

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 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? <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 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	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 Straat en huisnummer Toernooiveld 300H Postbus Postcode en plaats 6525EC Nijmegen IBAN NL08RABO0113698461 Tenaamstelling van het rekeningnummer Farma Research Animal Health B.V.
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	
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 Telefoonnummer [REDACTED] E-mailadres [REDACTED] @frah.nl
1.5	<i>(Optioneel)</i> 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 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
- Afdeling
- Telefoonnummer
- E-mailadres
- 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 0 1 . 0 5 . 2 0 1 5
- Einddatum 3 1 . 0 3 . 2 0 2 0
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Weefselresidu -en melkresidu studies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Weefselresidu -en melkresidu studies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven
- 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 ([REDACTED])
- E-mailadres [REDACTED]

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
-

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 30-03-2015

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.
- 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="2"/> | <input type="text" value="Melkresidu studie"/> |

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 of voederadditief voor landbouwhuisdieren dient de veiligheid voor de mens te worden aangetoond. Dit oa met betrekking tot consumptie van melk. De residu-studies dienen te worden uitgevoerd met het kant-en-klare product, zoals men het op de markt wil brengen, toegediend op de manier en in de dosering zoals men dat in de praktijk ook zal doen.

Na de toediening(en) worden gedurende een bepaalde periode melkmonsters genomen. Dit gebeurt bij het reguliere melken. In de monsters wordt de concentratie van de actieve stof bepaald (of de marker daarvoor, zoals voorgeschreven in de regelgeving). Op basis van deze concentraties wordt met statistiek bepaald, wanneer de melk veilig is voor menselijke consumptie. De periode tussen de laatste toediening en het moment waarop de melk veilig is, noemt men de wachttijd.

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 1x

Toediening Van het te testen product; dosering: "worst case":

- In de hoogste dosering, zoals zal worden voorgeschreven na markttoelating
- Maximaal aantal keren, zoals zal worden voorgeschreven na markttoelating

Toediening in de vorm en op de wijze zoals dat in het dossier beschreven wordt voor in de praktijk.

Mogelijke toedieningsvormen: tablet, pasta, orale suspensie, uierinjector, zalf, injectievloeistof, spray, enz.

Toedieningswijzen: alle toedieningen zoals in praktijk: bv oraal, injectie (IM, SC, IV), lokaal op huid, intramammair, intra-uterine, via drinkwater

Monstername Dit gebeurt bijna altijd vanuit de melkmachine. Heel soms direct vanuit het uier. Alleen dan is het een handeling aan het dier.

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

De geldende EMA, EFSA en VICH Richtlijnen zijn bepalend. EMA Richtlijn schrijft voor: minstens 20 dieren. Als men veel variatie verwacht, dan worden extra dieren toegevoegd (bv 2 tot 5). Er wordt geen statistische methode toegepast om het aantal dieren te bepalen. Er vindt geen vergelijking plaats van groepen. Voor de bepaling van de wachttijd wordt gebruik gemaakt van een speciaal statistiek programma van EMA.

B. De dieren

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

Diersoort: Rund, schaaap, geit. Deze dieren worden gebruikt voor melk tbv menselijke consumptie

Status: Dieren moeten gezond zijn.

Herkomst: Al aanwezig op de boerderij. Dieren zijn en blijven eigendom van boer, maar mogen gebruikt worden voor dit onderzoek.

Aantallen: Minimaal 20 per studie. Indien nodig iets meer, bv 25.

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 140, schaaap 40, geit 40.

Levensstadia: Volwassen, lactierend

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.

De keuze van de dieren en de opzet worden bepaald door Internationale regelgeving op dit gebied.

Doel is om dusdanig de studie uit te voeren dat een wachttijd kan worden vastgesteld, die door de autoriteiten geaccepteerd wordt.

Vervanging is hierbij niet mogelijk. Vermindering wordt toegepast, doordat het opdrachtgevende bedrijf met zo min mogelijk investeringen de wachttijd (residu bepaling) wil kunnen bepalen volgens de wettelijke richtlijnen. Het uitvoeren van dergelijke studies is heel erg kostbaar, en een opdrachtgever is niet bereid meer te betalen dan noodzakelijk is om het bovengenoemde doel te bereiken. Men betaalt simpelweg niet voor een studie met 32 dieren als 20 voldoende is.

Wat betreft verfijning: Er is al sprake van weinig ongerief. De dieren zijn gezond en moeten dit blijven. Een belangrijke verfijning binnen de registratieprocedure is, dat in het geval van bioequivalentie met een al geregistreerd product, de melkresidustudie in veel gevallen niet meer vereist is. De dieren blijven na afloop in leven.

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

De dieren worden heel rustig benaderd. Daarnaast zijn er geen handelingen die echt pijn of ongemak veroorzaken.

Er is geen effect op het milieu.

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, EFSA en VICH richtlijnen en onder het kwaliteitssysteem GLP (zie Projectvoorstel 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 meest recente VICH Richtlijn GL48:

"This guidance is one of a series developed to facilitate the mutual acceptance of residue chemistry data for veterinary drugs used in food-producing animals. This guidance was prepared after consideration of the current national/regional requirements and recommendations for evaluating veterinary drug residues in the VICH regions."

"The intent is that one residue depletion study (per species), conducted within any VICH region, would satisfy the data recommendations for establishment of appropriate withdrawal periods for a specific product in food-producing animals."

De proeven worden uitgevoerd in opdracht van bedrijf dat een diergeneesmiddel of voederadditief op de markt wil 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 Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

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

Regulier veehouderijbedrijf

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

Melkresidustudies dienen uitgevoerd te worden onder zoötechnisch normale omstandigheden. En met het kant-en-klare middel dat wordt toegediend op de manier zoals dat na markttoelating ook zal gebeuren. De normale praktijk dient van toepassing te zijn. Huisvesting van deze dieren op speciale proefdierfaciliteiten vereist transport, en verandering van huisvesting, verzorging, voeding en vooral melkprocedure. Dit zal extra stress veroorzaken, hetgeen we zoveel mogelijk willen vermijden. Het zal bv de melkproductie beïnvloeden.

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 merendeels verzorgd worden door de vaste verzorgers van de dieren (veehouder, verzorgers, enz) met ontheffing van nVWA. Bovendien zijn het mensen met ervaring met de desbetreffende diersoorten. Dit wordt gecontroleerd door vergunninghouder en (bij voorkeur tijdens elk 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 praktizerend 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
- Fixatie van het dier tijdens toediening door vasthouden of aanbinden met een halster
- Injectie (bv IM, SC, IV): indien het te testen product een injectievloeistof betreft

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

Geen. Het is al minimaal. Er is per keer slechts sprake van kortdurende lichte stress.

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

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.
- 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="Weefselresidu studie"/> |

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 of voederadditief voor landbouwhuisdieren dient de veiligheid voor de mens te worden aangetoond volgens EMA, VICH en EFSA Richtlijnen. Dit oa met betrekking tot consumptie van vlees. De residu-studies dienen te worden uitgevoerd met het kant-en-klare product, zoals men het op de markt wil brengen, toegediend op de manier en in de dosering zoals men dat in de praktijk ook zal doen.

Na de toediening(en) worden op diverse momenten groepen dieren geslacht. Direct daarna worden monsters genomen van:

- rund, schaap, geit, paard: lever, nier, spier, vet
- pluimvee, varken: lever, nier, spier, huid+vet

In de monsters wordt de concentratie van de actieve stof bepaald (of de marker daarvoor, zoals voorgeschreven in de regelgeving). Per weefsel wordt op basis van deze concentraties bepaald, met statistiek welke is voorgeschreven door EMA, wanneer de weefsels veilig zijn voor menselijke consumptie. De periode tussen de laatste toediening en het moment waarop het vlees veilig is, noemt men de wachttijd.

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 1x, Tbv dosisbepaling.

Toediening Van het te testen product; dosering: "worst case":

- In de hoogste dosering, zoals zal worden voorgeschreven na markttoelating
- Maximaal aantal keren, zoals zal worden voorgeschreven na markttoelating

Toediening in de vorm en op de wijze zoals dat in het dossier beschreven wordt voor in de praktijk.

Mogelijke toedieningsvormen: tablet, pasta, orale suspensie, uierinjector, zalf, injectievloeistof, spray, enz.

Toedieningswijzen: alle toedieningen zoals in praktijk: bv oraal, injectie (IM, SC, IV), lokaal op huid, intramammair, intra-uterine, via drinkwater

Transport Van boerderij naar slachthuis. Euthanasie op de boerderij is niet mogelijk, omdat niet 100% zeker gesteld kan worden dat dit de concentraties in de weefsels niet beïnvloed. Slacht op het slachthuis is de procedure zoals die later in de praktijk ook zal worden toegepast. Er kan dan geen discussie ontstaan met registratie-autoriteiten over invloed op de concentraties.

Slacht Reguliere slacht voor die diersoort (schietmasker, electrocutie).

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

De geldende EMA, EFSA en VICH Richtlijnen zijn bepalend.

Er wordt geen statistische methode toegepast om het aantal dieren te bepalen. Er vindt geen vergelijking plaats van groepen.

Voor de bepaling van de wachttijd wordt gebruik gemaakt van een speciaal statistiek programma van EMA. Als uitgangspunt hanteert men minstens 16 dieren, waarbij op 4 momenten steeds 4 dieren geslacht worden. Voor pluimvee is 6 per groep het minimum. Indien men grote variatie verwacht, dan moet men meer dieren per groep includeren (bv 6 bij rund). Bij een lange wachttijd kan het nodig zijn meer slachtgroepen te nemen (bv 6 ipv 4).

Het exacte aantal dieren is afhankelijk van het gedrag van de actieve component van het product in het lichaam. Ten behoeve van de studie-opzet, kan informatie daarover verkregen worden van/uit bv:

- openbare gegevens van vergelijkbare producten, waarvoor al een wachttijd bepaald is
- interne gegevens van eerder door Farma Research Animal Health uitgevoerde proeven met vergelijkbare proeven
- uitgevoerde pilot-studie met hetzelfde product
- kinetiekstudies
- literatuur

B. De dieren

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

Diersoort:	Rund, schaap, geit, varken, paard, pluimvee. Omdat deze diersoorten gebruikt worden voor menselijke consumptie.
Status:	Dieren moeten gezond zijn.
Herkomst:	Rund, schaap, geit, varken: Al aanwezig op de boerderij. Worden op de boerderij waar het onderzoek plaatsvindt, aangekocht van de eigenaar. Paard: aangekocht via reguliere handelskanalen Pluimvee: aangekocht van pluimveehouder
Aantallen:	Kan verschillen per studie. In het verleden variërend van 12 tot 28. Voor pluimvee tot 42. Slachtgroepen van 4 dieren (bij kippen 6), minstens 4 groepen. Dit kan iets meer zijn (bv 6 groepen) en/of bv 6 dieren per groep. Afhankelijk van het te testen product. Het totaal aantal dieren 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 80, schaap 32 geit 32, varken 100, paard 32, kippen 120.
Geslacht:	Per slachtgroep M/V: 50/50%. Conform de geldende Richtlijn, behalve als dit niet mogelijk is. Bv bij mestkalveren, dit zijn vrijwel altijd mannetjes.
Levensstadia:	Afhankelijk van diersoort. Rund, paard: volwassen Vleesvee: 250 - 400kg. Maar ook volwassen melkkoe is mogelijk. Varken: regulier mestvarken, 40-60 kg Schaap, geit: 40 - 60 kg Kip: broiler (6 weken)
Bepalend hierbij is	wat het doeldier voor het product is en wat registratietechnisch acceptabel is.

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.

De keuze van de dieren en de opzet worden bepaald door Internationale regelgeving op dit gebied.

Doel is om de studie zodanig uit te voeren dat een wachttijd kan worden vastgesteld, die door de autoriteiten geaccepteerd wordt.

Vervanging is hierbij niet mogelijk. Vermindering wordt toegepast, doordat het opdrachtgevende bedrijf met zo min mogelijk investeringen de wachttijd (residu bepaling) wil kunnen bepalen volgens de wettelijke richtlijnen. Het uitvoeren van dergelijke studies is heel erg kostbaar, en een opdrachtgever is niet bereid meer te betalen dan noodzakelijk om het bovengenoemde doel te bereiken. Men betaalt simpelweg niet voor een studie met 32 dieren als 16 voldoende is.

Wat betreft verfijning: Er is al sprake van weinig ongerief. De dieren zijn gezond en moeten dit blijven. Een belangrijke verfijning binnen de registratieprocedure is, dat in het geval van het op de markt willen brengen van een min of meer gelijk, en al geregistreerd product, alleen een bioequivalentie met een al geregistreerd product hoeft te worden uitgevoerd (is het nieuwe middel het zelfde als het al bekende middel?) en dus de weefselresidustudie in veel gevallen niet meer vereist is.

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 runderen, schapen, geiten en varkens blijven de dieren op hun eigen bedrijf. De dieren blijven dus in de eigen omgeving, verzorgd door de bekende mensen. Er is geen stress door verandering van voer, huisvesting, enz.

Voor de dieren die aangekocht worden (paarden en pluimvee) wordt een acclimatisatieperiode in acht genomen.

De dieren worden heel rustig benaderd. Daarnaast zijn er geen handelingen die echt pijn of ongemak veroorzaken.

Er is geen effect op het milieu.

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, EFSA en VICH richtlijnen en onder het kwaliteitssysteem GLP (zie Projectvoorstel 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 meest recente VICH Richtlijn GL48:

"This guidance is one of a series developed to facilitate the mutual acceptance of residue chemistry data for veterinary drugs used in food-producing animals. This guidance was prepared after consideration of the current national/regional requirements and recommendations for evaluating veterinary drug residues in the VICH regions."

"The intent is that one residue depletion study (per species), conducted within any VICH region, would satisfy the data recommendations for establishment of appropriate withdrawal periods for a specific product in food-producing animals."

De proeven worden uitgevoerd in opdracht van bedrijf dat een diergeneesmiddel of voederadditief op de markt wil 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 veehouderijbedrijf of paardenstoeterij/manege

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

Residu-studies 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 we zoveel mogelijk willen vermijden. Een ander voordeel is dat we nu in de meeste gevallen per individueel dier de beschikking hebben over alle historische gegevens, inclusief ziekte/medicatie/vaccinaties.

Een adequate verzorging is gewaarborgd doordat de dieren merendeels worden verzorgd door de vaste verzorgers van de dieren (veehouder, verzorgers, enz), waarvoor ontheffing is verleend door nVWA. Bovendien zijn het 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 diervverzorgers 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 praktizerend 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 betreft
- Tijdelijke individuele huisvesting na toediening van een product (bv applicatie op de huid)
- Tijdelijk fixeren of vastzetten mbv halster tijdens toediening van het product
- Transport (naar slachthuis)
- Slachten

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

Er is per keer slechts sprake van kortdurende stress. De mate waarin verschilt per diersoort. Bv het wegen van een paard is meestal vrijwel stressloos, omdat een paard gewend is in handen te komen. Een mestvarken is dat echter niet en zal dus onrustiger zijn.

Het transport naar slachthuis geschiedt in kleine groepen en in alle rust. Slachthuis is in de nabijheid van boerderij gelegen (max 30 minuten).

Het slachten van de dieren gebeurt één voor één. Dus niet in de grote groep.

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.

Er dienen weefselmonsters genomen te 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



Centrale Commissie Dierproeven



Centrale Commissie Dierproeven i.o.

4

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.
- 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 voor diergeneesmiddelen en voederadditiefbedrijven voor diervoeding of supplementen.

Het project wordt uitgevoerd in het kader van de wettelijk verplichte registratie van diergeneesmiddelen of voederadditieven. Een bedrijf dat een markttoelating voor een diergeneesmiddel of voederadditief 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 o.a. 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 volgens de wettelijke richtlijnen (zie hieronder) te worden uitgevoerd met het middel zoals men het op de markt wil brengen en toegediend zoals dat later in de praktijk zal gebeuren.

In het geval van een diergeneesmiddel, wordt het dossier beoordeeld door nationale Registratieautoriteiten (in Nederland: College ter beoordeling Geneesmiddelen: CBG) of Europese autoriteit (European Medicines Agency: EMA) in Londen. In het geval van een voederadditief, wordt het dossier beoordeeld door de Europese autoriteit: European Food Safety Authority: EFSA.

Dit projectvoorstel betreft weefsel -en melkresidu-studies. Deze studies worden uitgevoerd volgens EMA Richtlijnen. Voor residu-studies zijn dat o.a.:

- VICH GL48: Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food-producing animals: marker residue depletion studies to establish product withdrawal periods; EMA/CVMP/VICH/463199/2009
- Guideline on Injection Site Residues; EMEA/CVMP/542/03
- Note for Guidance: Approach towards harmonisation of withdrawal periods; EMEA/CVMP/036/95
- Note for Guidance for the Determination of Withdrawal Periods for Milk; EMEA/CVMP/473/98
- Scientific Opinion; Guidance for establishing the safety of additives for the consumer; EFSA Journal 2012;10(1):2537

Deze studies dienen (met uitzondering van pilot studies) uitgevoerd te worden onder de kwaliteitsrichtlijn:

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

Door de studie onder GLP uit te voeren, kunnen ze in de gehele wereld gebruikt worden ten behoeve van registratiedossiers. De toegepaste inhoudelijke richtlijnen zijn deels VICH Richtlijnen.

"VICH is a trilateral (EU-Japan-USA) programme aimed at harmonising technical requirements for veterinary product registration."

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: Als een diergeneesmiddel of een voederadditief is toegediend aan een dier, wanneer is dan de concentratie van de actieve stof in vlees of melk weer onder de, voor de mens, veilige grens, zodat vlees en melk geschikt zijn voor menselijke consumptie?

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

Voor een diergeneesmiddel of voederadditief, bestemd voor gebruik bij landbouwhuisdieren, moet voor elke diersoort waarvoor het produkt bestemd is, de zogenaamde wachttijd voor slacht bepaald worden. Bij dieren waarvan de melk gebruikt wordt (rund, schaap, geit) moet dit ook voor melk gebeuren. Met wachttijd wordt bedoeld, de periode tussen laatste toediening van het product en het moment waarop de concentratie van het diergeneesmiddel in het vlees en melk zo laag is dat deze weer geschikt zijn voor consumptie door de mens.

De voor de mens veilige grens waaronder de concentraties moeten liggen zijn wettelijk, conform Europese richtlijnen vastgesteld. Een dergelijke MRL (Maximum Residue Limit) is per actieve stof, per diersoort bekend voor weefsels, melk en eieren.

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

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 of voederadditief.

Deze markttoelatingsprocedure vormt een waarborging voor de kwaliteit van diergeneesmiddelen en voederadditieven.

Residu studies worden uitgevoerd ten behoeve van de veiligheid van de mens.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project bestaat uit individuele residu-studies. Dit zijn verschillende, los van elkaar staande proeven met verschillende diersoorten, verschillende diergeneesmiddelen/voederadditieven, 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, pluimvee.

Dit projectvoorstel betreft weefselresidu -en melkresidu-studies. In een residu studie dienen de dieren behandeld te worden met de maximale dosis, gedurende de maximale periode, zoals die geclaimd zullen gaan worden door de indiener van het registratiedossier.

Ten behoeve van weefsel (=vlees): De dieren worden in groepen geslacht en de residuen van het toegediende product worden bepaald in diverse weefsels.

In het geval van een injectiepreparaat dient ook de concentratie op de injectieplaats bepaald te worden.

Ten behoeve van melkresidu wordt een groep dieren behandeld en worden gedurende een bepaalde periode melkmonsters verzameld voor de bepaling van de concentratie van de actieve stof van het testproduct.

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.

Zoals onder 3.1 al beschreven, dienen er ten behoeve van het registratiedossier voor het product verschillende proeven te worden uitgevoerd bij het doeldier. Weefselresidu -en melkresidustudies worden pas uitgevoerd als de andere studies een goed resultaat hebben gegeven. De exacte samenstelling van het product dient namelijk vast te staan, omdat een residustudie absoluut dient te worden uitgevoerd met het uiteindelijke product. De eerste proeven met het doeldier zijn meestal beperkte farmacokinetiekstudies, waarbij bloedspiegels bepaald worden. Een andere reden waarom residustudies als laatste worden uitgevoerd, is het feit dat deze studies erg duur zijn, ten gevolge van de complexe bio-analyse.

Dit projectvoorstel betreft residu-proeven in het algemeen. Er is geen onderlinge samenhang. De proeven worden individueel uitgevoerd in opdracht van farmaceutische bedrijven en voederadditiefbedrijven. De enige samenhang die kan voorkomen is, dat een residu-studie voorafgegaan wordt door een pilotstudie om een juiste studieopzet (bv bepalen slachttijdstippen of lengte bemonsteren) te bepalen voor de definitieve studie.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Weefselresidu studie
2	Melkresidu studie
3	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: 2015-0047
2. Titel van het project: Weefselresidu- en melkresidu studies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven.
3. Titel van de NTS: Weefselresidu- en melkresidu studies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning.
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: RUDEC
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED]@radboudumc.nl
6. Adviestraject:
 - ontvangen door DEC: 17-02-2015
 - aanvraag compleet
 - in vergadering besproken: 03-03-2015
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van 12-03-2015 tot 16-03-2015
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 16-03-2015
 - advies aan CCD: 30-03-2015
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. Verder wordt de aanvrager verzocht de haalbaarheid van deze studie toe te lichten en te verduidelijken waarom er geen sprake kan zijn van herhaling. 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: 16-03-2015
 - Strekking van het antwoord: De inschatting van het totaal aantal dieren is toegevoegd in het projectvoorstel en de niet-technisch samenvatting. De gevraagde toelichting op de haalbaarheid van deze studie en het verduidelijken waarom herhaling niet optreedt zijn verwerkt in de aanvraag. Aangezien opsplitsing van de beschrijving dierproeven in 5 identieke formulieren geen extra informatie oplevert,

gaat de aanvrager er vanuit dat de CCD akkoord gaat met de gegeven beschrijvingen van de dierproeven die betrekking hebben 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, te weten het bepalen van weefsel- en melkresidu na toediening van diergeneesmiddelen of voederadditieven. Deze proeven hebben tot doel de veiligheid van voedingsmiddelen afkomstig van de dieren die deze middelen toegediend hebben gekregen, te waarborgen. De DEC acht dit doel van substantieel belang.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De DEC acht de aanvrager competent op dit gebied. De gekozen aanpak leidt tot betrouwbare uitspraken op het gebied van residuen in weefsel of melk.
5. Er is sprake van de 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 keuze hiervoor is voldoende onderbouwd.
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, waarbij dieren soms korte tijd gefixeerd worden of

individueel gehuisvest worden na toediening van een product; transport naar slachthuis; slachten. In een enkel geval wordt een melkmonster direct uit de uier verkregen, meestal wordt een melkmachine gebruikt. De DEC schat het ongerief als gevolg van deze handelingen in als licht. Het cumulatief ongerief voor de beschreven vergunningaanvraag is dus juist ingeschat.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. Deze dierproeven zijn wettelijk vereist voor registratie van een diergeneesmiddel of voederadditief. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten, aangezien de aanwezigheid van toegediende geneesmiddelen of voederadditieven alleen in het weefsel van het betreffende landbouwhuisdier onderzocht kan worden.
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 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, of verandering van huisvesting. Dieren worden in kleine groepen naar het slachthuis getransporteerd, en één voor één geslacht op de gebruikelijke wijze. Melkmonsters worden op de gebruikelijke wijze verkregen. De DEC is er van overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
2. 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 weefsel- en melk residu studies wettelijk vereist zijn voor de registratie van nieuwe diergeneesmiddelen en voederadditieven. Deze proeven hebben tot doel de veiligheid van voedingsmiddelen afkomstig van de dieren die de diergeneesmiddelen en voederadditieven toegediend hebben gekregen, te waarborgen. 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 DEC weegt het belang van de doelstelling op tegen het lichte ongerief voor de dieren.

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

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
AVD2100201584

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 19 mei 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 31 maart 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Weefselresidu- en melkresidustudies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven", met aanvraagnummer AVD2100201584. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag gedeeltelijk goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna de wet). U krijgt een vergunning voor één jaar. Hierbij gelden de voorwaarden zoals vernoemd in de vergunning.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie Radboud Universiteit Nijmegen gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit. Wij nemen dit advies van de commissie maar ten dele over. We verlenen een vergunning voor één jaar en niet voor vijf jaar om de volgende reden:

Wij onderschrijven de noodzaak van het wettelijk verplicht onderzoek voor de registratie van een diergeneesmiddel of voederadditief, maar in tegenstelling tot de commissie kunnen we op basis van de voorliggende aanvraag niet voor alle toekomstige opdrachten voor residustudies inschatten of het belang van de dierproef opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend (Art. 10, 1.c. van de wet). Het nut of de meerwaarde van de te testen diergeneesmiddelen of voederadditieven is niet voldoende omschreven, derhalve dient deze informatie te worden aangevuld. U vraagt een vergunning voor vijf jaar, die kunnen we op basis van bovenstaande overwegingen niet afgeven. Daarom geven we een vergunning af voor één jaar, onder voorwaarde dat u bij elke opdracht vooraf een melding doet aan de CCD met de soort te testen diergeneesmiddelen en voederadditieven en hun doel.

U kunt met uw project "Weefselresidu- en melkresidustudies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven" starten. De vergunning wordt afgegeven van 19 mei 2015 tot en met 18 mei 2016.

Datum
19 mei 2015

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD2100201561

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. 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: AVD 21000

deze projectvergunning voor het tijdvak 19 mei 2015 tot en met 18 mei 2016, voor het project "Weefselresidu- en melkresidustudies tbv diergeneesmiddelen en voederadditieven" met aanvraagnummer AVD21000201584 volgens advies van Dierexperimentencommissie Radboud Universiteit Nijmegen.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is study director.

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 brief op 31 maart 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij brief op 31 maart 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 30 maart 2015 ontvangen op 31 maart 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Weefselresidustudie	Rund	80	Licht	De aanvrager dient gedurende de periode van de projectvergunning voor de CCD schriftelijk per proef inzichtelijk te maken om welke stof het gaat. Tevens dient de aanvrager het doel en het maatschappelijk belang van de stof duidelijk te maken. Deze wijze van rapporteren heeft geen invloed op het starten en het verloop van de individuele proeven.
	Varken	100	Licht	
	Paard	32	Licht	
	Geit	32	Licht	
	Schaap	32	Licht	
	Kip	120	Licht	
Melkresidustudie	Rund	140	Licht	De aanvrager dient gedurende de periode van de projectvergunning voor de CCD schriftelijk per proef inzichtelijk te maken om welke stof het gaat. Tevens dient de aanvrager het doel en het maatschappelijk belang van de stof duidelijk te maken. Deze wijze van rapporteren heeft geen invloed op het starten en het verloop van de individuele proeven.
	Schaap	40	Licht	
	Geit	40	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 onvermijdelbaar 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

Datum
19 mei 2015

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD2100201561

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.

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.

14 APR. 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 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? <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 <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>Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td>[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. <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>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"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>PhD student</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]@radboudumc.nl</td> <td></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	PhD student		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	0 2 4 [REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]@radboudumc.nl	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie	PhD student																
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"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input 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	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres		
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<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 | [REDACTED] | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | Instantievoor Dierenwelzijn | |
| Afdeling | [REDACTED] | |
| Telefoonnummer | [REDACTED] | |
| E-mailadres | [REDACTED] | |
- 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 | 1 5 _ 0 5 _ 2 0 1 5 |
| Einddatum | 1 5 _ 0 5 _ 2 0 2 0 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Validation of a force reflective operation instrument (FROI)
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Weefselgevoel bij minimaal invasieve chirurgie
- 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 (627 DEC B4) |
| E-mailadres | dec@iwkv.umcn.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 468,00 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 [REDACTED]

Functie Instantie voor dierenwelzijn

Plaats Nijmegen

Datum 13 - 04 - 2015

Handtekening [REDACTED]

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).
- 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. | Validation of a force reflective operation instrument (FROI) |

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.

- Basic Research
- Translational or applied research
- Regulatory use of routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare dier
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- 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.

