

Inventaris Wob-verzoek W16-21S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016525								
1	Aanvraagformulier				x		x		
2	Projectvoorstel			x					
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1			x					
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2			x					
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3			x					
7	Bijlage beschrijving dierproeven 4			x					
8	Bijlage beschrijving dierproeven 5			x					
9	Bijlage beschrijving dierproeven 6			x					
10	Bijlage beschrijving dierproeven 7			x					
11	DEC-advies				x		x		
12	Ontvangstbevestiging				x		x		
13	Verzoek aanvulling aanvraag + reactie				x		x		
14	Niet-technische samenvatting herzien	x		x					
15	Advies CCD		x						x
16	Beschikking en vergunning				x		x		

25 APR. 2016

ARV 108002016525



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 10800
 Nee > U kunt geen aanvraag doen

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

Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
KvK-nummer	3 0 2 7 5 9 2 4

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

Straat en huisnummer	Bolognalaan	50
Postbus	12007	
Postcode en plaats	3501AA	Utrecht
IBAN	NL27INGB0000425267	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht	

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

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

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

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

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- 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 6 . 2 0 1 6 |
| Einddatum | 3 1 . 0 5 . 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|-------------------------------|
| Naam DEC | DEC Utrecht |
| Postadres | Postbus 85500 3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |

4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 2.013,00 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

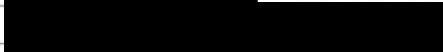
5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
 Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
 beschrijving dierproeven 3.4.4.1 - 3.4.4.7

6 Ondertekening

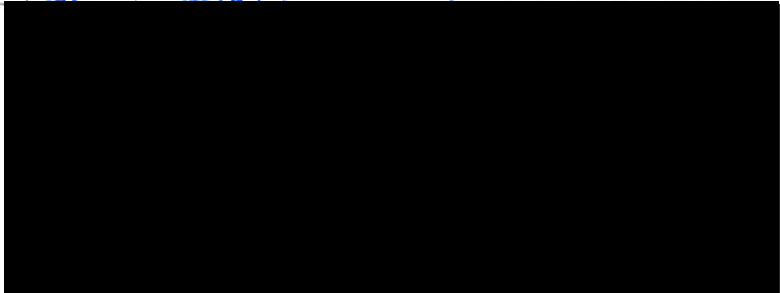
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende 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 20 - 4 - 2016

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.

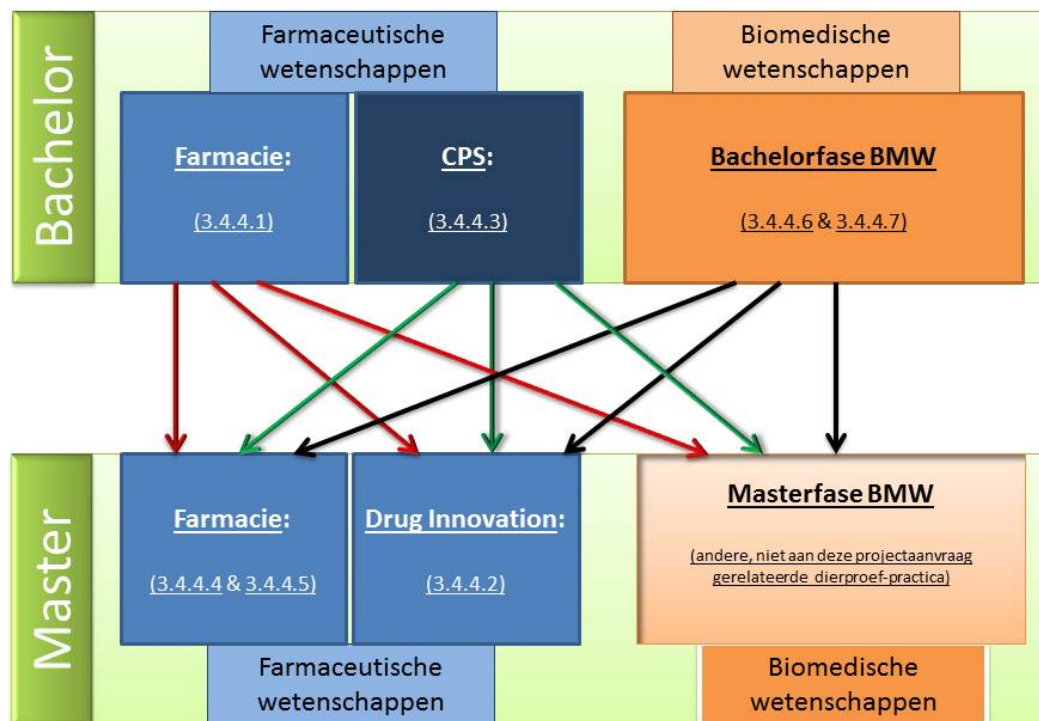
- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
 - Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
 - Geef in geval van 'hoger onderwijs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

Het departement **Farmaceutische Wetenschappen** verzorgt **vier** verschillende opleidingen.

