvoering van dit project is tevens een ministeriële ontheffing vereist
  - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden

**X** De DEC adviseert de vergunning te verlenen

### 2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt

**Dit besluit is unaniem door de DEC genomen.**



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Rijksuniversiteit Groningen

Postbus 72  
9700 AB Groningen

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.zbo-ccd.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10500201583

**Uw referentie**  
uw ref

**Bijlagen**  
1

Datum 12 Mei 2015  
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 27 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Genen and polymorphismen in cardiale remodelering en hartfalen ontwikkeling" met aanvraagnummer AVD10500201583. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet). U kunt met uw project "Genen and polymorphismen in cardiale remodelering en hartfalen ontwikkeling" starten. In afwijking van uw aanvraag wordt de vergunning afgegeven van 12 mei 2015 tot en met 12 november 2017. Dit is een periode van 2,5 jaar. De einddatum van de vergunning voor het project is aangepast omdat de CCD van mening is dat voor een aantal van de door u beschreven technieken binnen deze termijn mogelijk alternatieve methoden worden ontwikkeld. Dit geldt met name voor de door u aangevraagde dierproeven in bijlage dierproeven 3.4.4.1 en 3.4.4.2. Het aantal dieren is overeenkomstig aangepast.

### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie DEC-RUG gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering, met uitzondering van de termijn. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet zijn de grondslag van dit besluit.

### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

**Datum**

12 mei 2015

**Onze referentie**Aanvraagnummer  
AVD10500201583

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:

ir. Ger de Peuter  
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

**Bijlagen**

- Vergunning

- Hiervan deel uitmakend:
- Weergave wet- en regelgeving
  - DEC-advies



## Projectvergunning

### gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan  
Naam: Rijksuniversiteit Groningen  
Adres: A. Deusinglaan 1  
[REDACTED]  
Postcode en woonplaats: 9713 AV Groningen  
Deelnemersnummer: 10500

deze projectvergunning voor het tijdvak 12 mei 2015 tot en met 12 november 2017, voor het project "Genen and polymorphismen in cardiale remodelering en hartfalen ontwikkeling" met aanvraagnummer AVD10500201583, gebaseerd op het advies van Dierexperimentencommissie DEC-RUG.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is onderzoeker/ universitair docent.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 31 maart 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015;
  - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 27 maart 2015.
  - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 27 maart 2015, zoals ontvangen bij digitale indiening op 2 april 2015.

### Dierproeven

| Naam dierproef                  | Diersoort | Aantal dieren  | Ernst     | Voorwaarden                         |
|---------------------------------|-----------|----------------|-----------|-------------------------------------|
| Isolatie van primaire cellen    | Muis/rat  | 2000/ 2,5 jaar | terminaal | neonataal                           |
| Isolatie van primaire cellen    | Muis/rat  | 200/ 2,5 jaar  | terminaal | volwassen                           |
| Genetisch gemodificeerde dieren | Muis/rat  | 750/2,5 jaar   | matig     | GGO te gebruiken in procedures      |
| Genetisch gemodificeerde dieren | Muis/rat  | 1500/ 2,5 jaar | matig     | GGO fok voor fenotypering           |
| Genetisch gemodificeerde dieren | Muis/ rat | 1000/ 2,5 jaar | matig     | GGO fok aanhouden lijn met ongerief |
| Aorta constrictie               | Muis /rat | 700/ 2,5 jaar  | matig     |                                     |
| Ischemie/ Reperfusie            | Muis/ rat | 700/ 2,5 jaar  | ernstig   |                                     |
| (neuro) hormonaal model         | Muis/ rat | 700/ 2,5 jaar  | matig     |                                     |

### Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

### **Verzorging**

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt.

Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

### **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

### **Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

**Datum**

12 mei 2015

**Onze referentie**Aanvraagnummer  
AVD10500201583

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.