Het uitvoeren van minimaal invasieve chirurgie (MIC) is voor een chirurg veel complexer vergeleken met open chirurgie door veranderingen in informatievoorziening. Niet alleen is er geen direct zicht meer op het operatiegebied door tussenkomst van het camerabeeld, ook het direct manueel contact met het weefsel is weggevallen. Diverse (pre)klinische studies tonen aan dat het vermogen tot het waarnemen (voelen) van informatie over weefseleigenschappen bij MIC sterk gereduceerd is door de tussenkomst van instrumenten [1]. Nauwkeurige informatierugkoppeling van de interactiekrachten tussen het instrument en het weefsel is essentieel om geleverde krachten voor weefselmanipulatie goed te kunnen doseren en om variaties in weefselstructuur goed van elkaar te kunnen onderscheiden. Het leveren van te weinig kracht zorgt voor het wegslijpen van weefsel en te veel kracht kan leiden tot het optreden van weefselnecrose en in het ergste geval tot blijvende afdrukken of scheuren. De aanwezigheid van frictie en speling (lage mechanische efficiëntie) in operatie-instrumenten reduceren de kwaliteit van informatierugkoppeling. Hoge mechanische efficiëntie is enerzijds belangrijk voor het kunnen onderscheiden van weefselconsistenties; uit onderzoek blijkt dat anderzijds het verhogen van de mechanische efficiëntie geen effect heeft op het verbeteren van de knijpkrachtdosering [2]. Het toepassen van versterkte haptische feedback wordt in diverse studies aangedragen als oplossing voor het verhogen van de operationele efficiëntie door minder slip en meer succesvolle (goed gedoseerde) grijpacties. Twee recente literatuurstudies geven een overzicht van de nog beperkte hoeveelheid onderzoeken die uitgevoerd zijn in het kader van haptische feedback bij minimaal invasieve chirurgie. In deze studies wordt geconcludeerd dat zowel patiënten als chirurgen kunnen profiteren van versterkte haptische feedback in instrumenten [3,4]. Daarnaast blijkt uit vragenlijstonderzoek dat 79% van de specialisten denkt dat een nieuw

operatie-instrument met aanvullende haptische feedback noodzakelijk is en dat 99% open staat voor technische veranderingen binnen het werkveld [5].

Enkele jaren geleden is een prototype van een nieuw operatie-instrument voor minimaal invasieve chirurgie, genaamd het Force Reflective Operation Instrument (FROI) ontwikkeld. Het FROI geeft de interactiekrachten tussen het grijpgedeelte van het operatie-instrument en het weefsel nauwkeurig aan de chirurg weer middels een zogenaamd force feedback mechanisme in het handvat. Dit force feedback mechanisme zorgt voor een versterking van de haptische feedback. De haalbaarheid van het technologische principe is reeds aangetoond op zowel anorganische materiaal als organisch slachthuismateriaal. De voorlopige, nog niet gepubliceerde, resultaten laten zien dat de toegepaste krachten tijdens het aftasten van weefsel met een factor 2 tot 5 kan worden gereduceerd. Momenteel wordt binnen een regionaal samenwerkingsverband het FROI uitontwikkeld tot een volledig werken klinisch prototype. Omdat minimaal invasieve chirurgie veel verschillende operatiemethoden omvat is dit prototype toegespitst op laparoscopische chirurgie. Deze operatietechniek betreft minimaal invasieve operaties in de buikholte en wordt voornamelijk uitgevoerd door algemeen chirurgen (heelkunde), urologen en gynaecologen.

De potentiële effecten van het FROI op patiëntresultaten zijn:

- * Minder complicaties door beter gedoseerde weefselmanipulatie en kortere operatietijd.
- * Reductie van het aantal conversies van laparoscopische ingreep naar een open ingreep.
- * Meer mogelijkheden tot het uitvoeren van laparoscopische chirurgie in plaats van open chirurgie door verbetering in weefselherkenning.

De potentiële effecten van het FROI op dokterniveau:

- * Betere ergonomie met minder belasting op de korte termijn en minder fysieke klachten of uitval op de langere termijn.
- * Kortere leercurve door betere weefselherkenning in het begin van de carrière.

1. den Boer KT, Herder JL, Sjoerdsma W, Meijer DW, Gouma DJ, Stassen HG (1999) Sensitivity of laparoscopic dissectors. What can you feel? Surg Endosc 13:869-73
2. Heijnsdijk EAM, Pasedeloup A, Van Der Pijl AJ, Dankelman J, Gouma DJ (2004). The influence of force feedback and visual feedback in grasping tissue laparoscopically. Surg Endosc 18:980-5.
3. Westebring-van der Putten EP, Goossens RHM, Jakimowicz JJ, Dankelman J (2008) Haptics in minimally invasive surgery – a review. Minim Invasive Ther Allied Technol 17:3-16.

4. Van der Meijden OA, Schijven MP (2009) The value of haptic feedback in conventional and robot-assisted minimal invasive surgery and virtual reality training: a current review. Surg Endosc. 23:1180-1190.5. Westebring-van der Putten EP, Berben MCJ, Goossens RHM, Jakimowicz JJ, Dankelman J (2010) The opinion and experience of surgeons with laparoscopic bowel grasper haptics. J Biomedical Science and Engineering 3:422-9

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?

Het doel van het project is om het Force Reflective Operation Instrument (FROI) te valideren. Er zal worden onderzocht of de chirurg dankzij dit instrument in staat wordt gesteld zijn geleverde krachten voor weefselmanipulatie beter kan doseren zonder dat dit ten koste gaat van de operationele efficiëntie en of hij/zij variaties in weefselstructuur beter van elkaar kan onderscheiden. De onderzoeksresultaten vormen een wetenschappelijke onderbouwing bij de potentiële voordelen van de het FROI. Deze resultaten zijn zeer belangrijk voor het al dan niet plaatsvinden van de praktische toepassing van het FROI in de chirurgische praktijk. Het dierexperimenteel onderzoek is een essentieel onderdeel van het totale validatie onderzoeksplan bestaande uit:

1. Haalbaarheidsstudie met anorganisch materiaal
2. Validatiestudies met slachthuismateriaal
3. Kwalitatief dierexperimenteel onderzoek
4. Klinische validatie

Hieronder worden de subdoelen van het dierexperimenteel onderzoek besproken:

Het eerste doel van het dierexperimenteel onderzoek is het testen van de gevoeligheid van het instrument, het herkennen van weefsel, en het kunnen voelen van pulsaties. Met andere woorden: doet het instrument in vivo wat we denken dat het zou moeten doen op basis van de in vitro testen?

Het tweede doel van het dierexperimenteel onderzoek is het vaststellen van de veiligheid, operationele efficiëntie en gebruikservaring van het FROI ten opzichte van een conventionele laparoscopische paktang.

Het FROI prototype wordt uitgevoerd met twee verschillende handvattypen. Het meest gebruikte handvattype voor laparoscopische paktangen is een schaarmodel waarbij met de duim (bewegend) ten opzichte van de vingers (vast) de punt van het instrument

geopend en gesloten kan worden voor het oppakken van weefsel. Echter zijn (kortstondige en chronische) handklachten onder laparoscopisten een veelvoorkomend probleem. De meer geavanceerde laparoscopische apparatuur voor het doornemen van weefsel wordt vaak uitgevoerd met een zogenaamde pistoolgreep, waarbij de vingers ten opzichte van de handpalm het grijpgedeelte aansturen. Comfortbepaling van deze twee handvattypen wordt uitgevoerd middels vragenlijst onderzoeken en in vitro testopstellingen.

Het derde doel van het dierexperimenteel onderzoek betreft wel het vaststellen van het effect van het handvattype of het onderscheidend vermogen van het FROI.

Het instrument zal worden geëvalueerd door ervaren laparoscopisten werkzaam binnen verschillende chirurgische werkvelden: heelkunde, gynaecologie en urologie. De testen zullen worden uitgevoerd in het centraal dierenlaboratorium Nijmegen met de ondersteuning van specialisten op het gebied van dierexperimenteel onderzoek. Het prototype is reeds af en zal worden aangeleverd door specialisten op het gebied van mechatronica. De techniek biedt de mogelijkheid de instellingen van de force feedback van het prototype tijdens de procedure aan te passen. De instellingen kunnen dus tijdens de procedure geoptimaliseerd worden naar de bevindingen van de laparoscopisch experts. Dit maakt een efficiënte weg naar het definiëren van juiste instellingen mogelijk. De drie onderzoeksvragen zullen worden beantwoord middels kwalitatief onderzoek waarbij gebruik zal worden gemaakt van kwantitatieve scoringsformulieren en vragenlijsten. Tevens kan met behulp van de uitleesapparatuur van het prototype de toegepaste knijpkracht op het weefsel geanalyseerd worden.

3.3 Relevance

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

Op basis van preklinisch onderzoek met anorganisch weefsel en dierlijk orgaanweefsel afkomstig uit het slachthuis wordt de gevoeligheid van het FROI voor herkenning van verschillende weefselconsistenties ingesteld. Dit dierexperiment is een toonaangevende volgende stap op wetenschappelijk gebied. Het is de wetenschappelijke onderbouwing bij het toepassen van force feedback met betrekking tot veiligheid, efficiëntie en nauwkeurigheid in vivo die noodzakelijk is alvorens testen in de kliniek plaats kunnen vinden. Voor de patiënt heeft minimaal invasieve chirurgie veel voordelen. In vergelijking met open chirurgie betreft dit: sneller herstel, kortere ziekenhuisopname, minder postoperatieve pijn en betere cosmetische resultaten. De eerste twee kenmerken vormen tevens een belangrijk economisch gewin voor zowel het ziekenhuis als de maatschappij, met name door minder zorgkosten en snellere hervatting van werkzaamheden. De toepassing van het FROI betreft een optimalisatiestap binnen de minimaal invasieve chirurgie. Als de potentiële effecten positief uitpakken zorgt dit voor gezondheidswinst voor de patiënt en voor betere prestaties en arbeidsomstandigheden voor de chirurg.

3.4 Research Strategy

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

In het eerste deel van het validatieonderzoek is met behulp van anorganisch materiaal de haalbaarheid van het technologische principe van het FROI aangetoond.

In het tweede deel van het validatieonderzoek wordt op dit moment met behulp van dierlijk slachthuismateriaal (varken) eerst kwalitatief onderzocht (met behulp van een klein panel experts en non-experts) of de instellingen het toelaten onderscheid te maken tussen darm -, lever-, baarmoeder-, en longweefsel. Vervolgens wordt met behulp van kwantitatief onderzoek onder een grotere groep laparoscopisten en beginners het onderscheidend vermogen van de FROI gekwantificeerd. Bij goed functioneren wordt de overstap gemaakt naar het derde deel, het dierexperimenteel onderzoek. Echter, wanneer verwacht wordt dat er in vivo onvoldoende onderscheid kan worden gemaakt tussen cruciale structuren, zal de overstap naar dierexperimenteel onderzoek uitgesteld worden tot dit resultaat wel bereikt is.

In het derde deel van het validatieonderzoek, het dierexperimenteel onderzoek, wordt onderzocht of het instrument in vivo doet wat we denken dat het zou moeten doen op basis van de in vitro testen en zullen descriptieve vergelijkingen worden uitgevoerd ten opzichte van de conventionele laparoscopische paktang.

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.

Alle dierproeven betreffen dezelfde procedure, namelijk laparoscopische chirurgie bij een vrouwelijk landvarken (50 – 60 kg). Tijdens de procedure zal een urologische, gynaecologische en/of algemeen chirurgische ingreep uitgevoerd worden. De ingrepen zijn symmetrisch d.w.z. bilateraal van het orgaan worden dezelfde handelingen uitgevoerd of de ingreep kan opgedeeld worden in twee gelijke delen.

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

Dit project betreft een procedure die zal worden uitgevoerd bij minimaal drie tot maximaal zeven landvarkens. Deze procedure zal in het teken staan van de vraag: doet het instrument in vivo wat we denken dat het zou moeten doen op basis van de in vitro testen?

Ofwel, is het met de in vitro bepaalde instellingen verschil in weefselconsistentie waarneembaar? Aan dit onderzoek zullen onafhankelijke medisch specialisten (urologie, gynaecologie en heelkunde) deelnemen.

Indien verschil in weefselconsistentie in vivo niet of onvoldoende waarneembaar blijkt te zijn kunnen de instellingen ter plaats en bijgesteld worden.

Na het uitvoeren van de procedure bij een tot twee dieren dient overeenstemming te zijn bereikt tussen de deelnemende medisch specialisten over het functioneren van het FROI.

Bij negatieve beoordeling zal het project tijdelijk stopgezet worden totdat het product aantoonbaar geoptimaliseerd is ten opzichte van de eerste test(en).

Vervolg:

Bij een positieve beoordeling zal de procedure herhaaldelijk uitgevoerd worden bij twee tot maximaal vijf dieren waarbij na iedere herhaling de toegevoegde waarde van een extra herhaling ethisch zal worden afgewogen.

Het betreft hier een pilot study in aanloop naar klinische validatie, er wordt daarom geen rekening gehouden met benodigde aantallen voor statistische power etc. Bij een optimaal verloop van het onderzoek zou een totaal van drie dieren voldoende zijn.

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	Laparoscopie

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.
- 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"><tr><td>Serial number</td><td>Type of animal procedure</td></tr><tr><td>1</td><td>Laparoscopie</td></tr></table>	Serial number	Type of animal procedure	1	Laparoscopie
Serial number	Type of animal procedure					
1	Laparoscopie					

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.

Het betreft hier kwalitatief onderzoek waarbij zo weinig mogelijk dieren worden ingezet. De laparoscopisch specialisten zullen kwantitatieve scoringsformulieren en vragenlijsten invullen met betrekking tot het bepalen van de functionaliteit, effectiviteit en veiligheid van het instrument. Daarnaast zullen alle bevindingen buiten het bereik van deze formulieren en vragenlijsten gerapporteerd worden. Tevens zal de toegepaste knijpkracht gemeten en geanalyseerd worden. Dit om te kunnen bepalen of het instrument daadwerkelijk een verbetering is op het gebied van krachtendosering tijdens het manipuleren van weefsel. De geïntegreerde force feedback techniek maakt het mogelijk zowel de door de gebruiker uitgeoefende knijpkracht (Newton) op het handvat als de uiteindelijke interactiekracht (Newton) tussen het instrument en het weefsel te meten. Met behulp van speciale software kunnen deze resultaten opgeslagen en (real-time) gepresenteerd worden.

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

Binnen de dierproef wordt gestreefd naar het uitvoeren van drie verschillende soorten ingrepen van licht naar zwaar bij een varken. De mogelijk uit te voeren ingrepen betreffen:

1. Gynaecologisch, laparoscopische ingreep aan de baarmoeder of eierstokken.
2. Urologisch, laparoscopische ingreep aan de nieren of ureters.
3. Algemeen chirurgisch, laparoscopische ingreep aan de darmen.

Er wordt gestreefd naar een zo kort mogelijke operatietijd en een vlotte overgang tussen de ingrepen. De totale operatietijd wordt geschat rond de 6 uur. In het kader van het ongerief zal niet alleen per ingreep maar ook tijdens elke ingreep kritisch worden gekeken of doorgang van chirurgie plaats kan vinden of dat deze zal moeten worden afgebroken. Als er aan chirurgie of anesthesie gerelateerde ernstige complicaties optreden, die niet direct intra-operatief op te lossen zijn, zal de chirurgische procedure worden afgebroken.

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

Aangezien het hier een kwalitatieve studie betreft is een statistische methode niet van toepassing. Voor deze pilot study is een minimum van 3 dieren nodig om enerzijds te werken aan de settings en anderzijds een begin te maken met het bewijzen van het onderscheidend vermogen op het gebied van tactiele feedback van laparoscopisch instrumentarium. Als blijkt dat aanpassingen nodig zijn, zullen maximaal vier extra varkens ingezet worden. Voorafgaand aan elke herhaling van de dierproef wordt uitgebreid geëvalueerd met alle betrokken specialisten of deze herhaling strikt noodzakelijk is. Indien dit niet het geval is zal de dierproef worden afgesloten.

B. The animals

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

Het varken benadert qua anatomie het beste de abdominale ruimte van het menselijk lichaam. In verband met het deelgebied gynaecologie is gekozen voor een vrouwelijk varken. Voor een minimum aantal van 3 varkens is gekozen om enerzijds het aantal zo minimaal mogelijk te houden en anderzijds voldoende dieren beschikbaar te hebben voor de validatietesten. Voor een maximaal aantal van 7 varkens is gekozen mogelijk benodigde aanpassingen van het prototype op te kunnen vangen en indien noodzakelijk meer of aanvullende informatie over de werking van het FROI in vivo te kunnen vastleggen.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
Landvarken	Van Beek (Lelystad)	7	50 - 60 kg

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: Initieel is preklinisch onderzoek uitgevoerd met anorganisch materiaal en wordt onderzoek uitgevoerd met slachthuismateriaal. Voordat een klinische studie kan worden gestart zal het FROI echter eerst in vivo getest moeten worden.

Reduction: Het betreft hier kwalitatief onderzoek waarbij zo weinig mogelijk dieren worden ingezet. Tevens worden verschillende typen operaties (urologisch, gynaecologisch en chirurgisch) uitgevoerd op hetzelfde dier gedurende een operatie.

Refinement: Omdat het gaat om een chirurgische ingreep is het noodzakelijk een diermodel te gebruiken dat de menselijke anatomie zo dicht mogelijk benadert. 'Lagere' diersoorten komen niet in aanmerking omdat ze niet een vergelijkbare anatomie hebben en het landvarken vertoont de meeste gelijkenissen met de menselijke anatomie, zodat dit het beste model is voor het nabootsen van een operatie op een mens.

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

Het dier is gedurende de gehele procedure onder algehele anesthesie.

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.

N.v.t.

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.

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?

H. Pain and pain relief

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?

Stress

Explain why these effects may emerge.

Door de inductie van anesthesie.

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

Geen, de toediening is noodzakelijk voor de pijnbestrijding welke door een specialist zal worden toegediend.

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.

Als er aan chirurgie of anesthesie gerelateerde ernstige complicaties optreden, die niet direct intra-operatief op te lossen zijn, zal de chirurgische procedure worden afgebroken.

Indicate the likely incidence.

Vroegtijdige beëindiging wordt voorkomen door de anesthesiologische omloop en de laparoscopische ingrepen worden uitgevoerd door ervaren laparoscopisten. In het centraal dierenlaboratorium van het Radboudumc is ruime ervaring met het uitvoeren van operaties op varkens. Er is een ervaren anesthesiologische omloop die de anesthesie en de vitale parameters van het varken zal monitoren en waar nodig zal corrigeren (zoals dat ook tijdens een operatie van een mens gebeurt). Verder worden de laparoscopische ingrepen uitgevoerd door laparoscopisten met zowel ruime klinische ervaring als eerdere ervaring met opereren op het varkensmodel. De kans dat bovengenoemde complicaties zullen optreden zal derhalve zeer laag zijn (geschat op minder dan 5% conform de ervaring in de humane chirurgie). Bovendien is het uitdrukkelijk niet het doel van deze studie om complicaties iatrogen te veroorzaken.

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).

Non-recovery

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.

Door weefschade zou het leed van dit dier te groot zijn wanneer het ontwaakt uit anesthesie.

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.

[X] Yes



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Postbus 9101
6500 HB Nijmegen

**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
AVD103002015101

Datum 22 april 2015

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 14 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project Validation of a force reflective operation instrument (FROI) met aanvraagnummer AVD103002015101. In uw aanvraag zitten nog een onduidelijkheid. 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:

Onduidelijkheden projectplan

Wij hebben nog een vraag bij het projectplan bij uw aanvraag.

In 3.1 schrijft u dat het leveren van te veel kracht kan leiden tot het optreden van weefselnecrose en blijvende afdrucken of scheuren. Het macroscopisch dan wel microscopisch analyseren van weefsels van de dieren na doden zou hierover informatie kunnen geven. Worden organen/weefsels van de dieren na doden geanalyseerd? Kunt u ook aangeven waarom dit wel/niet gedaan wordt?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

Opsturen binnen veertien dagen

De CCD zou graag uw aanvraag bespreken in de eerstvolgende CCD vergadering. Daarom verzoeken wij u om de gevraagde informatie uiterlijk 28 april aan ons toe te zenden. Formeel heeft u echter 14 dagen na dagtekening van deze brief de tijd voor het toezenden van de gevraagde informatie. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Gebruik hierbij het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De beslistermijn op uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat bovengenoemde informatie is ontvangen. Na ontvangst van uw reactie nemen wij

uw aanvraag verder in behandeling. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Datum

22 april 2015

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015101

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op 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

Aan: Centrale Commissie Dierproeven

Datum: 4 mei 2015

Betreft: Aanvullende informatie inzake aanvraag projectvergunning dierproeven

Aanvraagnummer: AVD103002015101

Titel: Validation of a force reflective operation instrument (FROI).

Geachte heer/mevrouw

Allereerst willen wij u bedanken voor uw eerste beoordeling. Middels deze brief beantwoorden wij graag uw vraag betreffende het analyseren van weefsel ter controle en mogelijke vergelijking van de potentieel opgetreden weefselschade.

Herhaling van de vraag

In 3.1 schrijft u dat het leveren van te veel kracht kan leiden tot het optreden van weefselnecrose en blijvende afdrucken of scheuren. Het macroscopisch dan wel microscopisch analyseren van weefsels van de dieren na doden zou hierover informatie kunnen geven. Worden organen/weefsels van de dieren na doden geanalyseerd? Kunt u ook aangeven waarom dit wel/niet gedaan wordt?

Antwoord en toelichting

Doel van dit onderzoek is het valideren van het FROI en het vaststellen van de veiligheid, operationele efficiëntie en gebruikservaring van het FROI ten opzichte van een conventionele laparoscopische paktang. Een van de potentiële effecten van het FROI betreft minder complicaties door beter gedoseerde weefselmanipulatie. Omdat met het FROI minder kracht wordt gezet op de weefsels betreft de hypothese dat er minder weefselschade zal ontstaan. Om dit te onderzoeken worden de weefsels van de dieren post mortem zowel macroscopisch als microscopisch onderzocht op drukschade.

Wij hopen dat ons antwoord de onderzoeksopzet betreffende het onderdeel weefselschade voldoende inzichtelijk heeft gemaakt.

Met vriendelijke groet,



DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: 2015-0026
2. Titel van het project: Validation of a force reflective operation instrument (FROI)
3. Titel van de NTS: Weefselgevoel bij minimaal invasieve chirurgie
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: RUDEC
 - telefoonnummer contactpersoon: 024-[REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED]@radboudumc.nl
6. Adviestraject:
 - ontvangen door DEC: 17-02-2015
 - aanvraag compleet
 - in vergadering besproken: 03-03-2015
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking van 12-03-2015 tot 24-03-2015
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 24-03-2015
 - advies aan CCD: 10-04-2015
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: In de aanvraag geven de onderzoekers weinig inzicht in de internationale stand van zaken met behulp van wetenschappelijke literatuur. De aanvrager wordt verzocht dit toe te voegen. Verder is de beschrijving van de validatie erg summier. De aanvrager wordt verzocht duidelijker te beschrijven hoe zij de primaire uitkomstparameters, waaronder knijpkracht, gaan meten, en of blinding wordt toegepast in de proefopzet. Andere vragen betreffen kleine, soms slechts tekstuele, wijzigingen in de vergunningaanvraag.
 - Datum antwoord: 24-03-2015
 - Strekking van het antwoord: Het wetenschappelijk kader is beter afgebakend en onderbouwd met enkele relevante referenties. De aanvrager verduidelijkt waarom blinding bij de chirurg niet mogelijk is. Het meten van de uitkomstparameters is beter beschreven, waaruit blijkt dat met name de knijpkracht en de uiteindelijke

interactiekracht tussen het weefsel en het instrument op een objectieve manier gemeten worden.

- 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.

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 het valideren van het Force Reflective Operation Instrument (FROI) voor gebruik in de chirurgische praktijk. Het wordt ingeschat als een ~~essentieel~~-substantieel / reëel- / ~~beperkt~~ belang. Minimaal invasieve laparoscopische chirurgie heeft veel voordelen voor de patiënt, maar is complexer en belastender voor de chirurg. Informatieterugkoppeling van de interactiekrachten tussen het instrument en het weefsel heeft belangrijke voordelen. De arts ervaart betere weefselherkenning en krijgt minder fysieke klachten. Voor de patiënt resulteert dit in minder complicaties tijdens de operatie, en een bredere inzetbaarheid van laparoscopische chirurgie in plaats van open chirurgie. De op deze manier te behalen gezondheidswinst en kostenreductie vertegenwoordigen een substantieel 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, te weten terminaal.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. Het is essentieel dat het FROI wordt uitgetest op levend weefsel met daarin pulserende bloedvaten. De buik van het varken biedt een testomgeving die voldoende lijkt op de buik van de mens.
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 onderzoekers hebben een aantal go/no-go momenten ingebracht om onnodige dierproeven te voorkomen. Per dier worden bilateraal meerdere chirurgische ingrepen getest om het aantal benodigde dieren te reduceren. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal zeven varkens.

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. Het FROI wordt eerst op slachtafval getest om het apparaat goed af te stellen. De operaties worden door goed opgeleide medisch specialisten uitgevoerd. In het dierenlaboratorium is ruime ervaring met het onder narcose uitvoeren van operaties op varkens. De DEC is er van overtuigd dat de onderzoekers de dierproeven zo humaan mogelijk uitvoeren. 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

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. Het ongerief voor de dieren is minimaal, aangezien het een terminale proef onder anesthesie betreft.

Tegenover deze nadelige gevolgen voor de dieren staat dat met dit onderzoek de voordelen van toepassing van het kracht-reflecterend-operatie-instrument in de chirurgische praktijk kunnen worden vastgesteld. Het is aannemelijk dat dit inzicht kan bijdragen aan het ontwikkelen van efficiëntere en breder toepasbare laparoscopische operatietechnieken. De DEC acht het belang van die doelstelling substantieel, de concrete doelstellingen zijn haalbaar en kunnen niet zonder dieren worden behaald. De beoogde gezondheidswinst en kostenreductie zijn voldoende groot dat naar het oordeel van de commissie de nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst of stress, ethisch aanvaardbaar zijn.

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

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Postbus 9101
6500 HB Nijmegen

**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
AVD103002015101

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
1

Datum 12 mei 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 14 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Validation of a force reflective operation instrument (FROI)" met aanvraagnummer AVD103002015101. 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 "Validation of a force reflective operation instrument (FROI)" starten. In afwijking van uw aanvraag wordt de vergunning afgegeven van 15 mei 2015 tot en met 14 mei 2017. De einddatum van de vergunning voor het project is aangepast omdat de CCD van mening is dat de termijn die aan een vergunning wordt gesteld, moet passen bij het werk dat in het project zal worden uitgevoerd. De CCD is van mening dat voor dit project een termijn van 2 jaar voldoende is en in deze periode mogelijk nieuwe technische ontwikkelingen hebben plaatsgevonden.

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.

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. 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: Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
Adres: Geert Groteplein 10
Postcode en woonplaats: 6525 GA Nijmegen
Deelnemersnummer: 10300

deze projectvergunning voor het tijdvak 15 mei 2015 tot en met 14 mei 2017, voor het project "Validation of a force reflective operation instrument (FROI)" met aanvraagnummer AVD103002015101, gebaseerd op het advies van Dierexperimentencommissie RUDEC. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is PhD student. Voor de uitvoering van het project is Instantie voor Dierenwelzijn verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 14 april 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 13 april 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 13 april 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 10 april 2015, ontvangen op 13 april 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Laparoscopie	Landvarken	Maximaal 7	Terminaal	

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.



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 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 50400
 Nee > U kunt geen aanvraag doen

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

Naam instelling of organisatie	TNO Triskelion BV
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]

- 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.

KvK-nummer	51382997
Straat en huisnummer	Utrechtseweg 48
Postbus	844
Postcode en plaats	3704 HE Zeist
IBAN	NL10INGB0654470189
Tenaamstelling van het rekeningnummer	TNO Triskelion BV

- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters	Dr. E.D. Quakkelaar	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
Functie	[REDACTED]	
Afdeling	[REDACTED]	
Telefoonnummer	088 [REDACTED]	
E-mailadres	[REDACTED]@tno.triskelion.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	088 [REDACTED]	
E-mailadres	r[REDACTED]@tno.triskelion.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?
- 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 | 3 - 6 - 2015 |
| Einddatum | 3 - 6 - 2020 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder RSV.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder RSV.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|---|
| Naam DEC | DEC-TNO |
| Postadres | Postpunt 30, Utrechtseweg 48, 3704 HE Zeist |
| E-mailadres | ██████████@tno.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741 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
-

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 1.7). 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 Proefdierdeskundige

Plaats Zeist

Datum 21 - 4 - 2015

Handtekening 



Centrale Commissie Dierproeven

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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. TNO Triskelion
- 1.3 Vul de titel van het project in. Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytiaal virus.

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.