Het betreft de bachelor Farmacie, de bachelor College of Pharmaceutical Sciences (CPS), de Master Drug Innovation en de Master Farmacie.

Studenten kunnen binnen het departement verschillende studietrajecten afleggen. De bacheloropleidingen bieden toegang tot verschillende masteropleidingen (ook buiten het departement), en de masteropleidingen zijn toegankelijk met verschillende bachelors.

Binnen de faculteit Geneeskunde worden studenten in de bachelor **Biomedische Wetenschappen** en de daarop aansluitende master opgeleid tot biomedisch wetenschapper. Er is een mogelijkheid met een afgeronde bachelor van BMW toe te treden tot de Master bij Farmacie en vice versa. In de onderstaande figuur worden de onderlinge verbanden tussen de opleidingen weergegeven. De pijlen geven de doorstroommogelijkheden van de studenten weer, en in de verschillende vakken zijn de practica numeriek weergegeven door vermelding van het corresponderende bijlage-nummer.



Gezien de gelijkheid tussen de invulling en de doelstellingen van de verschillende practica die in dit projectvoorstel worden meegenomen is ervoor gekozen de aanvraag van de verschillende departementen te combineren.

Het grootste deel van de studenten die binnen het departement Farmaceutische wetenschappen hun master afronden worden opgeleid tot apotheker of biomedisch wetenschapper. Bij biomedische wetenschappen wordt het overgrote deel van de studenten opgeleid tot biomedisch wetenschapper.

Binnen elke opleiding is er één cursus waarin proefdieren gebruikt worden, zodat studenten ongeacht hun studietraject ten minste éénmalig een cursus volgen waarin zij te maken krijgen met proefdieren.

Het betreft bij farmaceutische wetenschappen een verplicht blok in de bachelor Farmacie (3.4.4.1), en drie keuzevakken, in de Master Drug Innovation (3.4.4.2), de bachelor van het College of Pharmaceutical Sciences (CPS, Honours onderzoeksbachelor) (3.4.4.3), de Master Farmacie (3.4.4.4 en 3.4.4.5). Bij biomedische wetenschappen worden 2 cursussen in de bachelor geboden (3.4.4.6 en 3.4.4.7).

Gezien het karakter van het beroepsperspectief van de studenten is het aannemelijk dat een groot deel van hen later te maken zal krijgen met dierexperimenteel werk, waarvoor zij dienen te worden opgeleid. De andere studenten, voornamelijk diegenen die kiezen voor een opleiding tot apotheker, zullen in hun latere werkveld niet direct te maken krijgen met dierproeven. Zij zullen echter wel voortdurend indirect met proefdieren te maken hebben omdat geneesmiddelen nog steeds grotendeels getest zullen moeten worden op dieren, iets waarvan wij achten dat het noodzakelijk is dat zij zich dit goed realiseren.

Voor het praktisch onderwijs binnen de departementen wordt gebruik gemaakt van in vitro practica die het werken met levende dieren vervangen. Hierdoor zijn minder proefdieren nodig. In de huidige projectaanvraag gaat het om onderwijs waarbij wordt ingespeeld op de behoefte de studenten minimaal eenmalig in aanraking te laten komen met dierexperimenten, in het kader van hun opleiding. Hierbij vindt voortdurende oriëntatie plaats op nieuwe mogelijkheden tot vermindering, vervanging of verfijning. Het ervaren hoe het is om met dieren te werken draagt bij aan de studie/carrière van iedere student. Het is voor de maatschappij van groot belang dat toekomstig onderzoekers niet alleen vakkundig zijn maar ook op een verantwoorde en weloverwogen manier te werk gaan. In de verschillende bijlages staan doel en uitvoering meer uitvoerig beschreven.

Het is voor deze studenten van het grootste belang dat ze weten en ervaren hoe het is om met proefdieren te werken, hoe farmaca verschillende aspecten van een dier en diergedrag kan beïnvloeden en hoe je dit kunt meten. Deze studenten zullen in hun toekomstig werk vrijwel zeker te maken krijgen met dierexperimenteel werk als direct uitvoerende of als supervisor van een project.

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 practica die binnen het departement farmaceutische wetenschappen en biomedische wetenschappen worden gegeven hebben als hoofddoelstelling de studenten inzicht te laten vergaren in aansluiting met de leerdoelen binnen de gegeven cursussen, alsmede hen een introductie in het preklinisch onderzoek te bieden.

3.4.4.1 Dit practicum maakt deel uit van de cursus "Ontstekingen: Het geneesmiddel in chronisch inflammatoire aandoeningen".