Verkoudheid is een infectie van de bovenste luchtwegen (neusholte, neusbijholten, keel en strottenhoofd) en is de meest voorkomende infectieziekte bij mensen. Er zijn verschillende soorten virussen die een verkoudheid kunnen veroorzaken, waaronder rhinovirussen (30-80%), coronavirussen (10-15%), respiratoire syncytiele virussen, adenovirussen, para-influenzavirussen, enterovirussen. Het immuunsysteem is in staat de virusinfectie op te ruimen en veroorzaakt de symptomen van verkoudheid. Tegen verkoudheid is geen medicijn beschikbaar. Na een infectie ontstaat meestal een jarenlange immuniteit voor het specifieke virus. Omdat er zoveel verschillende virussen een verkoudheid kunnen veroorzaken, worden volwassenen gemiddeld 2-5 keer per jaar verkouden, kinderen zelfs 6-12 keer per jaar. Een verkoudheid is meestal niet ernstig. Bij ouderen, jonge kinderen en mensen met een verzwakt immuunsysteem kunnen echter ernstige complicaties optreden; bijkomende bacteriële infecties kunnen zich voordoen en leiden tot keel- of bijholteontsteking of een oorinfectie.

Dit projectvoorstel betreft onderzoek naar medicijnen en vaccins tegen respiratoir syncytieel virus (RSV). Van de genoemde verkoudheidsvirussen is dit de meest voorkomende omdat, in tegenstelling tot de meeste virussen, immuniteit tegen RSV niet levenslang is en dus gedurende het leven verschillende ziekte-episoden door RSV kunnen ontstaan. In zeer jonge kinderen kan besmetting met RSV leiden tot een infectie van de lagere luchtwegen (zoals de longen). RSV infectie kan in risicogroepen (premature baby's, kinderen jonger dan 2 jaar met een chronische longaandoening of hartproblemen, volwassenen ouder dan 65 en mensen met een verzwakt immuunsysteem door bijvoorbeeld een HIV-infectie, orgaantransplantatie of chemotherapie) een ernstig tot zeer ernstig verloop hebben waarbij ziekenhuisopname noodzakelijk is. RSV infecteert de epitheelcellen van de luchtwegen en het immuunsysteem is in staat het virus op te ruimen. Omdat geen levenslange immuniteit wordt opgebouwd, kunnen mensen dus meerdere keren geïnfecteerd raken met RSV. Buiten de medicijnen Ribavirin[®] en Synagis[®], is geen vaccin tegen RSV beschikbaar. Het antivirale middel Ribavirin[®] blijkt in de praktijk slechts beperkt werkzaam. Voor risicogroepen (leeftijd jonger dan 2 jaar) is een preventief medicijn beschikbaar, namelijk Synagis[®]. Dit medicijn wordt gedurende het RSV seizoen maandelijks toegediend. Synagis[®] wordt alleen toegediend aan risicogroepen ter voorkoming van resistentie van RSV tegen Synagis[®] en vanwege de hoge kosten van de behandeling. De farmaceutische industrie richt zich op het ontwikkelen van nieuwe medicijnen om ernstige RSV infectie te kunnen behandelen

en om de potentiële langetermijneffecten (terugkerende piepende ademhaling of astma) veroorzaakt door RSV te reduceren. Daarnaast is er behoefte aan de ontwikkeling van een vaccin dat levenslange bescherming biedt.

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 farmaceutische industrie ontwikkelt medicijnen om ernstige infectie met RSV te behandelen, alsook medicijnen en vaccins die langdurige bescherming bieden tegen RSV infectie. In de ontwikkeling van nieuwe medicijnen en vaccins zijn twee fasen te onderscheiden: Research & Development (R&D) en de preklinische fase. In de R&D fase worden nieuwe medicijnen/vaccins gekarakteriseerd en gescreend in diverse *ex vivo* en *in vitro* assays (zoals bijvoorbeeld binding assays en neutralisatie assays). Nieuwe medicijnen/vaccins die in deze fase effectiviteit laten zien, worden in de preklinische fase getest. Het preklinische onderzoek richt zich op de toedieningsroute, dosering, frequentie, (immunologisch) werkingsmechanisme, mogelijke bijwerkingen en de mogelijkheid tot combinatie van het nieuwe medicijn met andere therapieën (zogenaamde combinatietherapie). De resultaten van het preklinisch onderzoek worden gebruikt voor het registratiedossier dat voor toelating op de markt aan de registratieautoriteiten moet worden overlegd. Preklinisch onderzoek is o.a. gebaseerd op dierexperimenteel onderzoek. In dit project zullen kandidaten voor de behandeling van RSV in de preklinische fase worden geëvalueerd in een RSV muismodel. Hiertoe zal een gevalideerd muismodel worden ontwikkeld binnen onze instelling, waarna vaccins (profylactisch) en antivirale middelen en/of immunomodulators (therapeutisch) kunnen worden getest voor hun effectiviteit op het remmen van RSV infectie.

3.3 Belang

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

RSV infectie is een veelvoorkomende oorzaak van verkoudheid. In jonge kinderen kan RSV infectie snel overslaan naar de lagere luchtwegen en resulteren in een ernstiger verloop. Hoewel RSV infectie zelden leidt tot mortaliteit, kan een infectie in zeer jonge baby's ernstig verlopen. Volgens de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) heeft 25-40% van de voor het eerst geïnfecteerde kinderen symptomen van een bronchiolitis of een pneumonie. En voor 0.5-2% van de patiënten is ziekenhuisopname noodzakelijk (bron: Wereldgezondheidsorganisatie; WHO). Virale bronchiolitis is geassocieerd met terugkerende piepende ademhaling of astma. Het antivirale middel Ribavirin[®] is slechts beperkt werkzaam en preventieve behandeling met Synagis[®] wordt alleen gegeven aan kinderen uit risicogroepen. Synagis[®] moet herhaaldelijk worden toegediend tijdens het RSV seizoen en daardoor bestaat het risico dat resistentie optreedt. Daarnaast brengt dit hoge medische kosten met zich mee. Daarom wordt onderzoek gedaan naar een vaccin dat na eenmalige toediening levenslang beschermt, zonder dat resistentie optreedt. Daarnaast zoekt men ook naar een medicijn voor de therapeutische behandeling na infectie met RSV. Onderzoek naar nieuwe antivirale middelen, immuunmodulators en vaccins is dan ook noodzakelijk. Daarnaast is er ook een economisch belang: het beheersen van kosten van de gezondheidszorg. Bovendien worden de economische gevolgen van verkoudheid vaak onderschat: de kosten van voorgeschreven medicijnen, ziekmelding door mensen die verkouden zijn, ouders die niet kunnen werken omdat de kinderen ziek zijn etc.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Voor het testen van nieuwe therapieën tegen RSV maken we gebruik van een diersmodel. Nieuwe medicijnen of vaccins zullen altijd in meerdere diersmodellen worden getest alvorens ze worden getest in mensen. Wij maken gebruik van het muismodel. Diersmodellen vormen een cruciale link tussen de

mechanistische studies *in vitro* en klinische studies in mensen. De beschikbare diermodellen voor RSV zijn de muis, katoenrat en het schaap (Bem et al 2011, Woolums et al 2011). De katoenrat is een diermodel die een hoge translatie heeft naar de mens. De katoenrat is daarentegen moeilijk om te hanteren en huisvesten, dieren dienen individueel te worden gehuisvest en het ongerief is daarmee ook hoger (Niewiesk et al 2002). Dit maakt het lastig om meerdere condities (zoals verschillende medicijnen, doses of toedieningsroutes) te testen in één experiment. Muizen zijn daarentegen makkelijk te hanteren en huisvesten. Daarnaast is er een breed scala aan immunologische en moleculaire reagentia beschikbaar voor de muis. Het muismodel geeft de mogelijkheid verschillende condities (zoals doseringen en toedieningsroutes) te testen in één experiment en het werkingsmechanisme in detail te kunnen onderzoeken. Dit model is daarmee zeer geschikt als een screeningsmodel, waaruit geschikte kandidaten worden geselecteerd die verder worden ontwikkeld (en getest in diermodellen met een hogere transleerbaarheid, waaronder de katoenrat) voordat ze worden toegepast in de mens.

Het RSV muismodel zal eerst bij ons in-huis moeten worden gevalideerd. Er zijn een aantal bestaande modellen met verschillende RSV varianten, o.a. RSV-A2, RSV line19, RSV Long en andere klinische RSV varianten (Woolums et al 2011, Stokes et al 2011). De verschillen tussen de varianten uit zich in bijvoorbeeld de virale load in de longen, slijmproductie, cytokineproductie, gewichtsverlies. Aan de hand van de specifieke vraag van de opdrachtgever zal een keuze worden gemaakt voor het gebruik van het specifieke model. Wanneer een medicijn een effect heeft op de slijmproductie kan een RSV variant worden gekozen die een goede slijmproductie induceert. Indien een kandidaat medicijn met name de virusrepliatie remt kan een RSV variant worden gekozen die een goede replicatie in de longen laat zien. Indien zich nieuwe onbekende RSV varianten worden ontdekt in patiënten, dan kan de vraag zijn of kandidaat medicijnen bescherming bieden tegen deze nieuwe RSV varianten. De beoogde vraagstelling van de opdrachtgever bepaalt de keuze voor de te gebruiken RSV variant. Deze vraagstelling en keuze voor een specifiek RSV model zullen worden onderbouwd in het studieplan. Het muismodel in onze instelling zal worden gebaseerd op reeds bestaande modellen beschreven in de literatuur en zal worden gevalideerd d.m.v. kinetiek analyse van de virale infectie. Voor het bepalen van de effectiviteit van een nieuw medicijn/vaccin in vervolgstudies wordt het aantal virale deeltjes (virale load) in de longen bepaald op een bepaalde dag na infectie, afhankelijk van de kinetiek van de RSV infectie en het werkingsmechanisme van het medicijn/vaccin. RSV infecteert en replieert in het longweefsel. De virale load in de longen piekt tussen dag 3 en 6 na infectie en is binnen circa 8 dagen opgeruimd. Het bepalen van de virale load stelt ons in staat de effectiviteit van medicijnen op de ernst van de RSV infectie te bepalen. RSV infectie van muizen kan ook effect hebben op lichaamsgewicht, klinische verschijnselen en longfunctie, en deze dienen als secundaire uitleesparameter in het diermodel. Bij de validatie van het model zal worden bepaald wanneer de piek in de virale load is en zal het ziekteverloop in de muizen in kaart worden gebracht. Aan de hand van het ziekteverloop zullen humane eindpunten worden bepaald, hierbij wordt gedacht aan pompende ademhaling, blauwkleuring van de slijmvliezen, gewichtsverlies van meer dan 20%.

Aansluitend zullen RSV modellen worden gebruikt voor het testen van de effectiviteit van nieuwe antivirale middelen en/of vaccins door muizen te behandelen met de nieuwe therapieën voor- of nadat ze zijn geïnfecteerd met RSV. Afhankelijk van de specifieke RSV variant die wordt gebruikt voor de infectie kan op verschillende manieren de progressie van RSV infectie worden gevolgd. De uitleesparameters zijn onder andere, maar niet beperkt tot, virale load in de longen, gewicht, klinische verschijnselen, longfunctie, slijmproductie, longpathologie en immunologische uitleesparameters. RSV infectie in muizen is een niet-lethale infectie. Afhankelijk van de onderzoeksvraag zullen de dieren worden gevolgd gedurende ongeveer een week, eventueel langer indien het herstel van infectie of het effect op de longen na langere tijd wordt bestudeerd.

Het studie design van iedere individuele studie zal conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001); A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes) worden uitgevoerd.

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

1) Validatie van RSV muismodellen

Als eerste zal het RSV muismodel worden opgezet en gevalideerd. Hiertoe zullen dieren intranasaal worden geïnfecteerd (challenge) met één of meerdere doses van een bepaalde RSV variant. Bij de validatie van het model zal elke dag een groep dieren worden geëuthanaseerd en de virale load in de longen worden bepaald om de kinetiek van de infectie in kaart te brengen. De virale load in de longen is de maat voor de ernst van de RSV infectie en dus de

primaire uitleesparameter om remming door therapie te evalueren. Uit de literatuur is bekend dat de piek van de virale load ligt tussen dag 3 en dag 6 post-challenge. Het validatie experiment zal uitwijzen wanneer de longen moeten worden geanalyseerd in toekomstige RSV studies. Daarnaast zal ook het ziekteverloop in de dieren in kaart worden gebracht op basis van klinische verschijnselen, zodat humane eindpunten kunnen worden bepaald (mogelijke pompemde ademhaling, blauwkleuring van slijmvlies door benauwdheid, >20% gewichtsverlies). Hierna kan het model worden gebruikt voor het testen van nieuwe medicijnen/vaccins tegen RSV.

2) Testen van medicijnen (zowel therapeutisch als profylactisch) in het RSV muismodel, zoals

- Monoklonale antilichamen

De studies die onder dit onderzoeksvoorstel vallen, zijn erop gericht om breed beschermende antilichamen te onderzoeken op profylactische of therapeutische effectiviteit in virus challenge modellen.

- Kleine eiwitten

In dit onderzoeksvoorstel worden medicijnen ontwikkeld die uiteindelijk "needle free" zullen worden toegediend.

- Small molecules

Een andere benadering is het ontwikkelen van kleine moleculen (small molecules) met als doel om een medicijn tegen RSV te ontwikkelen dat oraal kan worden toegediend.

3) Testen van vaccins in het RSV muismodel (profylactisch)

Er worden diverse vaccinmodellen voor RSV onderzocht, zoals bijvoorbeeld een verzwakt virus, virosomes of een vaccin gericht tegen de structurele eiwitten van RSV, zoals het F-, G-, N-, of M2-eiwit. Verschillende strategieën worden gebruikt om deze eiwitten na te bouwen. Vaccinvarianten die *in vitro* succesvolle binding aan RSV laten zien of remming van RSV infectie in celweefsel systemen, worden vervolgens getest voor effectiviteit *in vivo*, gevolgd door beoordeling van de door het vaccin opgewekte immunorespons. Een manier om het vaccin te verbeteren is het toevoegen van een adjuvans. Adjuvantia kunnen een significante verbetering van de immunogeniciteit van vaccins laten zien, door zowel de humorale als de cellulaire immunorespons na immunisatie te verbeteren. Het doel is hierbij vaak om superioriteit aan te tonen ten opzichte van huidige adjuvantia (b.v. alumen-gebaseerd). In klinische onderzoeken is de veiligheid van b.v. saponine houdende vaccins aangetoond en is de immunorespons na vaccinatie verbeterd.

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.

Voordat een van bovenstaande nieuwe therapieën kan worden getest zal eerst het te gebruiken RSV diermodel in de muis worden gevalideerd. Bij het opzetten van het model met de betreffende RSV variant wordt het verloop van de virale load in de longen en het ziekteverloop van de dieren in kaart gebracht. Op basis hiervan wordt in vervolgexperimenten de dag voor isolatie van de longen bepaald en kunnen tevens humane eindpunten in kaart worden gebracht. Na het opzetten van een gevalideerd diermodel, zullen nieuwe medicijnen/vaccins worden getest, na profylactische en/of therapeutische toediening. De antivirale middelen of vaccins die RSV infectie remmen in het muismodel, zijn veelbelovende kandidaten voor verdere ontwikkeling en zullen ook in andere diermodellen (waaronder de katoenrat) worden getest.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen
2	
3	
4	
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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. TNO Triskelion
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--|
| 3.4.4.1 | Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen |
- 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.

Voor het testen van de effectiviteit van nieuwe antivirale middelen en vaccins zal gebruik worden gemaakt van een RSV muismodel. Het muismodel is een veelvuldig gebruikt model voor onderzoek naar RSV. De voordelen van muizen t.o.v. andere RSV diermodellen als katoenrat en schaap zijn de beschikbaarheid van reagentia voor de muis, verkrijgbaarheid en huisvesting van muizen (Bem et al 2011, Woolums et al 2011). Ondanks dat het een heteroloog model is, omdat de muis geen natuurlijke gastheer is voor humaan RSV, is RSV wel in staat de epitheelcellen in de longen te infecteren en daar te repliceren. Het aantal virale deeltjes (i.e. virale load) in de longen piekt tussen dag 3 en 6 en is na circa 8 dagen opgeruimd. Het herstel van het longweefsel zelf duurt echter langer en kan tot 14 dagen na initiële infectie duren (Mejías et al 2004). De muis vertoont over het algemeen milde klinische verschijnselen,

zoals pilo-erectie, benauwdheid en gewichtsverlies, maar de infectie kan ook zonder klinische symptomen verlopen. Daarom zijn klinische symptomen niet geschikt als primaire parameter om RSV infectie te monitoren, maar de gezondheid van de muizen zal wel nauwkeurig worden gevolgd. Virale load in de longen is de primaire uitkomstparameter voor het bepalen van de effectiviteit van nieuwe medicijnen en vaccins gericht tegen RSV. Deze nieuwe medicijnen/vaccins kunnen de virusrelicatie in de longen (direct of indirect) remmen. Afhankelijk van de te gebruiken RSV variant en de vraagstelling kunnen secundaire uitkomstparameters worden geanalyseerd zoals, maar niet beperkt tot, longfunctie, slijmproductie en longpathologie. Voordat nieuwe medicijnen of vaccins kunnen worden getest zal eerst het RSV muismodel (zoals beschreven in de literatuur) binnen onze instelling worden gevalideerd. Na het valideren van het muismodel, kan dit model gebruikt worden voor het testen van nieuwe medicijnen/vaccins. Voor het opzetten van het RSV muismodel zullen muizen intranasaal worden geïnfecteerd met RSV. Er is voor intranasale toediening gekozen omdat dit de natuurlijke route van infectie is bij de mens. De RSV infectie in muizen is een niet-lethaal model met over het algemeen milde klinische verschijnselen. De primaire uitleesparameter is de virale load in de longen. Daarnaast zullen de muizen dagelijks worden gewogen en worden geobserveerd voor het optreden van klinische verschijnselen. Bij de validatie van het muismodel zullen muizen intranasaal worden geïnfecteerd met RSV waarna op aangegeven dagen een groep muizen wordt geëthanaseerd en de virale load in de longen wordt bepaald. Dit zal bepalen wat de kinetiek is van de virale load na infectie. Deze validatiestudie zal ook worden gebruikt voor het uitvoeren van een statistische power-analyse voor opvolgende studies. Wanneer het model is gevalideerd kunnen nieuwe medicijnen/vaccins worden getest in het muismodel. Daartoe zullen muizen worden behandeld met één of meerdere doses van nieuwe medicijnen/vaccins. Tevens zal altijd een negatieve en positieve controlegroep (Synagis® of een andere werkzame stof) worden meegenomen. Muizen zullen een RSV infectie (challenge) krijgen op dag 0. Behandeling kan plaatsvinden op een of meerdere dagen voor- of nadat de dieren een RSV challenge krijgen. Dit wordt nader gespecificeerd in het studieplan. De dieren worden gevolgd voor een periode van 8 dagen, tenzij anders aangegeven in het studieplan. In het studieplan zal worden gespecificeerd welke medicijnen/vaccins en welke doseringen de muizen krijgen toegediend, hoe lang de studie duurt en of naast virale load ook secundaire uitleesparameters worden gebruikt.

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.

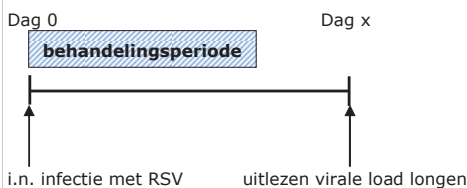
In een validatiestudie zal een grote groep muizen op dag 0 intranasaal worden geïnfecteerd met een bepaalde RSV variant. Klinische verschijnselen en lichaamsgewicht worden gevolgd om ziekte door RSV in kaart te brengen en de humane eindpunten te bepalen. Op basis van literatuur is bekend dat virale load in de longen tussen dag 3 en 6 na infectie maximaal is, waarna het virus wordt opgeruimd. Om te bepalen wat de kinetiek van RSV infectie in het te valideren model is, zullen op elke dag 5 geïnfecteerde muizen worden geëthanaseerd om de virale load in de longen te bepalen. De uitkomsten van deze validatiestudie zullen worden gebruikt om te bepalen op welke dag/dagen de virale load in vervolgstudies gemeten moet worden om de effectiviteit van medicatie te kunnen waarnemen. Door 5 muizen per tijdspunt te gebruiken, kan spreiding tussen de muizen op een betrouwbare manier in kaart worden gebracht. De resultaten van de validatiestudie worden vervolgens gebruikt voor de statistische power-analyse voor volgende studies.

De primaire uitleesparameter voor het testen van effectiviteit van nieuwe medicijnen/vaccins tegen RSV is de virale load in de longen. Daarnaast zullen ook klinische verschijnselen en lichaamsgewicht worden geanalyseerd. Afhankelijk van de vraagstelling in de studie zal een behandelingsstrategie met de (nieuwe) medicijnen worden opgesteld (door experts binnen het projectteam) en dit kan per studie variëren. Mogelijke variaties zijn: tijdstip van toediening, bijvoorbeeld profylactisch of therapeutisch (of een combinatie hiervan), éénmalig versus herhaalde toediening (met verschillen in tijdsduur van de intervallen tussen de toedieningen), toediening van combinaties van medicijnen, route van toediening (waaronder oraal, intranasaal, intramusculair, intratracheaal, intraveneus, intradermaal, subcutaan en sublinguaal, conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15-23 (2001))). Het finale studie design wordt door het project team (bestaande uit interne en externe experts) bepaald en (statistisch) onderbouwd en deze informatie dient als basis voor het studieplan van elke studie. Het studieplan zal verder alle details beschrijven die nodig zijn voor een goede ethische beoordeling, zoals doel van de proef,

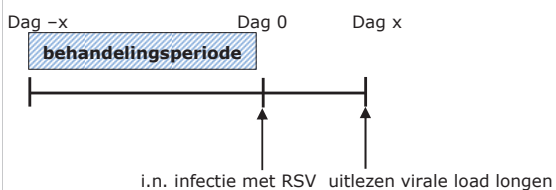
wetenschappelijke achtergrond, onderbouwing van de groepsgrootte, de RSV stam, beschrijving (statistische) analyse van studie data etc.

De proefopzet wordt bepaald door het te testen medicijn of vaccin. Wanneer medicijnen voor therapeutische behandeling worden getest, zal de behandeling plaatsvinden in de periode nadat de dieren zijn geïnfecteerd met RSV. Wanneer een profylactische behandeling met een vaccin of medicijn wordt uitgevoerd, zal de behandeling altijd plaatsvinden voordat de dieren worden geïnfecteerd met RSV. De positieve controle groep zal worden behandeld met een bestaand medicijn b.v. Synagis® of een andere stof met een bekende positieve werking. Als negatieve controle zullen muizen worden behandeld met de vehicle (drager) van de te testen medicijnen/vaccins. Omdat alle groepen worden vergeleken met de negatieve controlegroep zal de grootte van deze groep zo worden gekozen dat voldoende power wordt verkregen wanneer deze groep meerdere keren wordt gebruikt in de statistische analyse. Een schematische weergave van therapeutische en profylactische behandeling is hieronder aangegeven (N.B. het uiteindelijke design zal worden gespecificeerd in het studieplan).

Studie met therapeutische behandeling:



Studie met profylactische behandeling:



De biotechnische handelingen die toegepast worden in de challenge fase zijn dezelfde voor elke studie en worden hier onder beschreven:

Op dag 0 van de studie krijgen alle dieren een intranasale challenge met een dosis van x PFU (plaque forming units) van de geselecteerde RSV variant. RSV wordt intrasale toegediend onder narcose, om zowel de neus, trachea en longen (bovenste en onderste luchtwegen) te kunnen infecteren. De dieren zullen

onder anesthesie worden gebracht middels een voor het dier en model passend middel conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001)) en nader worden gespecificeerd in het studieplan. Na toediening van anesthesie krijgen de dieren 50 µL RSV toegediend, verdeeld in gelijke volumes van 25 µL per neusgat m.b.v. een pipet. De dieren worden op hun rug gehouden met het hoofd en de neus omhoog en 25 µL wordt toegediend aan het eerste neusgat. Nadat dit volledig is ingeademd, wordt op dezelfde manier de andere 25 µL in het tweede neusgat toegediend. De dieren worden nog in deze oriëntatie gehouden gedurende 15 seconden na doseren om ervoor te zorgen dat de gehele dosering wordt ingeademd. Voor het doseren van elk dier wordt een nieuwe, schone pipetpunt gebruikt.

De dieren worden gedurende een periode van ongeveer een week (gebaseerd op de resultaten van de validatiestudie en de vraagstelling, verder gespecificeerd in het studieplan) na infectie geobserveerd waarin lichaamsgewicht en klinische verschijnselen worden geregistreerd. (N.B.: indien het studiedesign het toelaat zullen de formuleringen met de medicijnen worden gecodeerd, zodat de biotechnici de studie dieren geblindeerd kunnen observeren). In iedere studie zal zowel een positieve als een negatieve controle groep worden meegenomen. De positieve controlegroep zal tijdens de behandelingsfase worden behandeld met Synagis®, of bij voortschrijdend inzicht een ander werkzaam middel. De negatieve controlegroep zal worden behandeld met vehicle (de drager van de te testen medicijnen).

Observaties en metingen

De observatie van klinische verschijnselen en lichaamsgewicht zal worden uitgevoerd volgens verschillende regimes afhankelijk van de pre- en post-infectiefase van de studie. De klinische verschijnselen ten gevolge van de RSV infectie kunnen de volgende zijn: benauwdheid, pilo-erectie, gebogen houding. Omdat de virale load in de longen piekt tussen dag 3 en 6 na infectie, zullen de klinische verschijnselen naar verwachting hiervoor zichtbaar zijn, omdat de ademhaling kan worden bemoeilijkt zodra door RSV infectie het longweefsel beschadigd raakt.

Klinische verschijnselen

Pre-infectie

Individuele dieren zullen worden geobserveerd voor het optreden van reacties op behandelingen alsook tekenen van ziekte of sterven. Observaties worden minstens eenmaal per dag uitgevoerd van de dag van indeling in de studie tot dag 0 (dag van infectie).

Post-infectie

Individuele dieren zullen worden geobserveerd voor het optreden van reacties op behandelingen alsook tekenen van ziekte of sterven. Observaties worden eenmaal of tweemaal per dag uitgevoerd (overdag, met een tijdsinterval van minstens 5 uur) afhankelijk van de resultaten uit de validatie studie(s), vanaf de dag van infectie tot het einde van de studie. Alle observaties, inclusief gedrag en individuele afwijkingen worden geregistreerd.

Lichaamsgewicht

Pre-infectie

Kort voor start van de studie zal voor elk dier het lichaamsgewicht worden bepaald, voor het indelen van dieren in de groepen. Dieren worden wekelijks gewogen van dag -x (voor doseren) tot dag 0 (voor infectie).

Post-infectie

Van dag 0 tot einde van de studie worden dieren dagelijks in de ochtend gewogen.

Bloedafname

Indien nodig wordt op bepaalde tijdstippen bloed afgenomen van geselecteerde groepen (details worden beschreven in het studieplan). Bloed zal worden afgenomen conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001)).

Euthanasie

De dieren worden geëuthanaseerd conform de code of good practice of een andere geaccepteerde methode uit richtlijn 2010/63/EU, bijlage IV. De longen zullen worden gespoeld voor het verkrijgen van broncho-alveolaire lavage en de longen zullen worden ingevroren voor het analyseren van de virale load en/of pathologie (details worden beschreven in het studieplan).

Biotechnische handelingen gerelateerd aan behandeling met (nieuwe) medicijnen

Overige handelingen, die specifiek zijn voor de behandeling met (nieuwe) medicijnen zullen voor iedere individuele studie in het studieplan worden beschreven, inclusief de inschatting van het ongerief door deze handelingen. Naar verwachting zal het totale ongerief per proefdier door RSV infectie (benauwd worden, maximaal matig ongerief) niet wordt verhoogd door deze 'overige' handelingen.

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

Het aantal dieren in de validatiefase (5 muizen per tijdstip) komt overeen met beschrijvingen uit de literatuur (Mejías et al 2005, Lukacs et al 2006, Olszewska et al 2011, Mejías et al 2011). Als uit de validatiestudies blijkt dat dit aantal onvoldoende power geeft, zal dit worden aangepast in de vervolgstudies en nader worden toegelicht in het studieplan. Omdat alle groepen worden vergeleken met de negatieve controlegroep zal de grootte van deze groep zo worden gekozen dat voldoende power wordt verkregen wanneer deze groep meerdere keren wordt gebruikt in de statistische analyse.

B. De dieren

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

Voor het muismodel wordt bij voorkeur gebruikt gemaakt van vrouwelijke BALB/c muizen. Vrouwelijke BALB/c muizen worden wereldwijd gebruikt voor studies met RSV en RSV infectie verloopt efficiënter in BALB/c muizen t.o.v. C57BL/6 muizen. Daar waar het noodzakelijk is om een andere muizenstam te gebruiken zal dit in het studieplan worden toegelicht.

Tenzij anders vermeld in het studieplan, zullen muizen van 6-8 weken oud bij aanvang van de studie worden gebruikt. Het totaal aantal dieren per studie kan variëren en is afhankelijk van het aantal groepen en de groepsgrootte. Het aantal groepen in een studie wordt bepaald door de vraagstelling en de groepsgrootte wordt bepaald aan de hand van de validatiestudie. Gebaseerd op een verwacht aantal studies van 10-12 per jaar met 80-150 dieren wordt het maximaal aantal dieren op maximaal 9000 geschat over een periode van 5 jaar (12 studies x max. 150 dieren x 5 jaar).

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.

De medicijnen die in RSV muismodellen getest worden, zijn geselecteerd op basis van *in vitro/ex vivo* efficacy experimenten. Alternatieven voor het nabootsen RSV infectie, bijvoorbeeld d.m.v. cel- of weefselkweek leveren een incompleet beeld van de effectiviteit van nieuwe medicijnen/vaccins. Het immuunsysteem is een dynamisch complex netwerk van diverse cellen en mediators. Bij RSV infectie heeft het immuunsysteem interactie met RSV en met het omringende longweefsel. Het is vooralsnog onmogelijk dit volledig na te bootsen *in vitro* of in "lagere" diersoorten. Vermindering van het aantal dieren kan op termijn aan worden gedacht als blijkt dat variatie binnen de groepen zeer klein is. Hierbij moet gedacht worden aan verkleinen van groepsgrootte. Daarnaast kunnen nieuwe ontwikkelingen in technieken zorgen voor verfijning van het model, daarbij wordt gedacht aan bijvoorbeeld non-invasieve imaging methodes.

Met behulp van statistiek wordt bepaald wat de optimale groepsgrootte is in deze experimenten, zodat met minimale hoeveelheid proefdieren de onderzoeksvraag kan worden beantwoord.

De proefdierstudies worden uitgevoerd volgens een vooraf vastgelegd protocol en door getrainde medewerkers. Hierdoor kent de dierproef een maximale kwaliteit, en worden stress en ongemak voor de proefdieren zo laag mogelijk gehouden. De RSV infectie kan een nadelig effect hebben op het welzijn van de muizen en daarom wordt hun gezondheid dagelijks gecontroleerd. Er zijn heldere afspraken om het ongerief voor de dieren zo veel mogelijk in te perken, muizen die meer dan matig ongerief ondervinden, worden uit de proef genomen op basis van de humane eindpunten die in de validatiestudie worden bepaald.

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.

Er zal anesthesie worden toegepast bij de muizen conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001)).

De kans op nadelige milieueffecten worden beperkt door de experimenten uit te voeren onder biosafety level 2 (BSL-II) condities i.v.m. het gebruik van RSV varianten.

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.

N.v.t. dit is geen wettelijk vereist onderzoek

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?

Eénmalige intranasale toediening van RSV onder verdoving: licht ongerief

Benauwd worden als gevolg van de RSV infectie: matig ongerief

Dagelijks wegen: licht ongerief

Behandeling met teststof: maximaal matig ongerief

Evt een of meermalen afnemen van bloed: licht ongerief

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

RSV infecteert het longweefsel, waardoor dit beschadigd raakt en het ademen kan worden bemoeilijkt en de dieren benauwd kunnen worden.

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

Er worden geen maatregelen genomen om deze effecten te voorkomen. De benauwdheid dient als (secundaire) uitleesparameter.

Wanneer er dieren zijn die door verzwakking niet meer bij voer/water kunnen, worden voerkorrels en hydrogel (steriel water gel voor hydratatie (98% puur

water) op de bodem van de kooi 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.

Het optreden van zeer ernstige benauwdheid, dit wordt bepaald aan de hand van pompende ademhaling en/of blauwkleuring van de slijmvliezen.

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

In de validatiefase zal dit naar verwachting niet meer dan 20% zijn. De infectiedosis en dag van euthanaseren worden zo gekozen dat in de fase van testen van medicijnen naar verwachting minder dan 5% deze criteria 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.

De negatieve controlegroep zal benauwd worden ten gevolge van de RSV infectie, door de moeizamere ademhaling wordt dit ingeschat op matig ongerief. De positieve controle groep kent licht ongerief, doordat Synagis[®] virale infectie remt. De groepen behandeld met teststof zullen naar verwachting licht **tot** **matig** ongerief ondervinden. Naar verwachting zal ongeveer 50% van de dieren licht ongerief en 50% matig ongerief ondervinden.

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.

De primaire uitleesparameter is virale load in de longen, waarvoor de longen worden geïsoleerd na euthanaseren van de dieren.

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:
2. Titel van het project: Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytieel virus.
3. Titel van de NTS: Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytieel virus.
4. Type aanvraag:
 - X nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC-TNO
 - telefoonnummer contactpersoon: 088 [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - X ontvangen door DEC 25-3-2015
 - aanvraag compleet NVT
 - x in vergadering besproken op 1-4-2015
 - X anderszins behandeld 10-4-2015 (emailronde) en 17-4-2015 (emailronde)
 - X termijnonderbreking(en) van 3-4-2015 tot 10-4-2015 en 16-4-2015 tot 17-4-2015
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen NVT
 - X aanpassing aanvraag versie nummer (3)
 - X advies aan CCD 21-4-2015
7. Eventueel horen van aanvrager
 - Datum **1-4-2015**
 - Plaats **Leiden**
 - Aantal aanwezige DEC-leden **6 (inclusief voorzitter)**

- Aanwezige (namens) aanvrager **Verantwoordelijk Onderzoeker**
- Strekking van de vraag / vragen:

De volgende vragen zijn mondeling bediscussieerd met de verantwoordelijk onderzoeker en vervolgens in twee email rondes beantwoord.

- 1. Hoe verhoudt zich de data uit een muismodel in het traject van de ontwikkeling van een vaccin en/of een medicijn bij/tegen een RSV infectie?**
- 2. Welke modellen zijn er voor onderzoek naar RSV? Wat zijn de voor en nadelen van elk, en waarom wordt in dit geval voor de muis gekozen? Denk hierbij ook aan de translatie naar de mens.**
- 3. Wat bepaalt de keuze van een bepaalde RSV variant en wat bepaalt welke groepen nodig zijn om een goed resultaat te mogen verwachten?**
- 4. Bij de keuze van de viral load meting op de hoogst te verwachten dag, wordt er rekening gehouden met een eventuele verschuiving van de piek?**
- 5. Wat is de strategie voor het bepalen van de proefopzet en het te gebruiken aantal dieren?**

- Strekking van het (de) antwoord(en)

Zie vraag 8

- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
Ja

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum **3-4-2015 en 16-4-2015**
- Strekking van de vraag / vragen **Zie punt 7 horen aanvrager**
- Datum antwoord **10-4-2015**
- Strekking van het (de) antwoord(en)

1. De onderzoeker heeft de plaats van de muis in de ontwikkeling van medicatie en vaccins nu duidelijk beschreven in het projectvoorstel. Het is de DEC helder dat alleen stoffen die effectief blijken in de ex vivo en in vitro assays, getest worden in één of meerdere muizenstudies. Bij effectieve stoffen in de muizenstudies zal nog een vervolg fase in diermodellen (muis of andere) nodig zijn om de stof weer een stap verder te brengen in de ontwikkeling van een medicijn of vaccin.
2. De onderzoeker heeft meer inzicht gegeven in de voor en nadelen van de verschillende diermodellen in de projectaanvraag. Het is de DEC nu duidelijk waarom in deze screeningsfase muizen worden ingezet om te bepalen welk medicijn of vaccin in aanmerking komt voor verdere ontwikkeling richting de kliniek.
3. De onderzoeker heeft in de projectaanvraag gespecificeerd hoe de keuze voor de RSV variant en de proefopzet wordt bepaald door de onderzoeksvraag en het te testen medicijn of vaccin van de opdrachtgever.
 - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag **Ja**
 - Datum 2^e antwoord **16-4-2015**

Strekking van het (de) antwoord(en) **De DEC heeft in een 2e email ronde een adequaat antwoord op de vragen 4 en 5 gekregen.**
4. De onderzoeker neemt de suggestie van de DEC over in de projectaanvraag en verklaart dat op basis van het werkingsmechanisme zal worden bepaald of het noodzakelijk is op één of meerdere dagen de virale load te bepalen.
5. De onderzoeker heeft de statistische strategie aangepast in het projectvoorstel. Het studiedesign hangt af van de fase van ontwikkeling van het medicijn of het vaccin. Het werkingsmechanisme bepaalt hoeveel verschillende groepen meegenomen moeten worden. Daarmee begrijpt de DEC dat de

grove schatting, van 80-150 dieren per studie, zowel de validatie (met verschillende tijdstippen) en het uiteindelijke experiment bevat. De DEC is ervan overtuigd dat op het moment dat bij het indienen van het studieplan het design goed getoetst kan worden door de IvD.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag **JA**
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **NVT**
- 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 (dierproeven in de zin der wet)
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.

Alle leden hebben allen onafhankelijk en onpartijdig deel kunnen nemen aan de advisering mbt het betreffende project

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)

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **substantieel** belang.

De DEC heeft uitgebreid gediscussieerd over het belang van deze aanvraag. Belanghebbende in dit onderzoek zijn de patiënten en hun familie. Zij hebben een belang met betrekking tot hun welzijn en het behandeld kunnen worden tegen RSV. Andere belanghebbende van dit project zijn gezonde mensen. Voor gezonde mensen is er een belang om niet ziek te worden. Is het belang van de uitkomst van dit project vooral een belang voor gezonde mensen die daardoor uiteindelijk minder last hebben van verkoudheid of is het belang voornamelijk voor risicogroepen in de samenleving voor wie een RSV infectie tgv bacteriële complicaties een ernstig tot dodelijk ziekteverloop tot gevolg kan hebben. Uiteindelijk is de DEC unaniem eens geworden dat het totaal belang substantieel is, met daarbij doorslaggevend dat een RSV infectie voor jonge kinderen zelfs tot ziekenhuisopname kan lijden en dat de huidig beschikbare medicatie beperkingen heeft. Daardoor schat de DEC het belang van het onderzoek doen naar nieuwe medicatie mogelijkheden tegen en ter behandeling van RSV van substantieel belang is.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project

De onderzoekers hebben ervaring met het opzetten van infectiemodellen. Zij beschrijven dat het model in-huis gevalideerd moet worden, dat er verschillende RSV varianten zijn en dat de modelkeuze afhankelijk is van de vraag van de opdrachtgever. Na een vraag van de DEC blijkt dat de testfase in het muizenmodel onderdeel is van een hele keten van experimenten die al plaatsgevonden hebben voorafgaand aan dit onderzoek en ook nog plaats zullen vinden na dit project om daarmee de potentiële medicijnen en vaccins dichterbij de klinische toepassing te brengen. Daardoor is de vraag van de opdrachtgever de aanleiding voor het valideren van en het testen in een muizenmodel. Bij het opzetten van de ziektemodellen wordt rekening gehouden met de belangrijkste parameters die gemeten moeten worden in het model op basis van de verwachte werkzaamheid van de medicijnen of vaccin. Daarnaast worden zowel positieve als negatieve controle groepen meegenomen om de werking tegen af te kunnen zetten. Ook wordt er doormiddel van een grotere controle groep een hogere power behaald bij het afzetten van meerdere proefgroepen tegen de controles. De DEC is er van overtuigd dat met deze strategie en de expertise van de onderzoekers het mogelijk is om binnen de gestelde termijn medicijnen en vaccins te testen tegen het RSV virus in een muizenmodel.

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

Het ongerief is door de onderzoeker ingeschat als licht voor de helft van de dieren en matig voor de andere helft van de dieren. De DEC is van mening dat dit een realistische inschatting is. De dieren die licht ongerief ondervinden zullen behandeld worden met medicatie en er zullen kort durende biotechnische handelingen aan de dieren gedaan worden zoals bloedafname. De dieren die matig ongerief ondervinden zullen naast medicatie of controle behandeling ook een infectie ondergaan. Bekend is dat het RSV virus in de muis geen ernstig verloop heeft, maar de dieren zullen wel benauwd kunnen zijn. De dieren die ziek kunnen worden, worden derhalve dagelijks gemonitord om zo te voorkomen dat de dieren meer dan matig ongerief ondervinden.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. **Nee**

Het is in dit stadium van medicatie en vaccin ontwikkeling van belang om potentiële compounds te testen in een levend dier met een intact immuunsysteem. Het testen van de compounds gebeurt voor of na het toedienen van een infectie om de werking van deze medicatie of vaccins in vivo te kunnen beoordelen. Uit de strategie blijkt dat dit onderzoek onderdeel is van een keten waarin voor deze in vivo stap al in vitro screenings methoden zijn toegepast.

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.

De DEC is van mening dat het aantal dieren welke nodig zijn voor het uittesten van een potentieel medicijn of vaccin realistisch is. De

inschatting van het totale aantal dieren op basis van de marktvraag is lastig in te schatten maar een mogelijk scenario. Er worden voldoende extra dieren aangevraagd voor validatie van het model en eventuele uitval. De DEC acht het aantal daarvoor gevraagde dieren voldoende onderbouwd. Daarnaast zullen alleen de dieren gebruikt worden die daadwerkelijk nodig zijn, als er geen marktvraag is dan worden de dieren ook niet gebruikt.

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

De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Er wordt veel aandacht besteed aan de Humane Eindpunten en de consensus documenten met betrekking tot goede praktijk van het doen van dierproeven worden veelvuldig gebruikt.

10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd

De DEC is van mening dat de NTS een zeer goede weergave is van het project, maar de formulering is op sommige punten wat lang en lastig (bijvoorbeeld de titel).

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

Op grond van de onder C genoemde overwegingen is de DEC unaniem van mening dat het belang van de doelstelling, namelijk werken naar medicatie en vaccins tegen het RSV virus substantieel is en opweegt tegen het lichte en/of matige ongerief dat maximaal 150 dieren per potentiële medicatie of vaccin in dit onderzoek zullen ondervinden. De DEC acht vertaling van de resultaten naar de mens in de volledige lijn van dergelijk onderzoek mogelijk. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd 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

Het advies is gebaseerd op consensus.

Advies DEC-TNO



Centrale Commissie Dierproeven

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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder Respiratoir syncytieel virus
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Verkoudheid; virale infectie; respiratoir syncytieel virus; vaccins; antivirale middelen

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	<input type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> 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)	<p>Respiratoir syncytiaal virus (RSV) is één van de virussen die een verkoudheid kunnen veroorzaken. Verkoudheid is een aandoening van de bovenste luchtwegen (neusholte, neusbijholten, keel en strottenhoofd) en is de meest voorkomende infectieziekte bij mensen. Bij ouderen, jonge kinderen en mensen met een verzwakt afweersysteem kunnen ernstige complicaties optreden; bijkomende bacteriële infecties kunnen leiden tot een keel-, bijholte- of oorontsteking.</p> <p>In zeer jonge kinderen kan besmetting met RSV leiden tot een ontsteking van de lagere luchtwegen (zoals de longen). RSV infectie kan in risicogroepen (vroeggeboren baby's, kinderen jonger dan 2 jaar met een chronische longaandoening of hartproblemen, volwassenen ouder dan 65 en mensen met een verzwakt afweersysteem door bijvoorbeeld een HIV-infectie, orgaantransplantatie of chemotherapie) een ernstig tot zeer ernstig verloop hebben waarbij ziekenhuisopname noodzakelijk is. Omdat geen levenslange immuniteit tegen RSV wordt opgebouwd, kunnen mensen meerdere keren geïnfecteerd raken. Er zijn twee medicijnen beschikbaar waarvan één in de praktijk slechts beperkt werkzaam is. Het andere medicijn wordt alleen gegeven aan risicogroepen (leeftijd jonger dan 2 jaar) ter voorkoming van resistentie van RSV en vanwege de hoge kosten van de behandeling. Er is dus behoefte aan nieuwe medicijnen die in staat zijn een ernstige infectie te behandelen en aan medicijnen of vaccins om te voorkomen dat infecties kunnen aanslaan (preventieve bescherming). Voordat nieuwe medicijnen kunnen worden getest in mensen, moet de effectiviteit en veiligheid eerst getest worden in dieren. Hiertoe zal een RSV muismodel worden ontwikkeld binnen onze instelling. Met dit model kan de beschermende werking van vaccins en therapeutische werking van antivirale middelen tegen RSV infectie onderzocht worden. De muizen zullen worden behandeld met de nieuw ontwikkelde vaccins of antivirale middelen voor- (preventieve bescherming) of nadat (therapeutische behandeling) ze RSV krijgen toegediend. Het effect van de preventieve of therapeutische behandeling op de RSV infectie zal worden bepaald door de hoeveelheid virus in de longen van de muizen te bepalen.</p>
---	--

[

3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De proefdierstudies die worden uitgevoerd, leveren een belangrijke bijdrage aan de ontwikkeling van medicijnen voor de behandeling van en vaccins voor de bescherming tegen virale infecties aan de luchtwegen, zoals RSV. Nieuwe medicijnen die na toediening aan de muizen een verlaging van de hoeveelheid virus in de longen laten zien, zijn potentiële kandidaten voor verdere ontwikkeling voor toepassing in de mens.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Naar schatting zullen we per experiment maximaal 150 muizen gebruiken.
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De dieren zullen worden geïnfecteerd met RSV. De behandelingen die de dieren krijgen, zullen hooguit licht ongerief veroorzaken. Het ongerief dat de dieren ondervinden door benauwdheid ten gevolge van de RSV infectie wordt ingeschat op matig. Wanneer dieren worden behandeld met een medicijn of vaccin wat in staat is de RSV infectie te remmen of voorkomen, zal het ongerief lager zijn.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	50% licht ongerief, 50% matig ongerief
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden op humane manier gedood voor het bepalen van de hoeveelheid virus in de longen.

4 Drie V's

4.1	Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen	Alternatieven voor het nabootsen van de effecten op RSV door middel van celkweek in 'kweekbakjes' (in vitro) geven geen compleet beeld om de effectiviteit van nieuwe medicijnen en vaccins te kunnen beoordelen. Het afweersysteem is een ingewikkeld netwerk van diverse cellen en omgevingsfactoren. Het is vooralsnog onmogelijk dit volledig na te bootsen in vitro. Voor het onderzoeken van het effect van nieuwe medicijnen en vaccins op de RSV infectie is een volledig functioneel afweersysteem nodig en kan daarom alleen in levende dieren uitgevoerd worden.
-----	--	---

[

worden.

4.2 Vermindering

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

Met behulp van statistiek wordt bepaald wat de optimale groeps grootte is in deze studies, zodat met minimale hoeveelheid proefdieren de onderzoeksvraag kan worden beantwoord.

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.

Voor het testen van de effectiviteit van nieuwe antivirale middelen en vaccins zal gebruik worden gemaakt van een RSV muismodel. Diermodellen vormen een cruciale link tussen de mechanistische studies die in vitro worden uitgevoerd en klinische studies in mensen. Het testen van nieuwe medicijnen of vaccins gebeurt in meerdere diermodellen omdat ieder diermodel andere waardevolle informatie geeft. De voordelen van muizen t.o.v. andere RSV diermodellen zoals de katoenrat en het schaap zijn verkrijgbaarheid en praktische huisvesting van muizen. Het muismodel leent zich uitstekend voor het testen van meerdere condities. Ondanks dat de muis geen natuurlijke gastheer is voor RSV, is het virus in staat de cellen in de longen te infecteren en zich daar te vermenigvuldigen. De muis vertoont over het algemeen milde ziekteverschijnselen.

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

De proefdierstudies worden uitgevoerd volgens een vooraf vastgelegd protocol en door getrainde medewerkers. Hierdoor kent de dierproef een maximale kwaliteit, en worden stress en ongemak voor de proefdieren zo laag mogelijk gehouden. De RSV-infectie kan een nadelig effect hebben op het welzijn van de muizen en daarom wordt hun gezondheid dagelijks gecontroleerd.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO Triskellon BV

Postbus 844
3704 HE Zeist

**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
[AVD504002015107](#)

Uw referentie

Bijlagen

Datum 23 April 2015
Betreft Aanvullende informatie vergunningsaanvraag

Geachte [REDACTED]

Op 21 April 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om het project "Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder RSV" met aanvraagnummer AVD504002015107.

Welke informatie nog nodig

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

-U geeft in de bijlage beschrijving dierproeven aan dat de muis over het algemeen slechts milde klinische verschijnselen, zoals pilo-erectie, benauwdheid en gewichtsverlies, vertoont en dat de infectie ook zonder klinische symptomen kan verlopen. U geeft ook aan dat klinische symptomen daarom niet geschikt zijn als primaire parameters om RSV infectie te monitoren in de muis. Om de geschiktheid van de door u gekozen diersoort, de muis, te kunnen beoordelen, wordt u verzocht toe te lichten in hoeverre de muis, gezien de beperkte klinische verschijnselen en de mate van virusreproductie, gebruikt kan worden om het effect van specifieke medicijnen op het door RSV geïnduceerd klinisch fenotype te bestuderen.

- In de bijlage beschrijving dierproeven geeft u aan dat u mogelijk gebruik wilt maken van andere muizenstammen. U geeft echter ook aan dat RSV infectie efficiënter verloopt in BALB/C muizen dan andere muizenstammen. Om inzicht te krijgen in de geschiktheid van het door u gekozen modelsysteem en de haalbaarheid van uw project, wordt u verzocht toe te lichten op basis van welke criteria u zult besluiten gebruik te maken van een andere muizenstam. U wordt ook verzocht de bruikbaarheid van alternatieve muizenstammen toe te lichten en deze te specificeren.

-U geeft in de bijlage beschrijving dierproeven aan dat bij voorkeur gebruik wordt gemaakt van vrouwelijke muizen. Om inzicht te krijgen in de hoeveelheid in

voorraad gedode dieren, wordt u verzocht aan te geven waarom geen gebruik gemaakt kan worden van mannelijke muizen en in hoeverre de mannelijke muizen in voorraad gedood zullen worden.

Datum
23 April 2015
Onze referentie
AVD504002015107

-U geeft aan dat per studie tussen de 80 en 150 dieren nodig zijn. Om, in het kader van vermindering, inzicht te krijgen in de totstandkoming van dit aantal, wordt u verzocht, voor elke vraagstelling, de verschillende groepen te beschrijven.

-U geeft aan dat u verschillende RSV varianten wilt gaan gebruiken die elk een ander klinisch fenotype induceren. Om de haalbaarheid van uw project en het cumulatieve ongerief van de dieren te kunnen beoordelen, wordt u verzocht aan te geven voor welk doel u welke variant wilt gaan gebruiken. U wordt tevens verzocht aan te geven, op basis van de literatuur, welke klinische fenotypes de te testen varianten hebben en in hoeverre deze verschillende fenotypes zullen leiden tot meer of minder ongerief bij de dieren.

-U geeft, in de bijlage beschrijving dierproeven, aan dat u, afhankelijk van de vraagstelling, verschillende secundaire parameters wilt bestuderen. Ook geeft u aan dat er, indien noodzakelijk, 'overige' handelingen zullen worden uitgevoerd. Om de haalbaarheid van uw project en de ongeriefclassificatie te kunnen beoordelen, wordt u verzocht voor elk van de vraagstellingen te beschrijven welke secundaire paramaters bestudeerd kunnen worden, welke handelingen aan het levende dier daarvoor noodzakelijk zijn, inclusief de frequentie van de handelingen, welk percentage van de dieren naar verwachting deze handelingen zal ondergaan en in welke mate deze handelingen het cumulatief ongerief van de dieren zal beïnvloeden. U wordt ook verzocht, voor de verschillende vraagstellingen, de mogelijke 'overige' handelingen aan de dieren te beschrijven. U dient hierbij aan te geven welk percentage dieren, naar verwachting, deze handelingen zullen ondergaan en in welke mate dit het cumulatief ongerief van de individuele dieren zal beïnvloeden.

-In uw projectvoorstel geeft u aan dat, afhankelijk van de onderzoeksvraag, dieren voor verschillende perioden gevolgd zullen worden na de infectie. Om inzicht te kunnen krijgen in het cumulatieve ongerief van individuele dieren, wordt u verzocht te beschrijven op basis van welke criteria besloten zal worden hoe lang de dieren gevolgd gaan worden. Daarnaast wordt u verzocht toe te lichten of en op welke wijze dieren die langer gevolgd gaan worden andere of meer handelingen zullen ondergaan dan dieren die voor maximaal een week gevolgd zullen worden. U wordt ook verzocht aan te geven of en in welke mate een langere volgperiode, en bijbehorende handelingen, zal leiden tot meer ongerief. Indien meer ongerief te verwachten is, wordt u verzocht aan te geven voor welk percentage van de dieren dit zal gelden.

-In de bijlage dierproeven beschrijft u een aantal verschillende methoden voor toediening van stoffen. U wordt verzocht aan te geven op basis van welke criteria voor welke toedieningsvorm, gekozen gaat worden. Het cumulatief ongerief van de individuele dieren wordt mede bepaald door de gekozen methode van toediening en de frequentie van toediening. U wordt daarom verzocht aan te geven welk percentage van de dieren, naar verwachting, welke handelingen zullen ondergaan en in welke mate dit het cumulatief ongerief van de dieren zal beïnvloeden.

Tenslotte wordt u verzocht in uw NTS het totale aantal dieren weer te geven.

Opsturen informatie

U heeft 14 dagen de tijd om de ontbrekende informatie op te sturen. De CCD zou uw aanvraag graag tijdens haar eerstvolgende vergadering bespreken. De CCD zou de gevraagde informatie derhalve graag uiterlijk dinsdag 28 april 2015 van u ontvangen. U kunt deze informatie onder vermelding van het aanvraagnummer (AVD504002015107) aanleveren via NetFTP of per post. Indien u de informatie per post verstuurd, gebruik dan het bijgevoegde formulier.

Datum

23 April 2015

Onze referentie

AVD504002015107

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. 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.

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
- 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

Hieronder vindt u in rood de antwoorden op de vragen van de CCD met referentie AVD504002015107.

-U geeft in de bijlage beschrijving dierproeven aan dat de muis over het algemeen slechts milde klinische verschijnselen, zoals pilo-erectie, benauwdheid en gewichtsverlies, vertoont en dat de infectie ook zonder klinische symptomen kan verlopen. U geeft ook aan dat klinische symptomen daarom niet geschikt zijn als primaire parameters om RSV infectie te monitoren in de muis. Om de geschiktheid van de door u gekozen diersoort, de muis, te kunnen beoordelen, wordt u verzocht toe te lichten in hoeverre de muis, gezien de beperkte klinische verschijnselen en de mate van virusreplicatie, gebruikt kan worden om het effect van specifieke medicijnen op het door RSV geïnduceerd klinisch fenotype te bestuderen.

Het effect van de medicijnen of vaccins op de klinische verschijnselen is niet het doel van de aanvraag. RSV is in staat de epitheelcellen in de longen van de muis te infecteren en daar te repliceren. De virale load piekt na 3-6 dagen na infectie en is opgeruimd na 8 dagen. Dit maakt het model geschikt om het effect van nieuwe medicijnen of vaccins op de replicatie van het virus in de longen te meten. Dit is een eerste vereiste waaraan een medicijn of vaccin moet voldoen voor verdere ontwikkeling voor toepassing in de mens.

Dit is toegevoegd in deel A van de beschrijving dierproeven.

- In de bijlage beschrijving dierproeven geeft u aan dat u mogelijk gebruik wilt maken van andere muizenstammen. U geeft echter ook aan dat RSV infectie efficiënter verloopt in BALB/C muizen dan andere muizenstammen. Om inzicht te krijgen in de geschiktheid van het door u gekozen modelsysteem en de haalbaarheid van uw project, wordt u verzocht toe te lichten op basis van welke criteria u zult besluiten gebruik te maken van een andere muizenstam. U wordt ook verzocht de bruikbaarheid van alternatieve muizenstammen toe te lichten en deze te specificeren.

Op dit moment en met de huidige kennis is de BALB/c muis het meest geschikte dier voor deze studies. Ontwikkelingen in muizenstammen gaan heel snel en binnen de termijn van deze aanvraag zou een andere stam voordelen kunnen hebben boven de BALB/c muis. Ook kan het zijn dat een opdrachtgever kennis heeft opgedaan in een voortraject in een andere muizenstam dan de BALB/c muis. Om resultaten te kunnen vergelijken en niet onnodig extra controles mee te moeten nemen, kan het dan de voorkeur hebben om door te gaan in een andere muizenstam. Mocht een van deze zaken aan de orde komen dan zullen wij onze overwegingen hierover voorleggen aan de IvD.