Het practicum heeft met betrekking tot de leerdoelen als hoofddoelstelling de studenten van de bachelor Farmacie inzicht te laten vergaren in hoe complexe organen kunnen reageren op verschillende immunologische mediators, en hoe dit te beïnvloeden is met farmaca. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een organbadopstelling waarin darmmateriaal wordt gebruikt. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

Belangrijke leerdoelen zijn (1) te leren hoe mediators, die vrijkomen bij een allergische respons, van invloed zijn op de contractiliteit van de darm; (2) hoe dit op de juiste wijze te meten en (3) wat de effecten zijn van de agonisten/antagonisten die in deze context worden getest.

Hiervoor worden surplusdieren gebruikt.

Het educatieve aspect van het werken met dierlijk materiaal is van belang omdat de studenten binnen de bachelor farmacie verder niet in aanraking komen met proefdieren/dierlijk materiaal, terwijl hun latere werkveld mede bepaald wordt door onderzoek met proefdieren. Bovendien blijkt uit studentenevaluaties van de practica dat de leeropbrengst van het werken met dierlijk materiaal veel groter is, en ook de discussie hierover meer diepgang geeft. We vinden het belangrijk dat de studenten hier minimaal één keer mee in aanraking komen, omdat het ook een duidelijke bijdrage levert aan de bewustwording van de studenten.

Bij de start van de cursus worden de studenten er op attent gemaakt dat zij alvast moeten nadenken over de te maken ethische afweging. Hier wordt verwezen naar een aantal bronnen waar zij informatie kunnen vergaren over proefdieronderzoek, en er worden verschillende bronnen aangeboden waarmee zij videomateriaal kunnen bekijken van het uit te voeren practicum. Er wordt ook nog een ondersteunend college gegeven ter voorbereiding van het practicum zelf, zodat de studenten weten hoe zij de proeven dienen uit te voeren, en er wordt in de voorbereiding op het practicum ook een college bio-ethiek gegeven. Er zijn voorlopige afspraken gemaakt met de proefdierdeskundige om dit nog meer te benadrukken (in de vorm van een college gegeven door de proefdierdeskundige).

Na afloop vindt altijd een evaluatie plaats waarbij het overgrote deel van de studenten aangeeft dit practicum te waarderen en het gebruik van dierlijk materiaal te rechtvaardigen vindt.

3.4.4.2 Dit practicum maakt deel uit van de cursus Immunofarmacologie.

Het practicum heeft met betrekking tot de leerdoelen als hoofddoelstelling de Masterstudenten Drug Innovation inzicht te laten vergaren in verschillende aspecten van de complexe interactie tussen immuun cellen en de gevormde inflammatoire mediators. Hierbij wordt gebruik gemaakt van muismodellen waarin allergie wordt geïnduceerd, als voorbeeld van chronisch inflammatoire ziekten. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

Belangrijke leerdoelen zijn (1) kennismaking met technieken om luchtwegfunctie te meten, (2) kennismaking met technieken om immuunreacties te bepalen (op macroscopisch niveau); (2) analyse van cytokines en ontstekingscellen in verschillende weefsels met behulp van onder andere ELISA en flowcytometrie cytokines en histochemische technieken.

In deze experimenten kunnen geen surplus dieren gebruikt worden, omdat dieren uit verschillende kooien met elkaar vechten en daarbij vaak de oren beschadigen. In dieren met beschadigde oren is het niet mogelijk de allergische reactie te meten (met micrometer). Ook vrouwelijke dieren zijn niet geschikt omdat de hormooncyclus van invloed is op de sensibilisatie.

Het educatieve aspect van het werken met proefdieren is van belang om de Masterstudenten Drug Innovation op onderzoek-niveau (theoretisch en praktisch) kennis laten maken met de aspecten van preklinisch onderzoek in de immunofarmacologie. Deze groep studenten heeft gekozen voor een opleiding in het geneesmiddelenonderzoek. Om een zo reëel mogelijk beeld te laten krijgen van dit soort onderzoek en hen op een goede manier te onderwijzen hebben we diermodellen nodig.

De experimenten worden van te voren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen. Zoals ook in voorgaande jaren zullen we na afloop in de schriftelijke eindevaluatie vragen of men het gebruik van proefdieren in dit keuzepak gerechtvaardigd vindt.

In de afgelopen eindevaluaties gaven de studenten aan deze opzet zeer waardevol te vinden, welke niet vervangen kan worden door het bekijken van een video en/of werken met experimentregistratie.

3.4.4.3 Dit practicum maakt deel uit van de cursus Neuropsychopharmacology.

Het practicum heeft met betrekking tot de leerdoelen als hoofddoelstelling de bachelor studenten van het CPS inhoudelijke, technische kennis van het uitvoeren van een farmacologisch gedragsexperiment te laten verkrijgen. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

Belangrijke leerdoelen zijn (1) het leren uitvoeren van gedragsexperimenten; (2) inzicht vergaren in wat de belangrijke factoren in een dergelijk experiment zijn; (3) het ervaren hoe het is om met dieren te werken.

Er wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van beschikbare surplusdieren.

Het educatieve aspect van het werken met proefdieren is van belang om de bachelorstudenten van het CPS kennis te laten maken met dieronderzoek. Dit kan in belangrijke mate helpen bij het bepalen van de verdere verloop van de studie/carrière van iedere student. Het is voor de maatschappij van groot belang dat toekomstig onderzoekers niet alleen vakkundig zijn maar ook op een verantwoorde en weloverwogen manier te werk gaan.

De experimenten worden van tevoren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen. Zoals ook in voorgaande jaren zullen we na afloop in de schriftelijke eindevaluatie vragen of men het gebruik van proefdieren in dit keuzevak gerechtvaardigd vindt. In de afgelopen eindevaluaties gaven de studenten aan deze opzet zeer waardevol te vinden, welke niet vervangen kan worden door het bekijken van een video en/of werken met experimentregistratie.

3.4.4.4 en 3.4.4.5: Deze practica maken onderdeel uit van de cursus Advanced Pharmacology.

Het practicum heeft met betrekking tot de leerdoelen als hoofddoelstelling de Masterstudenten Farmacie inzicht te laten verkrijgen in de werkingsmechanismen van de belangrijkste farmaca klassen, hun agonist –antagonist interacties, en het kwantificeren daarvan *in vivo* en *in vitro*. Daarnaast zullen zij kritisch te leren kijken naar proefopzet en data interpretatie, en zelf ervaring op te doen met het werken met proefdieren. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

Belangrijke leerdoelen zijn: (1) het belang van dierexperimenteel gedragsonderzoek voor het verkrijgen van inzicht in de relatie tussen hersenfuncties en gedrag; (2) de relevantie van dierexperimenteel gedragsonderzoek als model voor psychiatrische stoornissen bij de mens; (3) enkele kerntechnieken (o.a. hanteren van dieren, observeren van gedrag, gegevensverwerking); (4) Kernproblemen die spelen bij dierexperimenteel onderzoek (o.a. biologische variatie *in vivo* en *in vitro*); (5) wat het bedenken en opzetten van experimenten qua logistiek en planning inhoudt.

Hiervoor worden surplusdieren gebruikt.

Het educatieve aspect van het werken met proefdieren is van belang om de Masterstudenten Farmacie (wie een zeer selecte groep mensen vormen die inmiddels bewust gekozen heeft voor een carrière in het geneesmiddelen onderzoek) inzicht te laten vergaren op het gebied van experimenteel onderzoek die niet op een andere manier te verkrijgen zijn. Het zelf voorbereiden, uitvoeren en uitwerken van de experimenten in deze practica geeft studenten een goed beeld van het vakgebied, inzicht in biologische variatie, rol van experimentator effecten, belang van controle condities en standaardisatie. Inzicht krijgen in de effecten van geneesmiddelen op hersensystemen aan de hand van gedragsobservaties is extra relevant, aangezien het observeren van diergedrag bij het werken met proefdieren altijd belangrijk is voor het dierenwelzijn en de kwaliteit van de proef. Al deze aspecten zijn van belang om zelf kwalitatief goed onderzoek te leren uitvoeren, maar ook om een kritische houding te kunnen ontwikkelen ten aanzien van interpretatie en validiteit van experimenteel

verkregen data in het algemeen.

De experimenten worden van te voren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen. Zoals ook in voorgaande jaren zullen we na afloop in de schriftelijke eindevaluatie vragen of men het gebruik van proefdieren in dit keuzevak gerechtvaardigd vindt. In de afgelopen eindevaluaties gaven de studenten aan deze opzet zeer waardevol te vinden. Hierbij is gebleken dat het werken met levende dieren/levend materiaal een grotere leeropbrengst heeft, en niet vervangen kan worden door het bekijken van een video en/of werken met experimentregistratie

3.4.4.6: Dit practicum maakt deel uit van de jaarlijkse cursus Advanced Neuroscience.

Het practicum heeft met betrekking tot de leerdoelen als hoofddoelstelling de bachelor studenten van biomedische wetenschappen te leren hoe de logistiek, uitvoering en planning van een dierproef in zijn werk gaat. Het practicum is zodanig opgezet, dat de studenten binnen drie proeven kennis maken met verschillende componenten van gedragsonderzoek, te weten; een experiment met muizen en een met ratten, een experiment automatische en een met hand-gescoorde data analyse, een experiment met farmacologische interventie en een niet-farmacologisch experiment. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

Belangrijke leerdoelen hierbij zijn: (1. het belang van dierexperimenteel gedragsonderzoek voor het verkrijgen van inzicht in de relatie tussen hersenfuncties en gedrag, 2. de relevantie van dierexperimenteel gedragsonderzoek als model voor psychiatrische stoornissen bij de mens, 3. enkele kerntechnieken (o.a. hanteren van dieren, observeren van gedrag, gegevensverwerking), 4. Kernproblemen die spelen bij dierexperimenteel gedragsonderzoek (o.a. biologische variatie), en 5. wat het bedenken en opzetten van een gedragsexperiment qua logistiek en planning inhoudt.