Dit is toegevoegd aan deel B van de beschrijving dierproeven.

-U geeft in de bijlage beschrijving dierproeven aan dat bij voorkeur gebruik wordt gemaakt van vrouwelijke muizen. Om inzicht te krijgen in de hoeveelheid in voorraad gedode dieren, wordt u verzocht aan te geven waarom geen gebruik gemaakt kan worden van mannelijke muizen en in hoeverre de mannelijke muizen in voorraad gedood zullen worden.

Verhoogde gevoeligheid in de luchtwegen na methacholinebehandeling is beschreven voor mannelijke muizen t.o.v. vrouwelijke muizen (Card et al 2006). Omdat het hier gaat om een infectie aan de luchtwegen gaat de voorkeur uit naar vrouwelijke muizen zodat er minder muizen per groep nodig zijn om de resultaten te behalen. Dit is toegevoegd aan deel B van de beschrijving dierproeven.

Wij zijn ons bewust van de keuze voor alleen vrouwelijke muizen, maar doordat met deze beperking minder dieren ongerief ondervinden weegt het ongerief dat de dieren kunnen ondervinden in deze studies in op tegen de eventuele mogelijkheid dat een deel van de muizen niet besteld wordt bij de fokker en dus ongebruikt doodgemaakt moet worden. Overigens hebben wij een dierproevenbeleid waarbij het terugdringen van in voorraad gedode dieren een belangrijk speerpunt is. Met betrekking tot dieren die wij van erkende fokkers afnemen uit zich dit in het uitvoeren audits bij deze leveranciers waarbij gevraagd wordt naar hoe zij hiermee omgaan.

-U geeft aan dat per studie tussen de 80 en 150 dieren nodig zijn. Om, in het kader van vermindering, inzicht te krijgen in de totstandkoming van dit aantal, wordt u verzocht, voor elke vraagstelling, de verschillende groepen te beschrijven.

De verschillende groepen die worden opgenomen zijn afhankelijk van aantal te testen nieuwe medicijnen en/of de hoeveelheid doses die worden getest. Daar waar mogelijk zullen controlegroepen worden gecombineerd binnen een studie om het totaal aantal dieren te verminderen. Bovendien is het soms mogelijk om de proefopzet zo te kiezen dat gewerkt wordt met ongelijke groeps grootte. Hierdoor wordt de power verhoogd terwijl het totaal aantal dieren verlaagd kan worden.

In het validatie-experiment zullen 5 dieren per groep worden gebruikt. Hieronder volgt een voorbeeld.

Groep	N	RSV	euthanaseren
1	5	Dag 0	Day 1
2	5	Dag 0	Day 2
3	5	Dag 0	Day 3
4	5	Dag 0	Day 4
5	5	Dag 0	Day 5
6	5	Dag 0	Day 6
7	5	Dag 0	Day 7
8	5	Dag 0	Day 8

Totaal 40 dieren

Afhankelijk van de spreiding van de virale load tussen muizen zullen naar verwachting 5-10 dieren per groep worden gebruikt in experimentele studies. Dit zal, zoals in de beschrijving dierproeven aangegeven, worden bepaald aan de hand van de uitkomst van de validatiestudie.

De uiteindelijke samenstelling van de studie zal worden beschreven in het studieplan dat ter beoordeling wordt voorgelegd aan de IvD. Ter voorbeeld volgen hieronder 2 verschillende opzetten. Hieronder is een voorbeeld weergegeven waarin een aantal nieuwe medicijnen wordt getest in 2 verschillende doses. Het doel daarvan zou kunnen zijn om een idee van de werkzaamheid van de stof te krijgen alvorens men overgaat tot een uitgebreider testen van doseringen of combinatietherapie, bijvoorbeeld.

Groep	N	Behandeling	Toediening	RSV	euthanaseren
1	10	Vehicle	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
2	10	Vehicle	i.p. dag 1,2	Dag 0	Day 5

3	10	Positieve controle	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
4-5	7	Antiviral 1 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
6-7	7	Antiviral 2 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
8-9	7	Antiviral 3 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
10-11	7	Antiviral 4 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
12-13	7	Antiviral 5 2 doses	i.p. dag 1,2	Dag 0	Day 5
14-15	7	Antiviral 6 2 doses	i.p. dag 1,2	Dag 0	Day 5

Totaal ongeveer 114 dieren.

Het tweede overzicht beschrijft een voorbeeldstudie met enkele antivirale middelen in meerdere verschillende doses, waarbij ook bloed afgenomen kan worden.

Groep	N	Behandeling	Toediening	RSV	Bloedafname	euthanaseren
1	10-15	Vehicle	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4
2	5	Positieve controle	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4
3-7	5-7	Antiviral 1 5 doses	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4
8-12	5-7	Antiviral 2 5 doses	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4

Totaal ongeveer 90 dieren

Deze uitleg met voorbeelden is toegevoegd in deel A van de beschrijving dierproeven.

-U geeft aan dat u verschillende RSV varianten wilt gaan gebruiken die elk een ander klinisch fenotype induceren. Om de haalbaarheid van uw project en het cumulatieve ongerief van de dieren te kunnen beoordelen, wordt u verzocht aan te geven voor welk doel u welke variant wilt gaan gebruiken. U wordt tevens verzocht aan te geven, op basis van de literatuur, welke klinische fenotypes de te testen varianten hebben en in hoeverre deze verschillende fenotypes zullen leiden tot meer of minder ongerief bij de dieren.

Er zijn een aantal bestaande modellen met verschillende RSV varianten, o.a. RSV-A2, RSV line19, RSV Long (Moore et al 2009) en andere klinische RSV varianten (Woolums et al 2011, Stokes et al 2011).

De verschillen tussen de varianten uiteten zich in bijvoorbeeld de virale load in de longen,

slijmproductie, cytokineproductie, gewichtsverlies. De verschillende varianten geven voor zover bekend geen ernstige klinische verschijnselen (Moore et al 2009). De RSV variant die zal worden gebruikt, wordt gekozen op basis van het doel van de studie. RSV-A2 is belangrijk in het veld als referentie-variant. Wanneer een medicijn een effect heeft op de cytokine- of slijmproductie na infectie kan ervoor worden gekozen om gebruik te maken van RSV line19 of Long varianten aangezien deze varianten hogere cytokine- en slijmproductie geven dan RSV-A2. Wanneer de vraag is of nieuwe medicijnen of vaccins een effect hebben op bijvoorbeeld recent geïsoleerde varianten of andere klinische isolaten kan de keuze vallen op klinische isolaten. Dit is aangepast in deel 3.4.1 van de projectaanvraag. Het totale ongerief voor de dieren en de bijbehorende humane eindpunten zullen niet veranderen door de verschillende varianten.

-U geeft, in de bijlage beschrijving dierproeven, aan dat u, afhankelijk van de vraagstelling, verschillende secundaire parameters wilt bestuderen. Ook geeft u aan dat er, indien noodzakelijk, 'overige' handelingen zullen worden uitgevoerd. Om de haalbaarheid van uw project en de ongeriefclassificatie te kunnen beoordelen, wordt u verzocht voor elk van de vraagstellingen te beschrijven welke secundaire parameters bestudeerd kunnen worden, welke handelingen aan het levende dier daarvoor noodzakelijk zijn, inclusief de frequentie van de handelingen, welk percentage van de dieren naar verwachting deze handelingen zal ondergaan en in welke mate deze handelingen het cumulatief ongerief van de dieren zal beïnvloeden. U wordt ook verzocht, voor de verschillende vraagstellingen, de mogelijke 'overige' handelingen aan de dieren te beschrijven. U dient hierbij aan te geven welk percentage dieren, naar verwachting, deze handelingen zullen ondergaan en in welke mate dit het cumulatief ongerief van de individuele dieren zal beïnvloeden.

Secundaire parameters waaraan is gedacht is het meten van bijvoorbeeld de longfunctie, dit gebeurt op een non-invasieve wijze. Voor deze meting zullen ongeveer 50% van de dieren gedurende 15 minuten per dag in een plethysmograaf worden geplaatst. Het ongerief van het meten van de longfunctie wordt ingeschat op licht en verhoogt daarmee niet het totale ongerief.

Andere secundaire parameters waaraan is gedacht zullen worden geanalyseerd na euthanaseren van de muizen zoals longpathologie, slijmproductie, cytokineproductie.

Dit is toegevoegd aan deel A van de beschrijving dierproeven.

-In uw projectvoorstel geeft u aan dat, afhankelijk van de onderzoeksvraag, dieren voor verschillende perioden gevolgd zullen worden na de infectie. Om inzicht te kunnen krijgen in het cumulatieve ongerief van individuele dieren, wordt u verzocht te beschrijven op basis van welke criteria besloten zal worden hoe lang de dieren gevolgd gaan worden. Daarnaast wordt u verzocht toe te lichten of en op welke wijze dieren die langer gevolgd gaan worden andere of meer handelingen zullen ondergaan dan dieren die voor maximaal een week gevolgd zullen worden. U wordt ook verzocht aan te geven of en in welke mate een langere volgperiode, en bijbehorende handelingen, zal leiden tot meer ongerief. Indien meer ongerief te verwachten is, wordt u verzocht aan te geven voor welk percentage van de dieren dit zal gelden.

De keuze voor de periode waarin de dieren gevolgd gaan worden, wordt gebaseerd op de onderzoeksvraag. Dit kan bijvoorbeeld afhankelijk zijn van het aangrijpingsmechanisme van de nieuwe medicijnen (het voorkomen van infectie van de cel, remmen van de replicatie in de cel of uitscheiding van virusdeeltjes uit de cel). Wanneer de opdrachtgever geïnteresseerd is in bijvoorbeeld het effect op de geïnduceerde immuunrespons of het herstel van de longen na infectie

kan het wenselijk zijn om de dieren over een langere periode te volgen. Het herstel van de longen na infectie en de piek van de immuunrespons duren langer dan de piek van de virale load. Naar verwachting zullen de dieren in die periode geen extra handelingen ondergaan en daarmee zal het totale ongerief niet wijzigen.

Dit is aangepast in deel A van de beschrijving dierproeven.

-In de bijlage dierproeven beschrijft u een aantal verschillende methoden voor toediening van stoffen. U wordt verzocht aan te geven op basis van welke criteria voor welke toedieningsvorm, gekozen gaat worden. Het cumulatief ongerief van de individuele dieren wordt mede bepaald door de gekozen methode van toediening en de frequentie van toediening. U wordt daarom verzocht aan te geven welk percentage van de dieren, naar verwachting, welke handelingen zullen ondergaan en in welke mate dit het cumulatief ongerief van de dieren zal beïnvloeden.

De toedieningsvorm wordt bepaald door de te testen medicijnen of vaccins. Vaccins zullen veelal intramusculair worden toegediend, in de regel 1 tot 3 maal. Medicijnen kunnen bijvoorbeeld oraal, intraveneus, intratracheaal, intranasaal, sublinguaal of intraperitoneaal worden toegediend. De keuze van een van deze toedieningsroutes en de frequentie is afhankelijk van de samenstelling en daarbij behorende PK/PD van de medicijnen omdat niet alle stoffen geschikt zijn voor bepaalde toedieningsroutes. De medicijnen zullen niet langer worden toegediend dan tot maximaal 8 dagen na infectie. De samenstelling van medicijnen zal ook bepalen wat de frequentie van toediening is, wanneer medicijnen gedurende slechts een korte periode in het lichaam beschikbaar zijn, zullen deze ook vaker worden toegediend (bijvoorbeeld 3 opeenvolgende dagen 1x per dag,). Dit is aangepast in deel A van de beschrijving dierproeven. De toedieningsroute en frequentie zullen geen effect hebben op het totale ongerief.

Tenslotte wordt u verzocht in uw NTS het totale aantal dieren weer te geven.

De NTS is aangepast.



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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50400
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. TNO Triskelion
- 1.3 Vul de titel van het project in. Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytiaal virus.

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- Fundamenteel onderzoek
- Translatieel 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.

Verkoudheid is een infectie van de bovenste luchtwegen (neusholte, neusbijholten, keel en strottenhoofd) en is de meest voorkomende infectieziekte bij mensen. Er zijn verschillende soorten virussen die een verkoudheid kunnen veroorzaken, waaronder rhinovirussen (30-80%), coronavirussen (10-15%), respiratoire syncytiele virussen, adenovirussen, para-influenzavirussen, enterovirussen. Het immuunsysteem is in staat de virusinfectie op te ruimen en veroorzaakt de symptomen van verkoudheid. Tegen verkoudheid is geen medicijn beschikbaar. Na een infectie ontstaat meestal een jarenlange immuniteit voor het specifieke virus. Omdat er zoveel verschillende virussen een verkoudheid kunnen veroorzaken, worden volwassenen gemiddeld 2-5 keer per jaar verkouden, kinderen zelfs 6-12 keer per jaar. Een verkoudheid is meestal niet ernstig. Bij ouderen, jonge kinderen en mensen met een verzwakt immuunsysteem kunnen echter ernstige complicaties optreden; bijkomende bacteriële infecties kunnen zich voordoen en leiden tot keel- of bijholteontsteking of een oorinfectie.

Dit projectvoorstel betreft onderzoek naar medicijnen en vaccins tegen respiratoir syncytieel virus (RSV). Van de genoemde verkoudheidsvirussen is dit de meest voorkomende omdat, in tegenstelling tot de meeste virussen, immuniteit tegen RSV niet levenslang is en dus gedurende het leven verschillende ziekte-episoden door RSV kunnen ontstaan. In zeer jonge kinderen kan besmetting met RSV leiden tot een infectie van de lagere luchtwegen (zoals de longen). RSV infectie kan in risicogroepen (premature baby's, kinderen jonger dan 2 jaar met een chronische longaandoening of hartproblemen, volwassenen ouder dan 65 en mensen met een verzwakt immuunsysteem door bijvoorbeeld een HIV-infectie, orgaantransplantatie of chemotherapie) een ernstig tot zeer ernstig verloop hebben waarbij ziekenhuisopname noodzakelijk is. RSV infecteert de epitheelcellen van de luchtwegen en het immuunsysteem is in staat het virus op te ruimen. Omdat geen levenslange immuniteit wordt opgebouwd, kunnen mensen dus meerdere keren geïnfecteerd raken met RSV. Buiten de medicijnen Ribavirin® en Synagis®, is geen vaccin tegen RSV beschikbaar. Het antivirale middel Ribavirin® blijkt in de praktijk slechts beperkt werkzaam. Voor risicogroepen (leeftijd jonger dan 2 jaar) is een preventief medicijn beschikbaar, namelijk Synagis®. Dit medicijn wordt gedurende het RSV seizoen maandelijks toegediend. Synagis® wordt alleen toegediend aan risicogroepen ter voorkoming van resistentie van RSV tegen Synagis® en vanwege de hoge kosten van de behandeling. De farmaceutische industrie richt zich op het ontwikkelen van nieuwe medicijnen om ernstige RSV infectie te kunnen behandelen

en om de potentiële langetermijneffecten (terugkerende piepende ademhaling of astma) veroorzaakt door RSV te reduceren. Daarnaast is er behoefte aan de ontwikkeling van een vaccin dat levenslange bescherming biedt.

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 farmaceutische industrie ontwikkelt medicijnen om ernstige infectie met RSV te behandelen, alsook medicijnen en vaccins die langdurige bescherming bieden tegen RSV infectie. In de ontwikkeling van nieuwe medicijnen en vaccins zijn twee fasen te onderscheiden: Research & Development (R&D) en de preklinische fase. In de R&D fase worden nieuwe medicijnen/vaccins gekarakteriseerd en gescreend in diverse *ex vivo* en *in vitro* assays (zoals bijvoorbeeld binding assays en neutralisatie assays). Nieuwe medicijnen/vaccins die in deze fase effectiviteit laten zien, worden in de preklinische fase getest. Het preklinische onderzoek richt zich op de toedieningsroute, dosering, frequentie, (immunologisch) werkingsmechanisme, mogelijke bijwerkingen en de mogelijkheid tot combinatie van het nieuwe medicijn met andere therapieën (zogenaamde combinatietherapie). De resultaten van het preklinisch onderzoek worden gebruikt voor het registratiedossier dat voor toelating op de markt aan de registratieautoriteiten moet worden overlegd. Preklinisch onderzoek is o.a. gebaseerd op dierexperimenteel onderzoek. In dit project zullen kandidaten voor de behandeling van RSV in de preklinische fase worden geëvalueerd in een RSV muismodel. Hiertoe zal een gevalideerd muismodel worden ontwikkeld binnen onze instelling, waarna vaccins (profylactisch) en antivirale middelen en/of immunomodulators (therapeutisch) kunnen worden getest voor hun effectiviteit op het remmen van RSV infectie.

3.3 Belang

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

RSV infectie is een veelvoorkomende oorzaak van verkoudheid. In jonge kinderen kan RSV infectie snel overslaan naar de lagere luchtwegen en resulteren in een ernstiger verloop. Hoewel RSV infectie zelden leidt tot mortaliteit, kan een infectie in zeer jonge baby's ernstig verlopen. Volgens de Centers for Disease Control and Prevention (CDC) heeft 25-40% van de voor het eerst geïnfecteerde kinderen symptomen van een bronchiolitis of een pneumonie. En voor 0.5-2% van de patiënten is ziekenhuisopname noodzakelijk (bron: Wereldgezondheidsorganisatie; WHO). Virale bronchiolitis is geassocieerd met terugkerende piepende ademhaling of astma. Het antivirale middel Ribavirin® is slechts beperkt werkzaam en preventieve behandeling met Synagis® wordt alleen gegeven aan kinderen uit risicogroepen. Synagis® moet herhaaldelijk worden toegediend tijdens het RSV seizoen en daardoor bestaat het risico dat resistentie optreedt. Daarnaast brengt dit hoge medische kosten met zich mee. Daarom wordt onderzoek gedaan naar een vaccin dat na eenmalige toediening levenslang beschermt, zonder dat resistentie optreedt. Daarnaast zoekt men ook naar een medicijn voor de therapeutische behandeling na infectie met RSV. Onderzoek naar nieuwe antivirale middelen, immuunmodulators en vaccins is dan ook noodzakelijk. Daarnaast is er ook een economisch belang: het beheersen van kosten van de gezondheidszorg. Bovendien worden de economische gevolgen van verkoudheid vaak onderschat: de kosten van voorgeschreven medicijnen, ziekmelding door mensen die verkouden zijn, ouders die niet kunnen werken omdat de kinderen ziek zijn etc.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Voor het testen van nieuwe therapieën tegen RSV maken we gebruik van een diersmodel. Nieuwe medicijnen of vaccins zullen altijd in meerdere diersmodellen worden getest alvorens ze worden getest in mensen. Wij maken gebruik van het muismodel. Diersmodellen vormen een cruciale link tussen de

mechanistische studies *in vitro* en klinische studies in mensen. De beschikbare diermodellen voor RSV zijn de muis, katoenrat en het schaap (Bem et al 2011, Woolums et al 2011). De katoenrat is een diermodel die een hoge translatie heeft naar de mens. De katoenrat is daarentegen moeilijk om te hanteren en huisvesten, dieren dienen individueel te worden gehuisvest en het ongerief is daarmee ook hoger (Niewiesk et al 2002). Dit maakt het lastig om meerdere condities (zoals verschillende medicijnen, doses of toedieningsroutes) te testen in één experiment. Muizen zijn daarentegen makkelijk te hanteren en huisvesten. Daarnaast is er een breed scala aan immunologische en moleculaire reagentia beschikbaar voor de muis. Het muismodel geeft de mogelijkheid verschillende condities (zoals doseringen en toedieningsroutes) te testen in één experiment en het werkingsmechanisme in detail te kunnen onderzoeken. Dit model is daarmee zeer geschikt als een screeningsmodel, waaruit geschikte kandidaten worden geselecteerd die verder worden ontwikkeld (en getest in diermodellen met een hogere transleerbaarheid, waaronder de katoenrat) voordat ze worden toegepast in de mens.

Het RSV muismodel zal eerst bij ons in-huis moeten worden gevalideerd. Er zijn een aantal bestaande modellen met verschillende RSV varianten, o.a. RSV-A2, RSV line19, RSV Long (Moore et al 2009) en andere klinische RSV varianten (Woolums et al 2011, Stokes et al 2011). De verschillen tussen de varianten uiten zich in bijvoorbeeld de virale load in de longen, slijmproductie, cytokineproductie, gewichtsverlies. De verschillende varianten geven voor zover bekend geen ernstige klinische verschijnselen (Moore et al 2009). De RSV variant die zal worden gebruikt, wordt gekozen op basis van het doel van de studie. RSV-A2 is belangrijk in het veld als referentie-variant. Wanneer een medicijn een effect heeft op de cytokine- of slijmproductie na infectie kan ervoor worden gekozen om gebruik te maken van RSV line19 of Long varianten aangezien deze varianten hogere cytokine- en slijmproductie geven dan RSV-A2. Wanneer de vraag is of nieuwe medicijnen of vaccins een effect hebben op bijvoorbeeld recent geïsoleerde varianten of andere klinische isolaten kan de keuze vallen op klinische isolaten. De beoogde vraagstelling van de opdrachtgever bepaalt de keuze voor de te gebruiken RSV variant. Deze vraagstelling en keuze voor een specifiek RSV model zullen worden onderbouwd in het studieplan.

Het muismodel in onze instelling zal worden gebaseerd op reeds bestaande modellen beschreven in de literatuur en zal worden gevalideerd d.m.v. kinetiek analyse van de virale infectie. Voor het bepalen van de effectiviteit van een nieuw medicijn/vaccin in vervolgstudies wordt het aantal virale deeltjes (virale load) in de longen bepaald op een bepaalde dag na infectie, afhankelijk van de kinetiek van de RSV infectie en het werkingsmechanisme van het medicijn/vaccin. RSV infecteert en repliceert in het longweefsel. De virale load in de longen piekt tussen dag 3 en 6 na infectie en is binnen circa 8 dagen opgeruimd. Het bepalen van de virale load stelt ons in staat de effectiviteit van medicijnen op de ernst van de RSV infectie te bepalen. RSV infectie van muizen kan ook effect hebben op lichaamsgewicht, klinische verschijnselen en longfunctie, en deze dienen als secundaire uitleesparameter in het diermodel. Bij de validatie van het model zal worden bepaald wanneer de piek in de virale load is en zal het ziekteverloop in de muizen in kaart worden gebracht. Aan de hand van het ziekteverloop zullen humane eindpunten worden bepaald, hierbij wordt gedacht aan pompemde ademhaling, blauwkleuring van de slijmvliezen, gewichtsverlies van meer dan 20%.

Aansluitend zullen RSV modellen worden gebruikt voor het testen van de effectiviteit van nieuwe antivirale middelen en/of vaccins door muizen te behandelen met de nieuwe therapieën voor- of nadat ze zijn geïnfecteerd met RSV. Afhankelijk van de specifieke RSV variant die wordt gebruikt voor de infectie kan op verschillende manieren de progressie van RSV infectie worden gevolgd. De uitleesparameters zijn onder andere, maar niet beperkt tot, virale load in de longen, gewicht, klinische verschijnselen, longfunctie, slijmproductie, longpathologie en immunologische uitleesparameters. RSV infectie in muizen is een niet-lethale infectie. Afhankelijk van de onderzoeksvraag zullen de dieren worden gevolgd gedurende ongeveer een week, eventueel langer indien het herstel van infectie of het effect op de longen na langere tijd wordt bestudeerd.

Het studie design van iedere individuele studie zal conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001); A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes) worden uitgevoerd.

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

1) Validatie van RSV muismodellen

Als eerste zal het RSV muismodel worden opgezet en gevalideerd. Hiertoe zullen dieren intranasaal worden geïnfecteerd (challenge) met één of meerdere doses van een bepaalde RSV variant. Bij de validatie van het model zal elke dag een groep dieren worden geëuthanaseerd en de virale load in de longen

worden bepaald om de kinetiek van de infectie in kaart te brengen. De virale load in de longen is de maat voor de ernst van de RSV infectie en dus de primaire uitleesparameter om remming door therapie te evalueren. Uit de literatuur is bekend dat de piek van de virale load ligt tussen dag 3 en dag 6 post-challenge. Het validatie experiment zal uitwijzen wanneer de longen moeten worden geanalyseerd in toekomstige RSV studies. Daarnaast zal ook het ziekteverloop in de dieren in kaart worden gebracht op basis van klinische verschijnselen, zodat humane eindpunten kunnen worden bepaald (mogelijke pompemde ademhaling, blauwkleuring van slijmvlies door benauwdheid, >20% gewichtsverlies). Hierna kan het model worden gebruikt voor het testen van nieuwe medicijnen/vaccins tegen RSV.

2) Testen van medicijnen (zowel therapeutisch als profylactisch) in het RSV muismodel, zoals

- Monoklonale antilichamen

De studies die onder dit onderzoeksvoorstel vallen, zijn erop gericht om breed beschermende antilichamen te onderzoeken op profylactische of therapeutische effectiviteit in virus challenge modellen.

- Kleine eiwitten

In dit onderzoeksvoorstel worden medicijnen ontwikkeld die uiteindelijk "needle free" zullen worden toegediend.

- Small molecules

Een andere benadering is het ontwikkelen van kleine moleculen (small molecules) met als doel om een medicijn tegen RSV te ontwikkelen dat oraal kan worden toegediend.

3) Testen van vaccins in het RSV muismodel (profylactisch)

Er worden diverse vaccinmodellen voor RSV onderzocht, zoals bijvoorbeeld een verzwakt virus, virosomes of een vaccin gericht tegen de structurele eiwitten van RSV, zoals het F-, G-, N-, of M2-eiwit. Verschillende strategieën worden gebruikt om deze eiwitten na te bouwen. Vaccinvarianten die *in vitro* succesvolle binding aan RSV laten zien of remming van RSV infectie in celkweek systemen, worden vervolgens getest voor effectiviteit *in vivo*, gevolgd door beoordeling van de door het vaccin opgewekte immunorespons. Een manier om het vaccin te verbeteren is het toevoegen van een adjuvans. Adjuvantia kunnen een significante verbetering van de immunogeniciteit van vaccins laten zien, door zowel de humorale als de cellululaire immunorespons na immunisatie te verbeteren. Het doel is hierbij vaak om superioriteit aan te tonen ten opzichte van huidige adjuvantia (b.v. alumen-gebaseerd). In klinische onderzoeken is de veiligheid van b.v. saponine houdende vaccins aangetoond en is de immunorespons na vaccinatie verbeterd.

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.

Voordat een van bovenstaande nieuwe therapieën kan worden getest zal eerst het te gebruiken RSV diermodel in de muis worden gevalideerd. Bij het opzetten van het model met de betreffende RSV variant wordt het verloop van de virale load in de longen en het ziekteverloop van de dieren in kaart gebracht. Op basis hiervan wordt in vervolgsperimenten de dag voor isolatie van de longen bepaald en kunnen tevens humane eindpunten in kaart worden gebracht. Na het opzetten van een gevalideerd diermodel, zullen nieuwe medicijnen/vaccins worden getest, na profylactische en/of therapeutische toediening. De antivirale middelen of vaccins die RSV infectie remmen in het muismodel, zijn veelbelovende kandidaten voor verdere ontwikkeling en zullen ook in andere diermodellen (waaronder de katoenrat) worden getest.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen
2	
3	
4	
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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	50400				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	TNO Triskelion				
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>3.4.4.1</td><td>Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.1	Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen				

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.