Hiervoor kunnen enkel intacte dieren worden gebruikt. Er wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van surplusdieren. In één van de onderdelen van het practicum is dit gezien de proefopzet niet mogelijk.

Het educatieve aspect van het werken met proefdieren is van belang omdat de kans zeer groot is dat de Biomedische bachelor studenten tijdens hun latere beroepsuitoefening met proefdieren zullen gaan werken is het derhalve wenselijk dat ze tijdens hun opleiding ervaring met proefdieren opdoen. Bovendien wordt het onderwijs zo dichtbij de dagelijkse praktijk van biomedisch onderzoek gegeven.

Het practicum wordt door de deelnemers geëvalueerd, waarbij is voorgaande jaren door de overgrote meerderheid wordt aangegeven dat het uitvoeren van het practicum met proefdieren veel leerzamer en effectiever te vinden dan d.m.v. video-opnames. Hierover is indertijd overleg geweest met het NKCA, dat aangaf ervaring met proefdieren voor BMW-studenten essentieel te vinden. Verder is het practicum dusdanig opgezet dat het aantal benodigde dieren minimaal is, een verdere vermindering is niet mogelijk (zie A). De experimenten worden al jarenlang uitgevoerd binnen deze afdeling en zijn helemaal uitontwikkeld. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

De experimenten worden van te voren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen.

Zoals ook in voorgaande jaren zullen we na afloop in de schriftelijke eindevaluatie vragen of men het gebruik van proefdieren in dit keuzevak gerechtvaardigd vindt. In de afgelopen eindevaluaties gaven de studenten aan deze opzet zeer waardevol te vinden, welke niet vervangen kan worden door het bekijken van een video en/of werken met experimentregistratie

3.4.4.7: Het project betreft een practicum in de keuzecursus General Pharmacology (Algemene Farmacologie).

Het practicum heeft met betrekking tot de leerdoelen als hoofddoelstelling de bachelor studenten van biomedische wetenschappen te leren vaststellen wat

het gedragsprofiel van psychofarmaca is. Het practicum omvat twee practicum-onderdelen waarbij proefdieren worden gebruikt, te weten (1) Open veld test en (2) Screening van psychofarmaca. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

De leerdoelen van het practicum zijn: (1) vaststellen, aan de hand van eigen observaties aan het gedrag van ratten na toediening van psychofarmaca, wat het gedragsprofielen van de farmaca zijn. Door het door de student waargenomen profiel te vergelijken met gegeven werkingsprofielen van zes psychofarmaca stelt de student zelf vast welk farmacon aan de ratten is toegediend; (2) aan de hand van de observaties en de gegeven effecten verdieping van eerder verworven (theoretische) kennis van en inzicht in de werkingsmechanismen van de klassen van psychofarmaca waartoe de farmaca behoren; (3) inzicht verkrijgen in de mogelijkheden en moeilijkheden betreffende de ontwikkeling van nieuwe psychofarmaca; (4) inzicht verkrijgen in het fenomeen biologische variatie; (5) kennis maken met het uitvoeren van gedragsonderzoek met proefdieren.

Het educatieve aspect van het werken met proefdieren is van belang om de Biomedische bachelor studenten middels het in vivo practicum kennis te laten maken met gedragsonderzoek met proefdieren. Gedragsonderzoek is een belangrijk onderdeel van neurowetenschappelijk onderzoek. A.d.h.v. dit practicum maakt de student in de bachelor fase al kennis met in onderzoek met proefdieren. Dit draagt bij aan een beter overwogen keuze voor een vervolg (master)opleiding.

De experimenten worden van te voren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen. Om de mening van deelnemende studenten te peilen wordt elk jaar het practicum geëvalueerd. Uit deze evaluaties blijkt dat de een grote meerderheid van de deelnemers het practicum dat het gebruik van proefdieren gerechtvaardigd is.

3.3 Belang

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

De deel van de studenten die binnen het departement Farmaceutische wetenschappen worden opgeleid zal later zelf werkzaam zijn in het preklinisch onderzoek. Daarom is het nodig dat er onafhankelijk van het instroompunt (bachelor, master) een cursus wordt geboden waarin deze studenten daarop kunnen voorbereid.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

De plaats van de practica binnen de opleidingen wordt hieronder per practicum uiteengezet.

Binnen de opleiding farmacie stromen vanuit de bachelor veel studenten door naar de master farmacie, waarbij studenten uiteindelijk kiezen om opgeleid te worden tot apotheker. Veel van deze studenten zal gedurende de rest van hun opleiding geen onderwijs meer volgen waarin dierproeven een rol spelen, terwijl deze mensen later werkzaam zullen zijn in een sector die direct afhankelijk is van proefdieronderzoek. Daarom achten wij het raadzaam dat zij er in ieder geval tijdens de bachelor mee in aanraking komen.

Binnen de master farmacie voorziet het keuzevak in de behoefte verdere verdieping aan te brengen in het onderwijs aangaande preklinisch onderzoek voor de selecte groep studenten die binnen deze master kiest voor geneesmiddelenonderzoek. De bachelor studenten van het CPS en de masterstudenten van Drug Innovation worden opgeleid tot (biomedisch) onderzoekers. De bachelor CPS en de Master Drug Innovation zijn erop gericht studenten op te leiden om innovatieve en nieuwe medicijnen te gaan ontwikkelen. Om de studenten hierop voor te bereiden is het logisch dat zij ook worden onderwezen in het preklinisch onderzoek.

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

3.4.4.1: orgaanbad studie cavia

3.4.4.2: muismodel voor allergisch astma

3.4.4.3: psychofarmacologisch gedragsonderzoek rat

3.4.4.4: orgaan bad studie cavia

3.4.4.5: psychofarmacologisch gedragsonderzoek rat

3.4.4.6: gedragsonderzoek muis en rat

3.4.4.7: gedragsonderzoek rat

3.4.4.1: Het orgaanbad-practicum heeft als hoofddoelstelling de studenten inzicht te laten vergaren in hoe complexe organen kunnen reageren op verschillende mediators, aansluitend op de leerdoelen binnen het blok. Belangrijke leerdoelen zijn (1) te leren hoe mediators, die vrijkomen bij een allergische respons, van invloed zijn op de contractiliteit van de darm; (2) hoe dit op de juiste wijze te meten en (3) wat de effecten zijn van de agonisten/antagonisten die in deze context worden getest. Daarnaast voorziet het practicum in de behoefte studenten binnen de bachelor tenminste éénmalig te laten werken met dierlijk materiaal.

3.4.4.2: Het keuzevak Immunofarmacologie geeft een introductie in het preklinisch geneesmiddel onderzoek. We hopen de studenten daarmee een beeld te geven van deze onderzoeksrichting. Belangrijke leerdoelen zijn (1) kennismaking met technieken om luchtwegfunctie te meten, (2) kennismaking met technieken om immuunreacties te bepalen (op macroscopisch niveau); (2) analyse van cytokines en ontstekingscellen in verschillende weefsels met behulp van onder andere ELISA en flowcytometrie cytokines en histochemische technieken.

3.4.4.3: De algemene doelstelling van dit practicum is de studenten te laten kennismaken met Psychofarmacologisch dieronderzoek. Belangrijke leerdoelen zijn (1) het leren uitvoeren van gedragsexperimenten; (2) inzicht vergaren in wat de belangrijke factoren in een dergelijk experiment zijn; (3) het ervaren hoe het is om met dieren te werken. Niet alleen de kennis en vaardigheden die met de uitvoering van verschillende technieken en gedragstesten verkregen wordt is hier van belang, het gaat hier ook om de ervaring die samenhangt met het werken met proefdieren. De studenten van het College of Pharmaceutical Sciences (CPS) worden opgeleid tot biomedische onderzoekers. In een groot deel van het onderzoek op dit gebied worden proefdieren gebruikt. Het is voor deze studenten van het grootste belang dat ze weten en ervaren hoe het is om met proefdieren te werken, hoe farmaca verschillende aspecten van een dier en diergedrag kan beïnvloeden en hoe je dit kunt meten. Deze studenten zullen in hun toekomstig werk vrijwel zeker te maken krijgen met dierexperimenteel werk als direct uitvoerende of als supervisor van een project.

3.4.4.4 en 3.4.4.5: De *in vitro* en *in vivo* practica binnen de cursus Advanced Pharmacology hebben als doel inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van de belangrijkste farmaca klassen, hun agonist –antagonist interacties, en het kwantificeren daarvan *in vivo* en *in vitro*. Deze kennis kan vervolgens worden toegepast om het werkingsmechanisme van niet-selectieve farmaca te karakteriseren. De studenten leren zelf experimenten opzetten en uitvoeren, wat inzicht verschaft in biologische variatie, en binnen- en tussen experiment variatie, inzicht in het belang van standaardisatie van onderzoek en uitleesmaten, en illustreert het belang van een adequate proefopzet.

3.4.4.6: Het practicum binnen de cursus Advanced Neuroscience heeft als doel om een goede illustratie te geven van 1. het belang van dierexperimenteel gedragsonderzoek voor het verkrijgen van inzicht in de relatie tussen hersenfuncties en gedrag, 2. de relevantie van dierexperimenteel gedragsonderzoek als model voor psychiatrische stoornissen bij de mens, 3. enkele kerntechnieken (o.a. hanteren van

dieren, observeren van gedrag, gegevensverwerking), 4. Kernproblemen die spelen bij dierexperimenteel gedragsonderzoek (o.a. biologische variatie), en 5. wat het bedenken en opzetten van een gedragsexperiment qua logistiek en planning inhoudt. Het onderwijs wordt zo dichtbij de dagelijkse praktijk van biomedisch onderzoek gegeven.