Voor het testen van de effectiviteit van nieuwe antivirale middelen en vaccins zal gebruik worden gemaakt van een RSV muismodel. Het muismodel is een veelvuldig gebruikt model voor onderzoek naar RSV. De voordelen van muizen t.o.v. andere RSV diermodellen als katoenrat en schaap zijn de beschikbaarheid van reagentia voor de muis, verkrijgbaarheid en huisvesting van muizen (Bem et al 2011, Woolums et al 2011). Ondanks dat het een heteroloog model is, omdat de muis geen natuurlijke gastheer is voor humaan RSV, is RSV wel in staat de epitheelcellen in de longen te infecteren en daar te repliceren. Het aantal virale deeltjes (i.e. virale load) in de longen piekt tussen dag 3 en 6 en is na circa 8 dagen opgeruimd. **Dit maakt het model geschikt om het effect van nieuwe medicijnen of vaccins op de replicatie van het virus in de longen te meten. Dit is een eerste vereiste waaraan een medicijn of vaccin**

moet voldoen voor verdere ontwikkeling voor toepassing in de mens. Het herstel van het longweefsel zelf duurt echter langer en kan tot 14 dagen na initiële infectie duren (Mejías et al 2004). De muis vertoont over het algemeen milde klinische verschijnselen, zoals pilo-erectie, benauwdheid en gewichtsverlies, maar de infectie kan ook zonder klinische symptomen verlopen. Daarom zijn klinische symptomen niet geschikt als primaire parameter om RSV infectie te monitoren, maar de gezondheid van de muizen zal wel nauwkeurig worden gevolgd. Virale load in de longen is de primaire uitkomstparameter voor het bepalen van de effectiviteit van nieuwe medicijnen en vaccins gericht tegen RSV. Deze nieuwe medicijnen/vaccins kunnen de virusrelicatie in de longen (direct of indirect) remmen. Afhankelijk van de te gebruiken RSV variant en de vraagstelling kunnen secundaire uitkomstparameters worden geanalyseerd zoals, maar niet beperkt tot, longfunctie, slijmproductie en longpathologie. Wanneer longfunctie wordt gemeten zal dat dagelijks worden gedaan in ongeveer 50% van de dieren op een non-invasieve manier m.b.v. een plethysmograaf waar de dieren gedurende 15 minuten in zullen zitten. Het ongerief van het meten van de longfunctie wordt ingeschat op licht. Slijmproductie en longpathologie zal worden geanalyseerd in de longen nadat de dieren zijn geëuthanaseerd.

Voordat nieuwe medicijnen of vaccins kunnen worden getest zal eerst het RSV muismodel (zoals beschreven in de literatuur) binnen onze instelling worden gevalideerd. Na het valideren van het muismodel, kan dit model gebruikt worden voor het testen van nieuwe medicijnen/vaccins.

Voor het opzetten van het RSV muismodel zullen muizen intranasaal worden geïnfecteerd met RSV. Er is voor intranasale toediening gekozen omdat dit de natuurlijke route van infectie is bij de mens. De RSV infectie in muizen is een niet-lethaal model met over het algemeen milde klinische verschijnselen. De primaire uitleesparameter is de virale load in de longen. Daarnaast zullen de muizen dagelijks worden gewogen en worden geobserveerd voor het optreden van klinische verschijnselen. Bij de validatie van het muismodel zullen muizen intranasaal worden geïnfecteerd met RSV waarna op aangegeven dagen een groep muizen wordt geëuthanaseerd en de virale load in de longen wordt bepaald. Dit zal bepalen wat de kinetiek is van de virale load na infectie. Deze validatiestudie zal ook worden gebruikt voor het uitvoeren van een statistische power-analyse voor opvolgende studies. Wanneer het model is gevalideerd kunnen nieuwe medicijnen/vaccins worden getest in het muismodel. Daartoe zullen muizen worden behandeld met één of meerdere doses van nieuwe medicijnen/vaccins. Tevens zal altijd een negatieve en positieve controlegroep (Synagis® of een andere werkzame stof) worden meegenomen. Muizen zullen een RSV infectie (challenge) krijgen op dag 0. Behandeling kan plaatsvinden op een of meerdere dagen voor- of nadat de dieren een RSV challenge krijgen. Dit wordt nader gespecificeerd in het studieplan. De dieren worden gevolgd voor een periode van 8 dagen, tenzij anders aangegeven in het studieplan. De keuze voor de periode waarin de dieren gevolgd gaan worden, wordt gebaseerd op de onderzoeksvraag. Dit kan bijvoorbeeld afhankelijk zijn van het aangrijpingsmechanisme van de nieuwe medicijnen (het voorkomen van infectie van de cel, remmen van de replicatie in de cel of uitscheiding van virusdeeltjes uit de cel). Wanneer de opdrachtgever geïnteresseerd is in bijvoorbeeld het effect op de geïnduceerde immuunrespons of het herstel van de longen na infectie kan het wenselijk zijn om de dieren over een langere periode te volgen. Het herstel van de longen na infectie en de piek van de immuunrespons duren langer dan de piek van de virale load. Naar verwachting zullen de dieren in die periode geen extra handelingen ondergaan. In het studieplan zal worden gespecificeerd welke medicijnen/vaccins en welke doseringen de muizen krijgen toegediend, hoe lang de studie duurt en of naast virale load ook secundaire uitleesparameters worden gebruikt.

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.

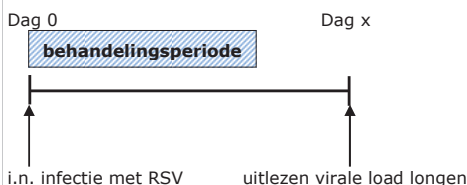
In een validatiestudie zal een grote groep muizen op dag 0 intranasaal worden geïnfecteerd met een bepaalde RSV variant. Klinische verschijnselen en lichaamsgewicht worden gevolgd om ziekte door RSV in kaart te brengen en de humane eindpunten te bepalen. Op basis van literatuur is bekend dat virale load in de longen tussen dag 3 en 6 na infectie maximaal is, waarna het virus wordt opgeruimd. Om te bepalen wat de kinetiek van RSV infectie in het te valideren model is, zullen op elke dag 5 geïnfecteerde muizen worden geëuthanaseerd om de virale load in de longen te bepalen. De uitkomsten van deze validatiestudie zullen worden gebruikt om te bepalen op welke dag/dagen de virale load in vervolgstudies gemeten moet worden om de effectiviteit van medicatie te kunnen waarnemen. Door 5 muizen per tijdstip te gebruiken, kan spreiding tussen de muizen op een betrouwbare manier in kaart worden

gebracht. De resultaten van de validatiestudie worden vervolgens gebruikt voor de statistische power-analyse voor volgende studies.

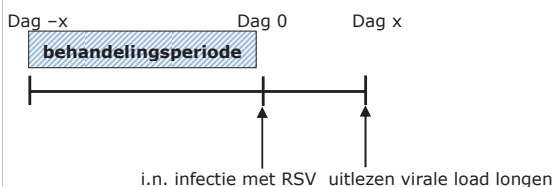
De primaire uitleesparameter voor het testen van effectiviteit van nieuwe medicijnen/vaccins tegen RSV is de virale load in de longen. Daarnaast zullen ook klinische verschijnselen en lichaamsgewicht worden geanalyseerd. Afhankelijk van de vraagstelling in de studie zal een behandelingsstrategie met de (nieuwe) medicijnen worden opgesteld (door experts binnen het projectteam) en dit kan per studie variëren. Mogelijke variaties zijn: tijdstip van toediening, bijvoorbeeld profylactisch of therapeutisch (of een combinatie hiervan), éénmalig versus herhaalde toediening (met verschillen in tijdsduur van de intervallen tussen de toedieningen), toediening van combinaties van medicijnen, route van toediening (waaronder oraal, intranasaal, intramusculair, intratracheaal, intraveneus, intradermaal, subcutaan en sublinguaal, conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001))). De toedieningsvorm wordt bepaald door de te testen medicijnen of vaccins. Vaccins zullen veelal intramusculair worden toegediend, in de regel 1 tot 3 maal. Medicijnen kunnen bijvoorbeeld oraal, intraveneus, intratracheaal, intranasaal, sublinguaal of intraperitoneaal worden toegediend. De keuze van een van deze toedieningsroutes en de frequentie is afhankelijk van de samenstelling en daarbij behorende PK/PD van de medicijnen omdat niet alle stoffen geschikt zijn voor bepaalde toedieningsroutes. De medicijnen zullen niet langer worden toegediend dan tot maximaal 8 dagen na infectie. De samenstelling van medicijnen zal ook bepalen wat de frequentie van toediening is, wanneer medicijnen gedurende slechts een korte periode in het lichaam beschikbaar zijn, zullen deze ook vaker worden toegediend (bijvoorbeeld 3 opeenvolgende dagen 1x per dag,). Het finale studie design wordt door het project team (bestaande uit interne en externe experts) bepaald en (statistisch) onderbouwd en deze informatie dient als basis voor het studieplan van elke studie. Het studieplan zal verder alle details beschrijven die nodig zijn voor een goede ethische beoordeling, zoals doel van de proef, wetenschappelijke achtergrond, onderbouwing van de groepsgrootte, de RSV stam, beschrijving (statistische) analyse van studie data etc.

De proefopzet wordt bepaald door het te testen medicijn of vaccin. Wanneer medicijnen voor therapeutische behandeling worden getest, zal de behandeling plaatsvinden in de periode nadat de dieren zijn geïnfecteerd met RSV. Wanneer een profylactische behandeling met een vaccin of medicijn wordt uitgevoerd, zal de behandeling altijd plaatsvinden voordat de dieren worden geïnfecteerd met RSV. De positieve controle groep zal worden behandeld met een bestaand medicijn b.v. Synagis® of een andere stof met een bekende positieve werking. Als negatieve controle zullen muizen worden behandeld met de vehicle (drager) van de te testen medicijnen/vaccins. Omdat alle groepen worden vergeleken met de negatieve controlegroep zal de grootte van deze groep zo worden gekozen dat voldoende power wordt verkregen wanneer deze groep meerdere keren wordt gebruikt in de statistische analyse. Een schematische weergave van therapeutische en profylactische behandeling is hieronder aangegeven (N.B. het uiteindelijke design zal worden gespecificeerd in het studieplan).

Studie met therapeutische behandeling:



Studie met profylactische behandeling:



De verschillende groepen die worden opgenomen zijn afhankelijk van aantal te testen nieuwe medicijnen en/of de hoeveelheid doses die worden getest. Daar waar mogelijk zullen controlegroepen worden gecombineerd binnen een studie om het totaal aantal dieren te verminderen. Bovendien is het soms mogelijk om de proefopzet zo te kiezen dat gewerkt wordt met ongelijke groeps grootte. Hierdoor wordt de power verhoogd terwijl het totaal aantal dieren verlaagd kan worden.

In het validatie-experiment zullen 5 dieren per groep worden gebruikt. Hieronder volgt een voorbeeld.

Groep	N	RSV	euthanaseren
1	5	Dag 0	Day 1
2	5	Dag 0	Day 2
3	5	Dag 0	Day 3
4	5	Dag 0	Day 4
5	5	Dag 0	Day 5
6	5	Dag 0	Day 6
7	5	Dag 0	Day 7
8	5	Dag 0	Day 8

Totaal 40 dieren

Afhankelijk van de spreiding van de virale load tussen muizen zullen naar verwachting 5-10 dieren per groep worden gebruikt in experimentele studies. Dit zal, zoals in de beschrijving dierproeven aangegeven, worden bepaald aan de hand van de uitkomst van de validatiestudie.

De uiteindelijke samenstelling van de studie zal worden beschreven in het studieplan dat ter beoordeling wordt voorgelegd aan de IvD. Ter voorbeeld volgen hieronder 2 verschillende opzetten. Hieronder is een voorbeeld weergegeven waarin een aantal nieuwe medicijnen wordt getest in 2 verschillende doses. Het doel daarvan zou kunnen zijn om een idee van de werkzaamheid van de stof te krijgen alvorens men overgaat tot een uitgebreider testen van doseringen of combinatietherapie, bijvoorbeeld.

Groep	N	Behandeling	Toediening	RSV	euthanaseren
1	10	Vehicle	p.o.	Dag 0	Day 5

			dag 1,2		
2	10	Vehicle	i.p. dag 1,2	Dag 0	Day 5
3	10	Positieve controle	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
4-5	7	Antiviral 1 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
6-7	7	Antiviral 2 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
8-9	7	Antiviral 3 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
10-11	7	Antiviral 4 2 doses	p.o. dag 1,2	Dag 0	Day 5
12-13	7	Antiviral 5 2 doses	i.p. dag 1,2	Dag 0	Day 5
14-15	7	Antiviral 6 2 doses	i.p. dag 1,2	Dag 0	Day 5

Totaal ongeveer 114 dieren.

Het tweede overzicht beschrijft een voorbeeldstudie met enkele antivirale middelen in meerdere verschillende doses, waarbij ook bloed afgenomen kan worden.

Groep	N	Behandeling	Toediening	RSV	Bloedafname	euthanaseren
1	10-15	Vehicle	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4
2	5	Positieve controle	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4
3-7	5-7	Antiviral 1 5 doses	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij euthanaseren	Day 4
8-12	5-7	Antiviral 2 5 doses	p.o. dag 1,2,3	Dag 0	1h na 1e dosis, 0.5h voor 2e dosis, 1h na laatste dosis en bij	Day 4

					euthanasieren	
--	--	--	--	--	---------------	--

Totaal ongeveer 90 dieren

De biotechnische handelingen die toegepast worden in de challenge fase zijn dezelfde voor elke studie en worden hier onder beschreven:

Op dag 0 van de studie krijgen alle dieren een intranasale challenge met een dosis van x PFU (plaque forming units) van de geselecteerde RSV variant. RSV wordt intrasale toegediend onder narcose, om zowel de neus, trachea en longen (bovenste en onderste luchtwegen) te kunnen infecteren. De dieren zullen onder anesthesie worden gebracht middels een voor het dier en model passend middel conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15-23 (2001)) en nader worden gespecificeerd in het studieplan. Na toediening van anesthesie krijgen de dieren 50 µL RSV toegediend, verdeeld in gelijke volumes van 25 µL per neusgat m.b.v. een pipet. De dieren worden op hun rug gehouden met het hoofd en de neus omhoog en 25 µL wordt toegediend aan het eerste neusgat. Nadat dit volledig is ingeademd, wordt op dezelfde manier de andere 25 µL in het tweede neusgat toegediend. De dieren worden nog in deze oriëntatie gehouden gedurende 15 seconden na doseren om ervoor te zorgen dat de gehele dosering wordt ingeademd. Voor het doseren van elk dier wordt een nieuwe, schone pipetpunt gebruikt.

De dieren worden gedurende een periode van ongeveer een week (gebaseerd op de resultaten van de validatiestudie en de vraagstelling, verder gespecificeerd in het studieplan) na infectie geobserveerd waarin lichaamsgewicht en klinische verschijnselen worden geregistreerd. (N.B.: indien het studiedesign het toelaat zullen de formuleringen met de medicijnen worden gecodeerd, zodat de biotechnici de studie dieren geblindeerd kunnen observeren). In iedere studie zal zowel een positieve als een negatieve controle groep worden meegenomen. De positieve controlegroep zal tijdens de behandelingsfase worden behandeld met Synagis®, of bij voortschrijdend inzicht een ander werkzaam middel. De negatieve controlegroep zal worden behandeld met vehicle (de drager van de te testen medicijnen).

Observaties en metingen

De observatie van klinische verschijnselen en lichaamsgewicht zal worden uitgevoerd volgens verschillende regimes afhankelijk van de pre- en post-infectiefase van de studie. De klinische verschijnselen ten gevolge van de RSV infectie kunnen de volgende zijn: benauwdheid, pilo-erectie, gebogen houding. Omdat de virale load in de longen piekt tussen dag 3 en 6 na infectie, zullen de klinische verschijnselen naar verwachting hiervoor zichtbaar zijn, omdat de ademhaling kan worden bemoeilijkt zodra door RSV infectie het longweefsel beschadigd raakt.

Klinische verschijnselen

Pre-infectie

Individuele dieren zullen worden geobserveerd voor het optreden van reacties op behandelingen alsook tekenen van ziekte of sterven. Observaties worden minstens eenmaal per dag uitgevoerd van de dag van indeling in de studie tot dag 0 (dag van infectie).

Post-infectie

Individuele dieren zullen worden geobserveerd voor het optreden van reacties op behandelingen alsook tekenen van ziekte of sterven. Observaties worden eenmaal of tweemaal per dag uitgevoerd (overdag, met een tijdsinterval van minstens 5 uur) afhankelijk van de resultaten uit de validatie studie(s), vanaf de dag van infectie tot het einde van de studie. Alle observaties, inclusief gedrag en individuele afwijkingen worden geregistreerd.

Lichaamsgewicht

Pre-infectie

Kort voor start van de studie zal voor elk dier het lichaamsgewicht worden bepaald, voor het indelen van dieren in de groepen. Dieren worden wekelijks

gewogen van dag -x (voor doseren) tot dag 0 (voor infectie).

Post-infectie

Van dag 0 tot einde van de studie worden dieren dagelijks in de ochtend gewogen.

Bloedafname

Indien nodig wordt op bepaalde tijdstippen bloed afgenomen van geselecteerde groepen (details worden beschreven in het studieplan). Bloed zal worden afgenomen conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001)).

Euthanasie

De dieren worden geëuthanaseerd conform de code of good practice of een andere geaccepteerde methode uit richtlijn 2010/63/EU, bijlage IV. De longen zullen worden gespoeld voor het verkrijgen van broncho-alveolaire lavage en de longen zullen worden ingevroren voor het analyseren van de virale load en/of pathologie (details worden beschreven in het studieplan).

Biotechnische handelingen gerelateerd aan behandeling met (nieuwe) medicijnen

Overige handelingen, die specifiek zijn voor de behandeling met (nieuwe) medicijnen zullen voor iedere individuele studie in het studieplan worden beschreven, inclusief de inschatting van het ongerief door deze handelingen. Naar verwachting zal het totale ongerief per proefdier door RSV infectie (benauwd worden, maximaal matig ongerief) niet wordt verhoogd door deze 'overige' handelingen.

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

Het aantal dieren in de validatiefase (5 muizen per tijdstip) komt overeen met beschrijvingen uit de literatuur (Mejías et al 2005, Lukacs et al 2006, Olszewska et al 2011, Mejías et al 2011). Als uit de validatiestudies blijkt dat dit aantal onvoldoende power geeft, zal dit worden aangepast in de vervolgstudies en nader worden toegelicht in het studieplan. Omdat alle groepen worden vergeleken met de negatieve controlegroep zal de grootte van deze groep zo worden gekozen dat voldoende power wordt verkregen wanneer deze groep meerdere keren wordt gebruikt in de statistische analyse.

B. De dieren

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

Voor het muismodel wordt bij voorkeur gebruikt gemaakt van vrouwelijke BALB/c muizen. **Verhoogde gevoeligheid in de luchtwegen na methacholinebehandeling is beschreven voor mannelijke muizen t.o.v. vrouwelijke muizen (Card et al 2006). Omdat het hier gaat om een infectie aan de luchtwegen gaat de voorkeur uit naar vrouwelijke muizen zodat er minder muizen per groep nodig zijn om de resultaten te behalen.** Vrouwelijke BALB/c muizen worden wereldwijd gebruikt voor studies met RSV en RSV infectie verloopt efficiënter in BALB/c muizen t.o.v. C57BL/6 muizen. Daar waar het noodzakelijk is om een andere muizenstam te gebruiken zal dit in het studieplan worden toegelicht. **Op dit moment en met de huidige kennis is de BALB/c muis het meest geschikte dier voor deze studies. Ontwikkelingen in muizenstammen gaan heel snel en binnen de termijn van deze aanvraag zou een andere stam voordelen kunnen hebben boven de BALB/c muis. Ook kan het zijn dat een opdrachtgever kennis heeft opgedaan in een voortraject in een andere muizenstam dan de BALB/c muis. Om resultaten te kunnen vergelijken en niet onnodig extra controles mee te moeten nemen, kan het dan de voorkeur hebben om door te gaan in een andere muizenstam. Mocht een van deze zaken aan de orde komen dan zullen wij onze overwegingen hierover voorleggen aan de IvD.**

Tenzij anders vermeld in het studieplan, zullen muizen van 6-8 weken oud bij aanvang van de studie worden gebruikt. Het totaal aantal dieren per studie kan variëren en is afhankelijk van het aantal groepen en de groepsgrootte. Het aantal groepen in een studie wordt bepaald door de vraagstelling en de groepsgrootte wordt bepaald aan de hand van de validatiestudie. Gebaseerd op een verwacht aantal studies van 10-12 per jaar met 80-150 dieren wordt het maximaal aantal dieren op maximaal 9000 geschat over een periode van 5 jaar (12 studies x max. 150 dieren x 5 jaar).

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.

De medicijnen die in RSV muismodellen getest worden, zijn geselecteerd op basis van *in vitro/ex vivo* efficacy experimenten. Alternatieven voor het nabootsen RSV infectie, bijvoorbeeld d.m.v. cel- of weefselkweek leveren een incompleet beeld van de effectiviteit van nieuwe medicijnen/vaccins. Het immuunsysteem is een dynamisch complex netwerk van diverse cellen en mediators. Bij RSV infectie heeft het immuunsysteem interactie met RSV en met het omringende longweefsel. Het is vooralsnog onmogelijk dit volledig na te bootsen *in vitro* of in "lagere" diersoorten. Vermindering van het aantal dieren kan op termijn aan worden gedacht als blijkt dat variatie binnen de groepen zeer klein is. Hierbij moet gedacht worden aan verkleinen van groepsgrootte. Daarnaast kunnen nieuwe ontwikkelingen in technieken zorgen voor verfijning van het model, daarbij wordt gedacht aan bijvoorbeeld non-invasieve imaging methodes.

Met behulp van statistiek wordt bepaald wat de optimale groepsgrootte is in deze experimenten, zodat met minimale hoeveelheid proefdieren de onderzoeksvraag kan worden beantwoord.

De proefdierstudies worden uitgevoerd volgens een vooraf vastgelegd protocol en door getrainde medewerkers. Hierdoor kent de dierproef een maximale kwaliteit, en worden stress en ongemak voor de proefdieren zo laag mogelijk gehouden. De RSV infectie kan een nadelig effect hebben op het welzijn van de muizen en daarom wordt hun gezondheid dagelijks gecontroleerd. Er zijn heldere afspraken om het ongerief voor de dieren zo veel mogelijk in te perken, muizen die meer dan matig ongerief ondervinden, worden uit de proef genomen op basis van de humane eindpunten die in de validatiestudie worden bepaald.

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.

Er zal anesthesie worden toegepast bij de muizen conform de code of good practice (van Diehl et al, J. Appl. Toxicol. 21, 15-23 (2001)).

De kans op nadelige milieueffecten worden beperkt door de experimenten uit te voeren onder biosafety level 2 (BSL-II) condities i.v.m. het gebruik van RSV

varianten.

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.

N.v.t. dit is geen wettelijk vereist onderzoek

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?

Eénmalige intranasale toediening van RSV onder verdoving: licht ongerief
Benauwd worden als gevolg van de RSV infectie: matig ongerief
Dagelijks wegen: licht ongerief
Behandeling met teststof: maximaal matig ongerief
Evt een of meermalen afnemen van bloed: licht ongerief

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

RSV infecteert het longweefsel, waardoor dit beschadigd raakt en het ademen kan worden bemoeilijkt en de dieren benauwd kunnen worden.

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

Er worden geen maatregelen genomen om deze effecten te voorkomen. De benauwdheid dient als (secundaire) uitleesparameter.

Wanneer er dieren zijn die door verzwakking niet meer bij voer/water kunnen, worden voerkorrels en hydrogel (steriel water gel voor hydratatie (98% puur water) op de bodem van de kooi 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.

Het optreden van zeer ernstige benauwdheid, dit wordt bepaald aan de hand van pompende ademhaling en/of blauwkleuring van de slijmvliezen.

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

In de validatiefase zal dit naar verwachting niet meer dan 20% zijn. De infectiedosis en dag van euthanaseren worden zo gekozen dat in de fase van testen van medicijnen naar verwachting minder dan 5% deze criteria 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.

De negatieve controlegroep zal benauwd worden ten gevolge van de RSV infectie, door de moeizamere ademhaling wordt dit ingeschat op matig ongerief. De positieve controle groep kent licht ongerief, doordat Synagis[®] virale infectie remt. De groepen behandeld met teststof zullen naar verwachting licht tot matig ongerief ondervinden. Naar verwachting zal ongeveer 50% van de dieren licht ongerief en 50% matig ongerief ondervinden.

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.

De primaire uitleesparameter is virale load in de longen, waarvoor de longen worden geïsoleerd na euthanaseren van de dieren.

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

TNO Triskelion BV

Postpunt 30
Postbus 360
3700 AJ Zeist

**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
AVD504002015107

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
1

Datum 13 Mei 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 21 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytieel virus" met aanvraagnummer AVD504002015107. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld. Op 28 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), conform de aangevraagde periode van 03 juni 2015 tot 3 juni 2020. Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. U kunt met uw project "Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytieel virus" starten.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie DEC-TNO 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.

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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



I. 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: - Weergave wet- en regelgeving
- DEC-advies



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: TNO triskelion BV
Adres: Postbus 360
Postpunt 30
Postcode en woonplaats: 3700 AJ Zeist
Deelnemersnummer: 50400

deze projectvergunning voor het tijdvak 3 juni 2015 tot 3 juni 2020, voor het project "Dierstudies in het kader van ontwikkeling van medicijnen voor het behandelen en voorkomen van virale infecties aan de luchtwegen, in het bijzonder respiratoir syncytieel virus" met aanvraagnummer AVD504002015107, gebaseerd op het advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 23 April 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015, en aangepast op 28 april 2015 na vragen van de CCD;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015, en aangepast op 28 april 2015 na vragen van de CCD;
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 21 april 2015, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Respiratoir syncytieel virus (RSV) infectiemodel in muizen	Muis	9000/ 5 jaar	Licht tot matig	Vrouwelijke en mannelijke muizen in evenredige verhouding

Extra voorwaarden:

- 1) Zoals beschreven in de vergunningsaanvraag worden te testen medicijnen en vaccins eerst *in vitro* en *ex vivo* gekarakteriseerd en gescreend. De criteria voor de start van de *in vivo* experimenten dient voor de start van het project in overleg met de IvD vastgesteld te worden. Deze voorwaarde is toegevoegd om onnodig lijden van dieren te voorkomen.
- 2) Voor de start van het project dient, in overleg met de IvD, te worden vastgelegd hoe omgegaan wordt met opdrachten die weliswaar voldoen aan bovenstaande criteria, maar minder effectief zijn dan al gestarte dierproeven. Proeven die vooraf minder effectief zijn dan al gestarte dierproeven vallen niet onder deze vergunning. Deze voorwaarde is toegevoegd om onnodig lijden van dieren te voorkomen.
- 3) De aanvraag beschrijft het gebruik van vrouwelijke dieren. Op basis van wetenschappelijk literatuur onderzoek is de commissie niet overtuigd van de onmogelijkheid om beide geslachten te gebruiken. Voor dit project dienen beide geslachten in een evenredige verhouding gebruikt te worden. Deze voorwaarde is toegevoegd om het aantal in voorraad gedode dieren te beperken.

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 onvereenigbaar 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.

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.



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 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? <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 24300 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Curax BV.
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	30183378
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Mijndensedijk 41a
		Postbus	
		Postcode en plaats	3631NN Nieuwersluis
		IBAN	NLOFTSB0844302087
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Curax BV.
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	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> 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	

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741 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 

Functie 

Plaats Utrecht

Datum 11 - 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.
- 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.

COPD (chronic obstructive pulmonary disease) is een chronische longziekte die wordt gekarakteriseerd door een abnormaal ontstekingsproces. Dit abnormale ontstekingsproces in de longen zorgt voor een progressieve toename van luchtweg obstructie. Hierdoor hebben patiënten een verminderde longfunctie. Ontstekingscellen (waaronder neutrofiële granulocyten) en het immuunsysteem spelen een belangrijke rol bij deze ziekte. Aanhoudende ontstekingen kunnen leiden tot blijvende schade aan het bindweefsel van de longblaasjes (longemfyseem). Deze blijvende schade leidt tot zuurstof tekort in alle organen (1). Uiteindelijk kunnen deze patiënten niet meer normaal functioneren omdat ze in een rolstoel met zuurstof support zitten voor de rest van hun leven. Door dit alles wordt de kwaliteit van leven aanzienlijk aangetast en is de levensverwachting aanzienlijk verkort. Sigarettenrook is de bekendste risicofactor van COPD, maar ook luchtverontreiniging (2) en werkgerelateerde blootstelling aan biologische componenten (3) zijn gecorreleerd aan het ontstaan van COPD. Een groot punt van zorg is de COPD ontwikkeling in de lage en midden inkomen landen. Daar lopen met name vrouwen en kinderen het risico om COPD krijgen door het koken op biomassa in slecht geventileerde ruimtes. Een derde van de COPD patiënten woont in deze landen (4).