3.4.4.7: Het practicum binnen de cursus Algemene Farmacologie heeft als doel inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van de belangrijkste farmaca klassen, hun agonist –antagonist interacties, en het kwantificeren daarvan *in vivo*. Deze kennis kan vervolgens worden toegepast om het werkingsmechanisme van niet-selectieve farmaca te karakteriseren. Het zelf opzetten en uitvoeren van de experimenten geeft inzicht in biologische variatie, en binnen- en tussen experiment variatie, inzicht in het belang van standaardisatie van onderzoek en uitleesmaten, en illustreert het belang van een adequate proefopzet.

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 hierboven al uiteengezet is willen wij de studenten een opleiding bieden waarin zij ook kennis kunnen maken met preklinisch onderzoek. In de bachelor farmacie is hier vooral sprake van een kennismaking met dierlijk materiaal, voor de CPS studenten wordt al meer verdieping geboden daar deze groep studenten al duidelijk gekozen heeft voor een opleiding tot biomedisch onderzoeker. De studenten biomedische wetenschappen zullen in hun latere beroepsuitoefening zeer waarschijnlijk met proefdieren gaan werken, vandaar dat het wenselijk is dat ze tijdens hun opleiding ervaring opdoen met dierproeven. In de masteropleidingen Farmacie en Drug Innovation is komen de verschillende aspecten van het uitvoeren en opzetten van preklinisch onderzoek in nader detail aan bod.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Orgaanbad practicum FA302
2	Immunofarmacologie FA412
3	Practicum CPS FA336B Neuropsychopharmacology
4	In vitro practicum DI411
5	In vivo practicum DI411
6	Advanced Neuroscience
7	Algemene Farmacologie
8	
9	
10	



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 | Dierproeven in het kader van de practica Neuro-immunofarmacologie van Farmaceutische Wetenschappen en Biomedische wetenschappen
- 1.2 Looptijd van het project | Januari 2016-januari 2021
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Practicum – onderwijs – farmaceutische wetenschappen – biomedische wetenschappen

2 Categorie van het project

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

3 Projectbeschrijving

- | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang) | De doelstelling van dit project is om studenten praktisch onderwijs te kunnen bieden in het kader van hun opleiding, waarbij zij in aanraking zullen komen met preklinisch onderzoek, gerelateerd aan immunofarmacologie en neurofarmacologie. Het maatschappelijk belang hierbij is dat de studenten, wie in hun latere carrière direct of indirect betrokken zullen zijn bij preklinisch onderzoek, weet hebben van wat het inhoudt om met proefdieren te werken. |
| 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | De studenten die binnen onze opleidingen worden onderwezen, zullen worden opgeleid tot biomedisch onderzoeker, geneesmiddelenonderzoeker of apotheker. In hun latere werkveld zullen zij in aanraking komen met de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen. Hierbij is het essentieel om kennis van en enige ervaring met proefdieronderzoek te hebben. De plaats van de farmacologische practica, waarbij wordt gekeken naar de uitwerking van geneesmiddelen op het immuunsysteem/gedrag is, zorgvuldig gekozen op basis van de aansluiting op de leerlijnen van het curriculum. De opbrengst van deze practica is dat de studenten goed voorbereid zijn op hun latere werkveld. Hiervoor is het belangrijk dat zij op de hoogte zijn van de verschillende stappen die benodigd zijn voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen. |
| 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? | Er zullen in verschillende farmacologische practica, afhankelijk van de leerdoelen binnen de cursus, muizen, ratten of cavia's worden ingezet. In totaal gaat het om ongeveer 170 dieren per jaar. Er wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van surplus dieren. |
| 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | Diverse onderdelen veroorzaken licht ongerief bij de dieren. Sommige dieren kunnen lichte pijn ervaren, bijvoorbeeld als gevolg van een injectie. Ook kunnen de dieren in sommige onderdelen last krijgen van irritatie aan de huid. Daarnaast kunnen de dieren stress ervaren als gevolg van een verdoving, of doordat ze worden opgepakt. De diermodellen waarmee gewerkt wordt binnen de practica zijn zo gekozen, dat deze goed aansluiten bij de te leren vaardigheden maar tevens de dieren zo weinig mogelijk belasten |
| 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? | De meeste practica binnen dit projectvoorstel veroorzaken licht ongerief. In de overige practica worden de dieren gedood zonder voorafgaande behandeling; dit wordt daarom ingeschat als geen verder ongerief. |
| 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop? | Bij een aantal practica worden de dieren gedood om het onderzoek te kunnen uitvoeren. Bij de practica waarbij dat niet het geval is, worden de dieren na afloop aangeboden voor hergebruik. |

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 worden.

We vinden het belangrijk dat de studenten gedurende hun opleiding in aanraking komen met dierproeven, omdat zij hier in hun latere werk ook direct of indirect mee te maken zullen krijgen. Het overgrote deel van de studenten geeft ook aan de practica veel leerzamer te vinden dan bijvoorbeeld een video of een computersimulatie. Er zijn voor het type practica dat gegeven wordt geen volwaardige alternatieven beschikbaar.