Momenteel bestaan er feitelijk geen adequate therapieën om het ontstekingsproces bij COPD goed te behandelen. Glucocorticosteroiden (GCS, zoals Dexamethasone) worden tot nu toe als behandelingstherapie toegepast in longziekten, zoals astma en COPD, vanwege hun sterke vermogen om via de Glucocorticoid Receptor (GR) signalen te blokkeren en zodoende de luchtwegontstekingen te remmen (afname ontstekingscellen en mediators). Deze behandeling kent echter twee grote nadelen. Op lange termijn treden veel bijwerkingen op. Bijvoorbeeld, 12,5 % vermindering in botdichtheid treedt op in de eerste paar maanden na inname van GCS waarna een jaarlijkse afname van 2-5% optreedt. 60% van de mensen krijgt last van een verminderde spierontwikkeling, 60% klaagt over depressie en 23 % van de vrouwen ontwikkelt diabetes (5). Daarnaast is opvallend dat er vaak (90% van de gevallen) een ongevoeligheid optreedt voor de behandeling met GCS. De beschikbare medicatie blijkt dus niet geschikt (6). Aangezien GCS, ondanks de vervelende bijwerkingen, wel zeer effectief is in astma, is er veel aandacht voor het doorbreken van de GCS ongevoeligheid in COPD. Tot nu toe is er één medicijn beschikbaar die deze ongevoeligheid doorbreekt, theophylline. To et al (7) heeft reeds in een vergelijkbaar muizenmodel voor COPD (zoals wij ook in deze aanvraag willen gebruiken) aangetoond dat theophylline de glucocorticosteroid ongevoeligheid te niet kan doen. Theophylline is een fosfodiesterase remmer, maar de werking op het GCS systeem werkt via PI3Kinase. Het blijkt dus dat aangrijpen op het PI3Kinase systeem veel belovend kan zijn om de ongevoeligheid voor GCS te doorbreken en mogelijk zelf (als mono therapie) de luchtwegontsteking kan verminderen. Maar theophylline is helaas een oud en onspecifiek medicijn, met bijwerkingen, ook wel een "Dirty Drug" genoemd. Specifieke PI3K remmers lijken meer potentie te hebben. In diermodellen met reumatoïde artritis zijn PI3K-remmers effectief. De specifieke PI3K-remmers zijn nu in fase II van ontwikkeling voor reumatoïde artritis patiënten. (http://markets.on.nytimes.com/research/stocks/news/press_release.asp?docTag=201501080650BIZWIRE_USPRX____BW5064&feedID=600&press_symbol=92074). Om ook toepassing voor COPD patiënten te realiseren is onderzoek nodig naar de potentie van deze specifieke PI3K-remmers in een COPD diermodel. Door het bedrijf Infinity zijn moleculaire aanpassingen gedaan en varianten zijn geselecteerd op basis van in vitro onderzoek en zullen vergeleken worden met hun lead compound op basis van het reuma onderzoek. De nieuwe moleculen zijn erg potent en erg isoform selectieve PI3K delta, PI3K gamma en PI3K delta/gamma remmers. Deze moleculen zijn nog niet goed gekeurd voor het gebruik bij mensen met luchtwegaandoeningen. Het testen van deze

moleculen die bij mensen zou niet goed gekeurd worden door de Medische Ethische Commissie.

In dit onderzoek zullen voor het eerst deze specifieke PI3K remmers worden gegeven aan muizen met een luchtwegontsteking door sigarettenrook: in mono therapie en in combinatie therapie met GCS, om aan te tonen dat de ongevoeligheid van GCS kan worden doorbroken (8). We verwachten dat naast het doorbreken van de ongevoeligheid van GCS de specifieke PI3K-remmers zelf ook een positief effect zullen hebben op het remmen van het ontstekingsproces. Dit werkt via het eerder genoemde PI3K systeem. Als deze hypothese klopt, dan is het mogelijk dat we een medicijn kunnen ontwikkelen dat het verloop van COPD kan remmen of stopzetten.

We gebruiken een COPD muizen model dat binnen de afdeling al veel gebruikt is en gebaseerd is op To et al (7). In dit model worden muizen blootgesteld aan rook om een situatie in de muizen te creëren die zeer vergelijkbaar is aan COPD. De muizen zijn na herhaalde blootstelling aan rook allemaal ongevoelig voor GCS. 90% van de patiënten met COPD reageert niet op GCS behandeling. Die overige 10% van de patiënten hebben meer eosinofielen in hun longen, wat wijst op gelijktijdige astma in de patiënt, waarbij GCS wel goed werken (5). Er is geen ander model beschikbaar waarin glucocorticosteroid resistentie aangetoond kan worden in proefdieren. De resistentie ontstaat in COPD patiënten door roken. Misschien ontstaat de resistentie ook wel door andere oorzaken (Reuma/IBD) maar zo ver wij weten zijn daar geen diermodellen voor beschreven met resistentie voor GCS. Wij verwachten dat bovenstaand muizenmodel een goede voorspellende waarde heeft voor het uittesten van de specifieke PI3K-remmers. Curax BV voert de experimenten uit binnen de afdeling Farmacologie, UIPS, UU. De afdeling Farmacologie heeft reeds vele jaren ervaring met immunologische en fysiologische parameters in muizen die representatief zijn voor COPD in de mens (zoals luchtwegfunctie en aantallen longcellen, typen ontstekingscellen, ontstekingsmediatoren) (9,10).

- (1) O'Donnell et al, Chronic obstructive pulmonary disease: clinical integrative physiology. Clin Chest Med. 2014, 35:51-69.
- (2) Ko et al, Air pollution and chronic obstructive pulmonary disease. 2012, 17:395-401.
- (3) Metheson et al, Biological dust exposure in the workplace is a risk factor for chronic obstructive pulmonary disease. 2005, 60:645-651.
- (4) Gordon et al, Respiratory risks from household air pollution in low and middle income countries. Lancet Respir Med. 2014, 10:823-60.
- (5) Schäcke et al, Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. Pharmaco. & Ther. 2002, 96:23-46.
- (6) Barnes PJ & Adcock I, Glucocorticoid resistance in respiratory disease. Lancet. 2009, 373:1905-17.
- (7) To et al, Targeting phosphoinositide-3-kinase-delta with theophylline reverses corticosteroid insensitivity in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2010; 182:897-904.
- (8) Kao, T.-C., Shyu, M.-H. & Yen, G.-C. Glycyrrhizic acid and 18beta-glycyrrhetic acid inhibit inflammation via PI3K/Akt/GSK3beta signaling and glucocorticoid receptor activation. J. Agric. Food Chem. 2010, 58:8623-8629.
- (9) Barnes, Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease, Clin Chest Med. 2014, 35:71-86.
- (10) Braber et al, An association between neutrophils and immunoglobulin free light chains in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012, 185:817-24.

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 meerderheid van de COPD patiënten ontwikkelt of heeft reeds een ongevoeligheid voor GCS. De doelstelling van dit project is om een medicatie te vinden voor COPD. Wij willen de GCS ongevoeligheid door middel van zo geheten PI3K-remmers te niet doen. Er zijn specifieke PI3K-remmers ontwikkeld en deze willen wij uittesten in een model voor glucocorticosteroid ongevoeligheid. Deze specifieke PI3K-remmers zijn reeds uitgetest in in vitro-, preklinische- en fase I- studies met veelbelovende resultaten (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Dit

project is een essentiële stap om de hiervoor beschreven strategie tegen COPD naar de kliniek te brengen. Mochten er een of meerdere PI3K-remmers daadwerkelijk potentie hebben dan zullen deze in samenwerking met academische ziekenhuizen en partners in de farmaceutische industrie (Infinity Pharmaceuticals) een stap dichterbij de kliniek worden gebracht.

Het model loopt al een paar jaar binnen de afdeling Farmacologie. Op basis van de ervaring (10,11) en literatuur gegevens (7,8) denken wij dat de haalbaarheid van dit project groot is. Er bestaat geen enkel medicijn dat het verloop van COPD kan stopzetten. Indien specifieke PI3K-remmers de GCS ongevoeligheid kunnen opheffen, dan voorziet dit medicijn in een grote behoefte voor COPD patiënten en is er een medicijn ontwikkeld dat het verloop van COPD zal kunnen remmen of stopzetten.

Onderzoeksvraag 1:

Kunnen specifieke PI3K-remmers de GCS ongevoeligheid in muizen doorbreken?

Onderzoeksvraag 2:

Kunnen specifieke PI3K-remmers in mono therapie de symptomen van COPD onderdrukken?

(11) Verheijden et al, Measurement of airway function using invasive and non-invasive methods in mild and severe models for allergic airway inflammation in mice. *Front Pharmacol.* 2014, 5:190-196.

3.3 Belang

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

De World Health Organization heeft berekend dat COPD in 2020 de 3e doodsoorzaak wereldwijd zal zijn (11). Er wordt steeds meer aandacht besteed aan preventie, maar dit zal niet leiden tot een complete verdwijning van het probleem (11). Want

A. net zoals andere verslavingsziekten zoals bijvoorbeeld overgewicht, is het vaak moeilijk voor mensen om te stoppen met hun slechte gewoontes.

B. in het Westen neemt het aantal rokers af, echter niet onder de lager opgeleiden. In het Oosten neemt het aantal rokers toe door de verbeterde economische omstandigheden.

C. in lage en midden inkomen landen komt COPD veel voor onder vrouwen en kinderen door het koken en verwarmen op biomassa.

In dit onderzoek worden nieuwe medicijnen (7,8) getest die deze ongevoeligheid voor GCS doorbreken en mogelijk zelf (als mono therapie) de luchtwegontsteking kunnen verminderen. Dit kan leiden tot nieuwe en verbeterde medicatie opties voor COPD patiënten. Daarnaast kan de doelgroep, die voorheen ongevoelig was voor de standaard GCS therapie, nu mogelijk ook worden geholpen.

Symptomen van COPD zijn:

- benauwdheid
- hoesten
- slijm ophoesten
- kortademigheid
- vermoeidheid
- weinig spierkracht
- gewichtsverandering

Door deze symptomen en alle bijwerkingen van hoge concentraties GCS, is de levenskwaliteit van deze mensen slecht.

De uitval op het werk is hoog door de uiteindelijke invaliditeit. Bovendien zijn de economische kosten erg hoog om deze progressieve longziekte te verlichten

en deze zullen alleen maar hoger worden doordat COPD steeds vaker voorkomt. Daarbij worden er aan de resistente patiënten hoge concentraties GCS gegeven. Voorschrijven van deze grote hoeveelheden GCS (en het behandelen van de bijeffecten) zijn ook erg duur. Er is wereldwijd enorme belangstelling om potente anti-inflammatoire behandelingen te vinden tegen de levensbedreigende ziekten als COPD. Deze studie zal bijdragen aan inzichten in en het vinden van nieuwe anti-inflammatoire behandelingen tegen COPD maar ook bij andere ziekten waar glucocorticosteroid ongevoeligheid aanwezig is (zoals darmontstekingen en reuma). Gezien de bijwerkingen van GCS (osteoporose, huidverdunding en onderhuidse bloedingen, huidstriae, spieratrofie (dit is nadelig bij COPD), cataract, slechte wondheling, hoge bloeddruk, diabetes, bijnierschors insufficiëntie) en de prevalentie van ongevoeligheid voor GCS, is er vraag naar nieuwe strategieën om de chronische luchtweg (en andere) ontstekingen tegen te gaan. Deze experimenten zouden kunnen leiden tot een effectieve therapie voor COPD patiënten en andere patiënten die leiden aan GCS resistentie. Hierdoor zou deze groep patiënten weer kunnen bijdragen aan het arbeidsproces en wellicht minder ziekenhuisbezoeken en opnames nodig hebben.

(11) World Health Organization. WHO Statistical Information System (WHOSIS). Available from: <http://www.who.int/whosis/whostat/2008/en/index.html>. Published 2008 Jan 1.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Gezien de potentie van specifieke PI3K-remmers om de GCS ongevoeligheid te doorbreken (7,8), zullen we kiezen voor 3 specifieke PI3K-remmers (. De remmers zijn gebaseerd op uitgebreid vooronderzoek (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>) en vormen een stevige basis om geselecteerd te worden voor een screening in het rookmodel. In dit model kan de ongevoeligheid voor GCS nagebootst worden door middel van rook blootstelling. Om te bepalen of de specifieke PI3K-remmers de GCS ongevoeligheid doorbreken en mogelijk zelf een anti-inflammatoire werking hebben (12,13), zal er een luchtwegontsteking worden geïnduceerd, die ongevoelig is voor GCS. De muizen zullen daarom aan sigarettenrook worden blootgesteld voor meerdere dagen volgens een gestandaardiseerd model. Dit "therapeutische model" model heeft onze voorkeur boven het preventieve model, omdat in een preventief model GCS wel werken, en omdat een preventief model niet de werkelijkheid weergeeft omdat men eerst ziek wordt en dan GCS krijgt toegediend. In het therapeutische model krijgen de muizen gedurende de laatste dagen, wanneer er al sprake is van een luchtwegontsteking en GCS ongevoeligheid, de specifieke PI3K-remmers, in combinatie met of zonder een GCS. Zoals hiervoor is aangegeven is deze strategie van klinisch belang, aangezien de COPD patiënten beginnen met GCS medicatie wanneer de symptomen zich voordoen. Daarnaast blijven de meeste COPD patiënten, ondanks de slechte prognose, roken tijdens de medicatie en dit is ook opgenomen in de opzet. Uiteindelijk zal er worden gekeken naar verschillen in symptomen tussen muizen die de volgende behandeling hebben gehad:

- geen behandeling,
- GCS behandeling,
- 3 verschillende PI3K-remmer behandeling en een
- combi (GCS+ 3 verschillende PI3K-remmer).

Te verwachten is dat de muizen zonder behandeling en de muizen met een GCS behandeling symptomen zullen vertonen van COPD ten gevolge van het roken. In de groep met de combinatie behandeling, GCS + PI3K remmer, verwachten wij remming op de luchtwegontsteking terwijl dat niet of nauwelijks geremd wordt met de individuele behandelingen van de specifieke PI3K remmers of GCS. We verwachten dat de individuele behandeling met PI3K-remmers in sommige gevallen meetbare positieve effecten zal hebben op symptomen of luchtwegontstekingen in vergelijking met de niet behandelde groep muizen.

12) Deal watch: Infinity and Intellikine to develop oral PI3K inhibitors for inflammatory diseases. Nat Rev Drug Discov. 2010; (9):670.

13) Ferrandi et al. Phosphoinositide 3-kinase gamma inhibition plays a crucial role in early steps of inflammation by blocking neutrophil recruitment. J Pharmacol Exp Ther. 2007; 322(3):923-30.

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

Op basis van de ervaring in ons laboratorium, de expertise die wij in huis hebben in het luchtwegontstekingsveld (10,11) en de acceptatie van dit model in de wetenschappelijke wereld kiezen wij voor het muizen rookmodel (7). Muizen worden in dit model 2 maal per dag met minimaal 5 uur rust blootgesteld aan lucht of sigaretten rook (max. 20-25 min) voor 10 opeenvolgende dagen. Na 5 dagen blootgesteld te zijn aan sigarettenrook is de GCS ongevoeligheid ontwikkeld. Vanaf dag 6 tot dag 10 wordt de mono of combi medicatie gegeven. Op dag 11 worden de dieren gedood en wordt de mate van luchtwegontsteking gekwantificeerd.

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 keuze van de specifieke PI3K-remmers is gebaseerd op uitgebreid vooronderzoek (<https://www2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Uit dit vooronderzoek zijn drie potente PI3K-remmers geselecteerd uit een veel grotere pool van stoffen. Het aantal groepen wordt zoveel mogelijk beperkt maar het testen van meerdere actieve componenten heeft als voordeel dat er dan met 1 controle groep gewerkt kan worden. De meest potente remmer zal in vervolg onderzoek gebruikt gaan worden. Bijvoorbeeld verschillende doseringen van 1 PI3K-remmer en/of langere blootstelling aan sigarettenrook (ontwikkeling long emfyseem). Op basis van succes zal een klinische fase volgen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Rookmodel
2	
3	
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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	24300				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Curax BV				
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>1</td><td>Rookmodel</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Rookmodel
Volgnummer	Type dierproef				
1	Rookmodel				

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.

De keuze van de specifieke PI3K-remmers is gebaseerd op bevindingen die gedaan zijn door Infinity Pharmaceuticals voor de ontwikkeling van een medicijn tegen rheuma (<https://ww2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Om nu inzicht te krijgen in de effecten van de behandeling met PI3K-remmers in een compleet immuunsysteem en een ontstekingen in de luchtwegen, wordt er gebruik gemaakt van het in vivo rookmodel.

Primaire uitkomstparameters zijn het aantal en type ontstekingscellen in de broncho-alveolaire lavage (BAL) vloeistof. Deze BAL vloeistof wordt verkregen door de muis intraperitoneaal een overdosis euthasaat toe te dienen. Nadat de dood is ingetreden wordt er bloed afgenomen en een slangetje in de luchtpijp

gebracht en wordt er vloeistof ingespoten en terug gezogen. Het aantal en type ontstekingscellen wordt gemeten in de verkregen vloeistof. Deze cellen zijn indicatief voor de effectiviteit van de behandeling

Secundaire parameters zijn ontstekingsparameters (cytokines) in bloed en de BAL vloeistof, histologische karakterisering van het longweefsel en de luchtwegfunctie. De luchtwegfunctie wordt voorafgaand aan de euthanasie gemeten. Dit is een non-invasieve methode waarbij de dieren individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog. Deze secundaire parameters zijn belangrijk om de effectiviteit te kunnen onderbouwen.

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect van de specifieke PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Hierdoor kunnen we nu met een n van 10 muizen per groep duidelijke verschillen tussen de groepen meten. We zullen groepen vergelijken die niet behandeld zijn met een medicatie, dan wel behandeld zijn met specifieke PI3K-remmers, een GCS, of een combinatie therapie van GCS en specifieke PI3K-remmers. Uitsluitend noodzakelijke controle groepen worden meegenomen.

Met deze experimentele aanpak en uitleesparameters verwachten wij de onderzoeksvragen na te kunnen beantwoorden.

(1) Braber et al, An association between neutrophils and immunoglobulin free light chains in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012, 185:817-24.

(2) Verheijden et al, Measurement of airway function using invasive and non-invasive methods in mild and severe models for allergic airway inflammation in mice. *Front Pharmacol.* 2014, 5:190-196

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.

Muizen worden blootgesteld aan lucht of sigarettenrook voor maximaal 20-25 min, 2 maal per dag met 5 uur rust, voor 10 opeenvolgende dagen. De sigaretten zijn standaard onderzoeks-sigaretten (Kentucky) die door onze groep en andere onderzoeksgroepen al jaren wordt gebruikt (<http://www2.ca.uky.edu/refcig/>). Na 5 dagen blootgesteld te zijn aan sigarettenrook is de GCS ongevoeligheid ontwikkeld. Vanaf dag 6 tot en met dag 10 wordt de mono of combi medicatie gegeven. De PI3K remmers zullen oraal toegediend worden en de GCS intraperitoneaal. Op dag 11 worden de dieren gedood en wordt de mate van luchtwegontsteking gekwantificeerd. Alle muizen zullen voorafgaand aan de euthanasie individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog om de longfunctie te meten.

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

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect de PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Op basis van deze ervaring, verwachten we dat wij aan 10 dieren per groep genoeg te hebben, maar dit kan nog veranderen als wij op basis van de eerste set experimenten een extreem andere variatie krijgen. We zullen de aantallen altijd baseren op een poweranalyse. De analyse van de resultaten is een anova analyse waarbij wij posthoc, gericht kijken naar de vergelijking GSC+PI3K-remmer vs GSC vs PI3K-remmer vs controle.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
- GCS behandeling (rook = 1 groepen)
- 3 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 3 groepen)

- combi GCS + 3 verschillende PI3K-remmer (rook = 3 groepen)
Bij 10 dieren per groep en minimaal 9 groepen per experiment hebben wij 90 dieren per experiment nodig.

Indien er een positief effect (significante remming van 30% of meer) gevonden wordt met meerdere PI3K-remmers als mono of combi therapie, dan zal er vervolg onderzoek plaatsvinden. De meest potente PI3K-remmer (op basis van celaantal en longfunctie) zal geselecteerd worden. Vervolgens zullen er 4 verschillende doseringen van de meest succesvolle PI3K-remmer uitgetest gaan worden als mono en combi therapie.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
 - GCS behandeling (rook = 1 groep)
 - 4 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 4 groepen)
 - combi GCS + 4 verschillende PI3K-remmer (rook = 4 groepen)
- Bij 10 dieren per groep en minimaal 11 groepen per experiment hebben wij 110 dieren per experiment nodig.

B. De dieren

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

Balb/c muizen, geregistreerde fok, 200 over 4 jaar, alle muizen zijn volwassen bij aankomst (10-12 weken).

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.

Helaas is vervanging niet mogelijk. Het effect van de medicatie kan niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier omdat voor de werking van GCS en de ongevoeligheid hiervoor de interactie tussen longen, rook en het immuunsysteem nodig is. Binnen de afdeling is ruim 20 jaar ervaring met de beschreven experimenten waardoor er tijdens het experiment geen dieren dood gaan. Hierdoor hoeven we dus ook geen reserve dieren aan te vragen voor de experimenten. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. De CO en O2 concentraties worden continue gemonitord en aangepast indien nodig (CO dose = 150-300 ppm en O2 concentratie = 20 %). De blootstelling aan de sigarettenrook (20-25 min) vindt per dag opeend plaats (dag 1, 4 tot 6

sigaretten, dag 2, 8-10 sigaretten, dag 3, 12-14 sigaretten, vanaf dag 4, 14 sigaretten). Dit is gedaan om de muizen te laten wennen aan de rook en om stress en uitval te voorkomen. We gebruiken de laatste paar jaren een door ons gestandaardiseerde rookopstelling, waarbij de dieren evenwichtig over de ruimte verdeeld worden en de sigarettenrook ook. Hierdoor kunnen wij bij elk experiment eenzelfde sigarettenrook blootstelling creëren.

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 blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen (zoals gewichtsverlies, verandering in ademhalingsfrequentie, suf worden). De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O₂ gehalte wordt gehandhaafd op 20%. Het lichaamsgewicht wordt elke dag gemeten en mag niet meer dan 15% dalen in 2 dagen.

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.

nvt

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?

Er kan eventuele kortademigheid optreden gedurende het model, net zoals bij COPD patienten.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Dit komt door het blootstellen aan sigarettenrook, dit veroorzaakt een luchtwegontsteking waardoor de ademfrequentie kan toenemen.

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

De blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen. De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O₂ gehalte wordt gemonitord op 20%. Het lichaamsgewicht wordt dagelijks gemeten.

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.

Gewichtsverlies. Wij nemen dieren uit het experiment wanneer het gewichtsverlies groter is dan 15% binnen een periode van 2 dagen.

Ademhalingsfrequentie, obstructie van de luchtwegen en cyanose wordt in de gaten gehouden maar daar zijn in het verleden nooit problemen mee ontstaan.

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

<2%, op basis van de afgelopen 20 jaar werken met dit rookmodel, weten we dat er incidenteel een dier kan uitvallen door niet proef gerelateerde zaken, dat is het risico van het werken met levende dieren.

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.

Orgaan isolatie en post mortem onderzoek. Daarmee kunnen wij essentiële metingen doen, namelijk de ontstekingscellen in de longen (BAL), en naar ontstekings-eiwitten in het bloed kijken.

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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD.
- 1.2 Looptijd van het project | 4 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | COPD, glucocorticosteroiden, longen.

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)	<p>De longen zorgen er voor dat er zuurstof in het lichaam terecht kan komen, om zo alle organen te voorzien van zuurstof. Als de longblaasjes stuk zijn, wordt er minder zuurstof opgenomen in de longen en krijgen de organen minder zuurstof. In dit project wordt onderzoek gedaan met proefdieren naar nieuwe medicatie om patiënten, met de luchtwegaandoeningen COPD, een ziekte waarbij de longblaasjes kapot gaan, te behandelen. De huidige behandeling van deze patiënten is ontoereikend, waardoor ze uiteindelijk invalide worden, in een rolstoel terecht komen en afhankelijk worden van extra zuurstof toediening. Vaak sterven deze patiënten een vroegtijdige dood.</p> <p>Er zijn veel oorzaken waardoor de longblaasjes stuk gaan. Dit kan zijn door een fout in de genen, door roken of door luchtvervuiling. Een andere belangrijke oorzaak doet zich voor in economisch zwakkere landen (3de wereld) waar mensen eten koken en hun huis verwarmen door het verbranden van dierlijke ontlasting en hout, in slecht geventileerde ruimtes. Ontstekingen van de longen worden doorgaans behandeld met de ontstekingsremmer glucocorticosteroid (GSC). Helaas zijn de meeste mensen met COPD ongevoelig voor deze ontstekingsremmer. Onderzoek heeft uitgewezen dat er mogelijk een nieuw medicijn beschikbaar is, dat deze ongevoeligheid voor GSC zou kunnen wegnemen. Dat zou behandeling van patiënten met COPD mogelijk maken. In een muizenmodel voor COPD zal dit nieuwe medicijn uitgetest worden. Daarbij wordt bij muizen COPD geïnduceerd door hen herhaaldelijk bloot te stellen aan rook. Daarna kan het nieuwe medicijn in combinatie met GSC onderzocht worden. Het nieuwe medicijn is waarschijnlijk niet duur om te produceren, daarom is het niet uitgesloten dat dit medicijn ook beschikbaar wordt voor economisch zwakkere landen.</p>
3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	<p>De wereld gezondheidsorganisatie heeft berekend dat in het jaar 2020, deze aandoening aan de luchtwegen, doodsoorzaak nummer 3 wordt. Op dit moment is geen enkel medicijn beschikbaar om COPD patiënten te helpen.</p> <p>Wij hopen met het huidige onderzoek naar een nieuw medicijn de ongevoeligheid van mensen voor glucocorticosteroiden te kunnen verminderen, waardoor de behandeling van hun luchtwegklachten verbeterd kan worden.</p>
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	<p>Voor dit onderzoek zullen er in 3 jaar tijd 200 muizen worden gebruikt.</p>
3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	<p>Er kan eventuele kortademigheid optreden gedurende het model, net zoals bij COPD patiënten.</p>
3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	<p>Alle dierproeven in dit project zijn redelijk vergelijkbaar en de ernst van de dierproeven wordt op licht geschat.</p>
3.6 Wat is de bestemming	<p>Alle dieren worden gedood aan het einde van de proef. Dit gebeurt op een snelle en humane manier, waarbij het dier niet</p>

[

van de dieren na afloop? lijdt. Het dier moet worden gedood om goed te kunnen kijken naar de longen, weefsel en ontstekingscellen van de muis. Dit is van essentieel belang om een duidelijk resultaat naar voren te laten komen.

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 effect van de medicatie kan niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier. COPD is het resultaat van complexe processen in het lichaam, waarbij het afweersysteem en met name ontstekingscellen een rol spelen. Voor het onderzoek is het bestuderen van longweefsel en ontstekingscellen van essentieel belang, waardoor het onderzoek niet bij de mens uitgevoerd kan worden.

4.2 Vermindering

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

Binnen de afdeling is veel ervaring met de procedure. Hierdoor kunnen wij statistische berekeningen uitvoeren waarmee we het minimale aantal dieren kunnen bepalen, die nodig zijn om een statistisch significant verschil aan te tonen. Er hoeven geen extra dieren berekend te worden voor compensatie van mogelijke uitval tijdens het experiment omdat we uit ervaring weten dat er geen dieren dood gaan.

4.3 Verfijning

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

In dit project gebruiken wij een muizenmodel voor COPD. Dit model is gebaseerd op literatuur gegevens waarin ook de muis gebruikt werd en daarom hebben wij dit ook gedaan. Het gebruik van de muis in COPD modellen is algemeen geaccepteerd in the literatuur. Binnen de onderzoeksafdeling is ruim 20 jaar ervaring met de beschreven experimenten, waardoor wij met zekerheid verwachten dat er tijdens het experiment geen dieren dood zullen gaan of onnodig zullen lijden. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. Binnen de onderzoeksafdeling zijn verschillende technieken opgezet en geoptimaliseerd om afweer- en ademhalingsparameters in de muizen te kunnen meten die ook representatief zijn bij COPD in de mens (aantallen longcellen, typen ontstekingscellen en luchtwegfunctie veranderingen).

[

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

Tijdens de rookblootstelling zal het gehalte aan koolmonoxide en zuurstof concentraties nauwkeurig worden gecontroleerd en aangepast. Hiermee kunnen onnodige nadelige gevolgen van het roken voorkomen worden.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : **2015.II.243.003**
2. Titel van het project : **Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD**
3. Titel van de NTS : **Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD**

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

- Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: **13-03-2015**
 aanvraag compleet: **13-03-2015**
 in vergadering besproken: **18-03-2015**
 anderszins behandeld: **01-04-2015 (e-mailronde)**
 termijnonderbreking(en) van / tot : **24-03-2015 tot 31-03-2015**
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: **20-04-2015**

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: **24-03-2015**
- Strekking van de vraag / vragen: **De DEC heeft m.b.t. de NTS gevraagd toe te lichten wat de relevantie is van het noemen van slecht geventileerde ruimtes, omdat de DEC zich afvraagt wat de haalbaarheid is van het toepassen van de resultaten in de derde wereld**

en verzocht om overtuigender te beargumenteren hoe de onderzoeker verzekert dat hij een zo gering mogelijk aantal dieren zult gebruiken.

Over het projectvoorstel heeft de DEC de volgende vragen gesteld:

- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af, gezien de vele literatuur die over het gebruik van de beschreven inhibitor – inclusief muis-rookmodellen – bekend is, of dit onderzoek niet rechtstreeks in de mens kan plaatsvinden en wat de meerwaarde is van dit onderzoek. Graag nader toelichten aan de hand van meer achtergrondinformatie.
- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af of het rookmodel het juiste model is, omdat COPD ook kan ontstaan door andere oorzaken. De DEC verzoekt u in de projectaanvraag beter te motiveren waarom dit specifieke model het voor dit onderzoek juiste model is.
- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich af waar u de stelling op baseert dat PI3K-remmers zelfstandig ook een positief effect zouden kunnen hebben. Graag toelichten.
- 3.1, achtergrond: De DEC vraagt zich tenslotte af of er een resistentie te verwachten is tegen PI3K-remmers. Graag toelichten.
- 3.1, achtergrond: U schrijft dat er kleine modificaties zijn aangebracht in de PI3K remmers. Wat zijn deze modificaties en waarom zouden deze modificaties interessanter kunnen zijn dan de huidige PI3K remmers?
- 3.1, achtergrond en bijlage 1: De DEC vraagt zich af of de ongevoeligheid voor GCS bij COPD voor de muis en de mens wel hetzelfde zijn. Tevens vraagt de DEC zich af of deze ongevoeligheid bij de muis al aanwezig was, of pas later ontstaat. Bovendien vraagt de DEC zich af of deze ongevoeligheid bij de mens net zo snel te vinden is als bij de muis (na vijf dagen).
- De DEC ontvangt graag nadere informatie over het mechanisme van het ontstaan van de ongevoeligheid voor GSC. Graag toelichten.
- Datum antwoord: **31-03-2015**
- Strekking van het (de) antwoord(en): **N.a.v. de opmerkingen en vragen van de DEC is in de NTS nu duidelijk beschreven wat de relevantie is van het noemen slecht geventileerde ruimtes en is uitgelegd hoe de onderzoeker het gebruik van een zo gering mogelijk aantal dieren kan verzekeren.**

Met betrekking tot het projectvoorstel is de strekking van de antwoorden als volgt:

- De onderzoeker heeft aannemelijk gemaakt dat het onderzoek niet in mensen kan worden uitgevoerd.
- De onderzoeker beaamt dat er al veel bekend is over PI3K-remmers, maar kreeg de volgende reactie terug van het bedrijf dat de PI3K-remmers levert: "The PI3K inhibitors we are using are very potent and very Isoform selective PI3K delta, PI3K gamma, and PI3K delta/gamma inhibitors. There are no such compounds approved for use in human for respiratory diseases, and these compounds have not been previously tested for COPD. It would be unethical to use these compounds in human COPD in the absence of animal data."

- De onderzoeker heeft duidelijk aangegeven dat er is geen ander model beschikbaar is waarin glucocorticosteroid resistentie aangetoond kan worden in proefdieren. Dit staat beschreven in een tweetal toegevoegde referenties.
- De onderzoeker geeft aan dat voor 95% van de medicijnen die nu op de markt zijn geen (volledige) resistentie ontstaat. Bij psychofarmaca moet soms de dosering omhoog vanwege desensitisatie van de receptoren. Bij antibiotica ontstaat wel resistentie maar dat ligt niet aan de mens maar aan de bacterie.
- Het bedrijf dat de PI3K-remmers levert geeft aan: "The PI3K inhibitors we are using are very potent and very Isoform selective PI3K delta, PI3K gamma, and PI3K delta/gamma inhibitors." De precieze modificaties worden niet verstrekt i.v.m. patenten.
- De onderzoeker geeft aan dat niet met 100% zekerheid te zeggen is dat ongevoeligheid voor GCS bij COPD voor de muis en de mens hetzelfde zijn, maar dat er wel meerdere redenen zijn die daarvoor pleiten. De ongevoeligheid bij de muis ontstaat later, net zoals bij COPD patiënten. Deze ongevoeligheid is bij de mens niet net zo snel te vinden is als bij de muis.
- De onderzoeker geeft aan dat over het ontstaan van GCS weinig bekend is. Het algemene idee is dat reactieve zuurstof radicalen betrokken zijn bij de inductie. COPD is niet de enige ziekte waarbij GCS resistentie ontstaat. GCS resistentie komt ook voor bij andere chronische ontstekingsziekten zoals reuma en IBD, waarbij de ontstekingscellen ook radicalen produceren tijdens de afweer. COPD is een ontstekingsziekte maar in elke puf van een sigaret zitten ook nog eens 10¹⁴ radicalen dus samen met de ontstekingsreactie ontstaat GCS resistentie bij de meerderheid van de COPD patiënten. Een overmatige ontstekingsreactie en productie van radicalen in de longen is eveneens te verwachten door het verbranden van biomassa in slecht geventileerde woningen of COPD veroorzaakt door luchtvervuiling of diesel.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **Ja**

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 (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
- uit onderwijskundig oogpunt verantwoord.
- uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord.
- wettelijk vereist.

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en).

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. **Het belang wordt ingeschat als substantieel, omdat het onderzoek kan bijdragen aan het ontwikkelen van een therapie tegen COPD. Het aantal mensen met COPD neemt wereldwijd fors toe. COPD is voor degenen die dit treft een ernstig probleem met een progressief verloop, dat de kwaliteit van leven sterk aantast, en uiteindelijk kan resulteren in een vroegtijdige dood. COPD ontstaat door kapotte longblaasjes, die veroorzaakt worden door luchtvervuiling (omgevingsfactoren), roken of een fout in de genen. Vooralsnog is COPD slechts te behandelen met een glucocorticosteroid, waarvoor de meeste COPD patiënten ongevoelig zijn. Het wegnemen van deze ongevoeligheid zou behandeling van mensen met COPD sterk kunnen verbeteren.**

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. **De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.**

5. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:

- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Gefokt voor dierproeven (11)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Huisvesting en verzorging
- Locatie: instelling vergunninghouder (10g)

De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. **Het ongerief is door de onderzoeker ingeschat als licht. De dieren worden 2x per dag blootgesteld aan sigarettenrook gedurende 10 opeenvolgende dagen, met mogelijk kortademigheid als gevolg. Daarnaast zullen 3 groepen dieren PI3K remmers oraal toegediend krijgen en één groep GCS intraperitoneaal. Vlak voor euthanasie zullen alle dieren voor 2 minuten individueel gehuisvest worden. Gezien de handelingen en het eventuele gevolg van kortademigheid is de DEC van mening dat dit een realistische inschatting is.**
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. **Het is niet mogelijk om het medicijn bij mensen met COPD te testen, omdat het medicijn niet goed gekeurd is voor het gebruik bij mensen met een luchtweg aandoening en daar is ook nog geen onderzoek naar gedaan. Het effect van de medicatie kan ook niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier, omdat COPD een resultaat is van processen waarbij het afweersysteem en met name ontstekingscellen een rol spelen, waardoor in vitro onderzoek niet mogelijk is. Tevens moeten longweefsel en ontstekingscellen onderzocht worden, waardoor het onderzoek niet bij de mens uitgevoerd kan worden.**
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. **De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en proportioneel is ten opzichte van de gekozen strategie en looptijd. Er is binnen de onderzoeksgroep veel ervaring met het model, waardoor met een minimaal aantal dieren en zo min mogelijk ongerief bruikbare metingen kunnen worden gedaan in dit onderzoek.**
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. **De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Binnen de onderzoeksafdeling is voldoende ervaring met de beschreven experimenten, waardoor verwacht wordt dat er tijdens het experiment geen dieren dood zullen gaan of onnodig zullen lijden. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. Bovendien zal tijdens de rookblootstelling het gehalte aan koolmonoxide en zuurstof concentraties nauwkeurig worden gecontroleerd en aangepast.**
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De DEC Utrecht heeft gediscussieerd over het gebruik van dit rookmodel en de oorzaak van COPD. COPD wordt voor een groot deel veroorzaakt door roken, waarbij men de vraag kan stellen of het etisch toelaatbaar is om dieren te gebruiken voor een ziekte die mensen zichzelf hebben aangedaan. Anderzijds was 30 jaar geleden niet bekend dat roken dermate slecht was. Nu zijn daar de gevolgen van zichtbaar. Daarnaast is roken niet de enige reden van COPD, het komt ook steeds meer voor door luchtvervuiling of, in derde wereld landen, door het koken op biomassa in slecht geventileerde ruimtes. Een andere vraag is of het rookmodel wel representatief is voor de ziekte die men nu heeft; is er verschil tussen COPD als gevolg van omgevingsfactoren of als gevolg van roken?

Ondanks de uitgebreide discussie die gevoerd is, is de DEC op grond van de onder C genoemde overwegingen unaniem van mening dat het belang van de doelstelling, namelijk het vinden van een medicijn tegen COPD, substantieel is en opweegt tegen het lichte ongerief dat de dieren in dit onderzoek zullen ondervinden. De onderzoeker heeft duidelijk gemaakt dat dit specifieke model het enige beschikbare model is waarin glucocorticosteroid resistentie aangetoond kan worden in proefdieren. Het is niet mogelijk om het medicijn bij mensen met COPD te testen en ook vitro of ex vivo modellen alternatieven zijn niet beschikbaar. De DEC acht vertaling van de resultaten naar de mens mogelijk. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd 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.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Van: [REDACTED]
Verzonden: zondag 3 mei 2015 8:19
Aan: ZBO-CCD
Onderwerp: RE: Aanvullingen aanvraag AVD243002015108
Bijlagen: bijlage_-_beschrijving_dierproeven-COPD1.doc; COPD_nts1.doc; reply.docx

Geachte [REDACTED]

Bedankt voor het advise en de suggesties. Wij hebben hieronder de antwoorden weergegeven en deels verwerkt in de ingesloten formulieren.

Niet Technische Samenvatting

- In het antwoord op vraag 4.3 geeft u geen verklaring voor de diersoortkeuze. Gelieve dit alsnog te doen
- **Is nu gebeurd:** *In dit project gebruiken wij een muizenmodel voor COPD. Dit model is gebaseerd op literatuur gegevens waarin ook de muis gebruikt werd en daarom hebben wij dit ook gedaan. Het gebruik van de muis in COPD modellen is algemeen geaccepteerd in the literatuur.*
- In het antwoord op vraag 4.2 gebruikt u het woord "nihil" dat niet voor iedereen verstaanbaar is. Gelieve dit woord of de zin te veranderen. Dit is veranderd in: *dat er geen dieren dood gaan.*

Ik verzoek u een nieuwe NTS te sturen met de doorgevoerde aanpassingen.

Beschrijving dierproef

- In de beschrijving van de behandelingen van de dieren spreekt u onderaan p. 2 over een prescreen; bedoelt u hiermee de experimenten die u verderop (onderaan p. 2, doorlopend op p. 3) beschrijft?
- **Dit is inderdaad ongelukkig geformuleerd en is nu veranderd in:** *Op basis van deze ervaring, verwachten we dat wij aan 10 dieren per groep genoeg te hebben, maar dit kan nog veranderen als wij op basis van de eerste set experimenten een extreem andere variatie krijgen.*
- Kan u aangeven hoe groot het positief effect van de behandeling in de experimenten beschreven onderaan p. 2, doorlopend op p. 3 minimaal moet zijn om verder te gaan met het vervolgonderzoek?
- **Voor COPD geldt dat er geen enkel medicijn beschikbaar is, dus elke significante vermindering zou al een reden zijn om door te gaan. Echter, bij een vermindering van minimaal 30% van de verhoging zullen wij door gaan.**
- K. Inschatting van het ongerief: het is ons niet duidelijk of u bij inschatten van het ongemak t.g.v. het blootstellen aan de rook ook de onmiddellijke effecten van de blootstelling (aversie zonder ontwijkingsmogelijkheid, irritatie van ogen en luchtwegen) heeft meegenomen.
- **Hier is inderdaad al rekening mee gehouden. Het blootstellen aan de rook is irriterend en daarom wordt de blootstelling aan het aantal sigaretten per dag gedurende 4 dagen opgebouwd. Als het op deze manier gebeurd, zijn er minimale uiterlijke verschijnselen van irritatie zichtbaar. De muizen vertonen geen ander gedrag dan dat ze blootgesteld worden aan lucht. Vertonen niet of nauwelijks extra poetsgedrag of springgedrag (vermijding). De muizen krijgen ook geen rode ogen en de ademfrequentie gaat niet zichtbaar omhoog.**
- Daarnaast vragen we ons af of er binnen een periode van 10 aaneengesloten dagen al een gewenning aan de rook kan optreden (zoals u schrijft op de eerste regel op p.4). Hoe evalueert u of er bij de muizen gewenning optreedt?
- **Of er complete gewenning is, dat weten wij niet, maar op basis van het verlies aan lichaamsgewicht (wat stopt na 4 dagen rook blootstelling) nemen wij aan dat de dieren min of meer gewend zijn. Bovendien vertonen de muizen op dag 5, hun gewone gedrag indien de muizen blootgeseld worden aan rook. Ze zitten in een Perspex box met een metalen doorzichtig kooi waarin wij de**

dieren goed kunnen zien.

- En wat is het ongerief van de dieren t.g.v. de COPD-letsels en de kortademigheid? Voelen de dieren zich benauwd? Hoe beoordeelt u dit?
- Wij volgen het lichaamsgewicht van de dieren en observeren de dieren. Bovendien hebben wij al vele metingen vericht aan de luchtwegen in het wakkere dier of onder anesthesie en de basale luchtwegfunctie is niet veranderd na 5 of 10 dagen rookblootstelling. Wel hebben de muizen overgevoelige luchtwegen. Dus als wij aan stof toedienen die de luchtwegen doet samentrekken dan doen de muizen die rook hebben gehad dat meer (deze experimenten vinden plaats onder anesthesie). Af en toe is er een muis die wel wat apatisch is, met een verhoogde ademfrequentie maar dat is snel over (waarschijnlijk de nicotine die snel afgebroken wordt). Ik beschouw het ongerief van de rookprocedure en de pathologie van COPD bij de muizen als licht, mede omdat wij tijdens de rookprocedure de CO en O2 waarden monitoren en kunnen aanpassen.

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Zoals in de factuur staat, moeten de leges binnen 30 dagen door ons zijn ontvangen. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

De leges zijn betaald

Looptijd van het project is ook aangepast naar 3 jaar (NTS).

Vriendelijke groet,

[Redacted]
Van: ZBO-CCD [ZBO-CCD@minez.nl]

Verzonden: [Redacted] 2015 11:36

Aan: [Redacted]

Onderwerp: FW: Aanvullingen aanvraag AVD243002015108

Geachte [Redacted]

Ik had nog een vraag over deze aanvraag: in de *Aanvraag Projectvergunning Dierproeven* schrijft u onder 3.1 dat het project van 01/03/2015 tot 01/03/2018 loopt, dus **3 jaar**, maar in de *Bijlage Beschrijving Dierproeven* (onder B. De dieren) en in de *Niet-technische samenvatting* (onder 1.2 Looptijd van het project) spreekt u over een looptijd van **4 jaar**.

Ik neem aan dat u een projectaanvraag voor **4 jaar** ingediend heeft. Zou u zo vriendelijk willen zijn dit formeel te bevestigen? Dit kunt u per mail doen.

Met dank en vriendelijke groet

[Redacted]
Senior Adviseur

Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Van: ZBO-CCD

Verzonden: vrijdag 24 april 2015 17:39

Aan: [Redacted]

Onderwerp: Aanvullingen aanvraag AVD243002015108

Geacht [REDACTED]

Op 21 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Nieuwe en verbeterde medicatie mogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108. In uw aanvraag zitten voor mij nog enkele onduidelijkheden.

Niet Technische Samenvatting

- In het antwoord op vraag 4.3 geeft u geen verklaring voor de diersoortkeuze. Gelieve dit alsnog te doen
- In het antwoord op vraag 4.2 gebruikt u het woord "nihil" dat niet voor iedereen verstaanbaar is. Gelieve dit woord of de zin te veranderen.

Ik verzoek u een nieuwe NTS te sturen met de doorgevoerde aanpassingen.

Beschrijving dierproef

- In de beschrijving van de behandelingen van de dieren spreekt u onderaan p. 2 over een prescreen; bedoelt u hiermee de experimenten die u verderop (onderaan p. 2, doorlopend op p. 3) beschrijft?
- Kan u aangeven hoe groot het positief effect van de behandeling in de experimenten beschreven onderaan p. 2, doorlopend op p. 3 minimaal moet zijn om verder te gaan met het vervolgonderzoek?
- K. Inschatting van het ongerief: het is ons niet duidelijk of u bij inschatten van het ongemak t.g.v. het blootstellen aan de rook ook de onmiddellijke effecten van de blootstelling (aversie zonder ontwijkingsmogelijkheid, irritatie van ogen en luchtwegen) heeft meegenomen. Daarnaast vragen we ons af of er binnen een periode van 10 aaneengesloten dagen al een gewenning aan de rook kan optreden (zoals u schrijft op de eerste regel op p.4). Hoe evalueert u of er bij de muizen gewenning optreedt? En wat is het ongerief van de dieren t.g.v. de COPD-letsels en de kortademigheid? Voelen de dieren zich benauwd? Hoe beoordeelt u dit?

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Zoals in de factuur staat, moeten de leges binnen 30 dagen door ons zijn ontvangen. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

[REDACTED]
Senior Adviseur

Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

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.



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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	24300	
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Curax BV	
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
	1	Rookmodel

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.

De keuze van de specifieke PI3K-remmers is gebaseerd op bevindingen die gedaan zijn door Infinity Pharmaceuticals voor de ontwikkeling van een medicijn tegen rheuma (<https://ww2.rheumatology.org/apps/MyAnnualMeeting/ExploreMeeting/AbstractDetail?abstractId=28433>). Om nu inzicht te krijgen in de effecten van de behandeling met PI3K-remmers in een compleet immuunsysteem en een ontstekingen in de luchtwegen, wordt er gebruik gemaakt van het in vivo rookmodel.

Primaire uitkomstparameters zijn het aantal en type ontstekingscellen in de broncho-alveolaire lavage (BAL) vloeistof. Deze BAL vloeistof wordt verkregen door de muis intraperitoneaal een overdosis euthasaat toe te dienen. Nadat de dood is ingetreden wordt er bloed afgenomen en een slangetje in de luchtpijp

gebracht en wordt er vloeistof ingespoten en terug gezogen. Het aantal en type ontstekingscellen wordt gemeten in de verkregen vloeistof. Deze cellen zijn indicatief voor de effectiviteit van de behandeling

Secundaire parameters zijn ontstekingsparameters (cytokines) in bloed en de BAL vloeistof, histologische karakterisering van het longweefsel en de luchtwegfunctie. De luchtwegfunctie wordt voorafgaand aan de euthanasie gemeten. Dit is een non-invasieve methode waarbij de dieren individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog. Deze secundaire parameters zijn belangrijk om de effectiviteit te kunnen onderbouwen.

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect van de specifieke PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Hierdoor kunnen we nu met een n van 10 muizen per groep duidelijke verschillen tussen de groepen meten. We zullen groepen vergelijken die niet behandeld zijn met een medicatie, dan wel behandeld zijn met specifieke PI3K-remmers, een GCS, of een combinatie therapie van GCS en specifieke PI3K-remmers. Uitsluitend noodzakelijke controle groepen worden meegenomen.

Met deze experimentele aanpak en uitleesparameters verwachten wij de onderzoeksvragen na te kunnen beantwoorden.

(1) Braber et al, An association between neutrophils and immunoglobulin free light chains in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012, 185:817-24.

(2) Verheijden et al, Measurement of airway function using invasive and non-invasive methods in mild and severe models for allergic airway inflammation in mice. *Front Pharmacol.* 2014, 5:190-196

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.

Muizen worden blootgesteld aan lucht of sigarettenrook voor maximaal 20-25 min, 2 maal per dag met 5 uur rust, voor 10 opeenvolgende dagen. De sigaretten zijn standaard onderzoeks-sigaretten (Kentucky) die door onze groep en andere onderzoeksgroepen al jaren wordt gebruikt (<http://www2.ca.uky.edu/refcig/>). Na 5 dagen blootgesteld te zijn aan sigarettenrook is de GCS ongevoeligheid ontwikkeld. Vanaf dag 6 tot en met dag 10 wordt de mono of combi medicatie gegeven. De PI3K remmers zullen oraal toegediend worden en de GCS intraperitoneaal. Op dag 11 worden de dieren gedood en wordt de mate van luchtwegontsteking gekwantificeerd. Alle muizen zullen voorafgaand aan de euthanasie individueel voor 2 minuten worden gehuisvest in een perspexkamer van 30 cm in diameter en 20 cm hoog om de longfunctie te meten.

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

Het korte rookmodel (10 dagen) in muizen is inmiddels goed gestandaardiseerd waardoor wij in de huidige studie het effect de PI3K remmers betrouwbaar kunnen bestuderen (1). Tevens is er heel veel ervaring opgedaan en kennis vergaard omtrent het meten van de luchtwegfunctie (2). Op basis van deze ervaring verwachten we dat wij aan 10 dieren per groep genoeg hebben, maar dit kan nog veranderen als we op basis van de prescreen een ander effect of een andere variatie verwachten. We zullen de aantallen altijd baseren op een poweranalyse. De analyse van de resultaten is een anova analyse waarbij wij posthoc, gericht kijken naar de vergelijking GSC+PI3K-remmer vs GSC vs PI3K-remmer vs controle.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
- GCS behandeling (rook = 1 groepen)
- 3 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 3 groepen)

- combi GCS + 3 verschillende PI3K-remmer (rook = 3 groepen)
Bij 10 dieren per groep en minimaal 9 groepen per experiment hebben wij 90 dieren per experiment nodig.

Indien er een positief effect gevonden wordt met meerdere PI3K-remmers als mono of combi therapie, dan zal er vervolg onderzoek plaatsvinden. De meest potente PI3K-remmer (op basis van celaantal en longfunctie) zal geselecteerd worden. Vervolgens zullen er 4 verschillende doseringen van de meest succesvolle PI3K-remmer uitgetest gaan worden als mono en combi therapie.

- geen behandeling (lucht vs rook = 2 groepen),
- GCS behandeling (rook = 1 groep)
- 4 verschillende PI3K-remmer behandeling (rook = 4 groepen)
- combi GCS + 4 verschillende PI3K-remmer (rook = 4 groepen)
Bij 10 dieren per groep en minimaal 11 groepen per experiment hebben wij 110 dieren per experiment nodig.

B. De dieren

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

Balb/c muizen, geregistreerde fok, 200 over 4 jaar, alle muizen zijn volwassen bij aankomst (10-12 weken).

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.

Helaas is vervanging niet mogelijk. Het effect van de medicatie kan niet anders onderzocht worden dan in het intacte proefdier omdat voor de werking van GCS en de ongevoeligheid hiervoor de interactie tussen longen, rook en het immuunsysteem nodig is. Binnen de afdeling is ruim 20 jaar ervaring met de beschreven experimenten waardoor er tijdens het experiment geen dieren dood gaan. Hierdoor hoeven we dus ook geen reserve dieren aan te vragen voor de experimenten. De rookblootstelling wordt zeer nauwgezet geregeld. De CO en O2 concentraties worden continue gemonitord en aangepast indien nodig (CO dose = 150-300 ppm en O2 concentratie = 20 %). De blootstelling aan de sigarettenrook (20-25 min) vindt per dag oplopend plaats (dag 1, 4 tot 6

sigaretten, dag 2, 8-10 sigaretten, dag 3, 12-14 sigaretten, vanaf dag 4, 14 sigaretten). Dit is gedaan om de muizen te laten wennen aan de rook en om stress en uitval te voorkomen. We gebruiken de laatste paar jaren een door ons gestandaardiseerde rookopstelling, waarbij de dieren evenwichtig over de ruimte verdeeld worden en de sigarettenrook ook. Hierdoor kunnen wij bij elk experiment eenzelfde sigarettenrook blootstelling creëren.

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 blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen (zoals gewichtsverlies, verandering in ademhalingsfrequentie, suf worden). De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O₂ gehalte wordt gehandhaafd op 20%. Het lichaamsgewicht wordt elke dag gemeten en mag niet meer dan 15% dalen in 2 dagen.

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.

nvt

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?

Er kan eventuele kortademigheid optreden gedurende het model, net zoals bij COPD patienten.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Dit komt door het blootstellen aan sigarettenrook, dit veroorzaakt een luchtwegontsteking waardoor de ademfrequentie kan toenemen.

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

De blootstellingen aan rook zijn zo kort mogelijk gehouden om ongerief te voorkomen. De CO wordt nauwkeurig binnen de perken gehouden (150-300 ppm) en het O₂ gehalte wordt gemonitord op 20%. Het lichaamsgewicht wordt dagelijks gemeten.

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.

Gewichtsverlies. Wij nemen dieren uit het experiment wanneer het gewichtsverlies groter is dan 15% binnen een periode van 2 dagen.

Ademhalingsfrequentie, obstructie van de luchtwegen en cyanose wordt in de gaten gehouden maar daar zijn in het verleden nooit problemen mee ontstaan.

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

<2%, op basis van de afgelopen 20 jaar werken met dit rookmodel, weten we dat er incidenteel een dier kan uitvallen door niet proef gerelateerde zaken, dat is het risico van het werken met levende dieren.

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.

Orgaan isolatie en post mortem onderzoek. Daarmee kunnen wij essentiële metingen doen, namelijk de ontstekingscellen in de longen (BAL), en naar ontstekings-eiwitten in het bloed kijken.

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

Curax B.V.

Mijndensedijk 41a
3631 NN Nieuwersluis
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
AVD243002015108

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 13 mei 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 21 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 03 mei 2015 en op 12 mei heeft u uw aanvraag aangevuld. Enerzijds om enkele verduidelijkingen over de fasering en de ongeriefinschatting van het onderzoek te geven, anderzijds om enkele tekstuele aanpassingen in de niet-technische samenvatting door te voeren.

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 "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" starten. De vergunning wordt afgegeven van 13 mei 2015 tot en met 01 maart 2018.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de dierexperimentencommissie Academische Dierexperimentencommissie Utrecht 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, behalve voor wat de ongeriefinschatting betreft: die schatten we in als zijnde matig. Wij baseren ons hiervoor op Bijlage VIII van de EU-richtlijn 2010/63/EU¹.

Dit advies en de in de bijlage 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.

¹ Bijlage VIII van de EU-richtlijn 2010/63/EU, Deel III, 2 (Matig ongerief): "k) Ontkomings- en vermijdingsreacties uitlokken, waarbij het dier niet in staat is aan de prikkel te ontkomen of die te vermijden en waarbij naar verwachting matige angst wordt veroorzaakt."

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. 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: Curax B.V.
Adres: Mijndensedijk 41a
Postcode en woonplaats: 3631 NN Nieuwersluis
Deelnemersnummer: AVD24300

deze projectvergunning voor het tijdvak 13 mei 2015 tot en met 01 mei 2018, voor het project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108, volgens advies van Dierexperimentencommissie Academische Dierexperimentencommissie Utrecht . Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat wij het ongerief inschatten als zijnde matig.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is CSO. Voor de uitvoering van het project is een analiste verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 21 april 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale op 21 april 2015 en in aangepaste versie op 12 mei 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 20 april 2015, ontvangen op 21 april 2015

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Rookmodel	Muis (Mus musculus)	200	matig	geen

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 blijven schade

Datum

13 mei 2015

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD243002015108

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.

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Curax B.V.
Adres: Mijndensedijk 41a
Postcode en woonplaats: 3631 NN Nieuwersluis
Deelnemersnummer: AVD24300

deze projectvergunning voor het tijdvak 13 mei 2015 tot en met 01 mei 2018, voor het project "Nieuwe en verbeterde medicatiemogelijkheden voor COPD" met aanvraagnummer AVD243002015108, volgens advies van Dierexperimentencommissie Academische Dierexperimentencommissie Utrecht . Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat wij het ongerief inschatten als zijnde matig.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is CSO. Voor de uitvoering van het project is een analiste verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 21 april 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 21 april 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale op 21 april 2015 en in aangepaste versie op 12 mei 2015.
 - c. Advies van dierexperimentencommissie d.d. 20 april 2015, ontvangen op 21 april 2015

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
Rookmodel	Muis (Mus musculus)	200	matig	geen

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 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.