4.2 **Vermindering**

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

Er worden zo min mogelijk dieren gebruikt. Om praktische redenen kan voor sommige practica niet verder worden verminderd omdat er niet minder dan 1 dier per practicum dag kan worden ingezet. Voor de overige practica is berekend hoe we zo min mogelijk dieren kunnen gebruiken om de studenten toch een betrouwbaar resultaat te laten verkrijgen.

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.

Aan preklinisch onderzoek komen proefdieren te pas. De studenten binnen onze opleidingen worden opgeleid tot biomedisch wetenschappers en apotheker, en hun latere werkveld is dus sterk verbonden aan het preklinisch onderzoek. Om ze hierop voor te bereiden vinden we het wenselijk dat ze hier tijdens hun opleiding al wat over leren. We gebruiken knaagdieren omdat deze in het preklinisch onderzoek ook veel gebruikt worden. Er wordt binnen de cursussen veel aandacht besteed aan bio-ethiek. Hiervoor worden onderwijsbijeenkomsten zoals hoorcolleges verplicht gesteld om de studenten goed te informeren en ook mogelijkheden te bieden discussies op dit vlak aan te gaan. Dat betekent dat er wordt ingegaan op het feit dat en waarom er proefdieren worden ingezet bij het practicum, en welke procedures er daarbij moeten worden doorlopen. Maar ook komt de thematiek van het gebruik van proefdieren bij onderzoek in bredere zin aan de orde, net als het belang van de 3Vs.

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

Bij de huisvesting wordt veel aandacht besteed aan de diervriendelijkheid. De dieren worden volgens de geldende richtlijnen gehuisvest. De dieren worden dagelijks gecontroleerd, zodat mogelijk ongerief als gevolg van de handelingen snel kan worden geconstateerd. Indien dit aan de orde is kan er snel en adequaat worden gehandeld om dit te verminderen. Tijdens de practica waar injecties worden toegediend zullen deze worden gegeven door een ervaren analist. Daar waar mogelijk worden de geneesmiddelen die worden toegediend aan de dieren gegeven in een zoete vloeistof, zodat de dieren dit zelf opdrinken en

[

proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

een injectie niet nodig is. De dieren die tijdens het practicum worden gedood worden van tevoren onder narcose gebracht.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf



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 |
|------------|---------------------------|
| 3.4.4.1 | Orgaanbad practicum FA302 |

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.

Er wordt op de practicum-dag één cavia gedood, waarna darmweefsel wordt geïsoleerd. Dit darmweefsel wordt in het practicum gebruikt om te kijken naar effecten van mestcelmediatoren en/of verschillende farmaca op de contractiliteit. Voor de studenten zijn de belangrijkste leerdoelen hierbij (1) te leren hoe mediators, die vrijkomen bij een allergische respons, van invloed zijn op de contractiliteit van de darm; (2) hoe dit op de juiste wijze te meten en (3) wat de effecten zijn van de agonisten/antagonisten die in deze context worden getest.

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.

De cavia's worden gedood, waarna darmweefsel wordt verzameld en in een orgaanbad opstelling geplaatst.

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

Er wordt per dag één dier gedood. Hiermee kunnen 30 studenten de gehele dag metingen uitvoeren op darmweefsel. Er zijn maximaal 130 studenten per cursus, en omdat we de studenten kunnen opdelen in groepen van maximaal 30 personen betekent dit dat we maximaal 5 cavia's per cursus nodig hebben. De cursus wordt twee keer per jaar gegeven. In totaal zouden we daarom 50 dieren nodig hebben.

B. De dieren

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

Cavia, niet genetisch gemodificeerd: we gebruiken cavia's omdat de contractiliteit van de caviadarm goed te meten is met onze practicumopzet. Ook de verschillende stoffen die de studenten gebruiken om naar de contractiliteit te kijken zijn veelvuldig getest binnen deze context; daarvan weten we hoe de respons van de darm eruit zou moeten zien. Men zou kunnen spreken van een gevalideerde practicumopzet.

Surplus dieren uit geregistreerde fok, 4 tot 12 weken oud (300 tot 500 gram): Er wordt gebruik gemaakt van surplusdieren, omdat het niet erg veel uitmaakt als er spreiding zit in de leeftijd/gewicht/geslacht van de dieren. We uitgaan van 50 dieren voor de gestelde looptijd: $5 \text{ (cavia's/cursus)} \times 2 \text{ (cursus/jaar)} \times 5 \text{ (jaar)} = \text{maximaal } 50 \text{ cavia's}$.

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.

omdat het niet erg veel uitmaakt als er spreiding zit in de leeftijd/gewicht/geslacht van de dieren

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: We willen de studenten laten zien welke effecten de mediators hebben op een complex orgaan, in de context van overgevoelighedsreacties, en dat deze respons gemoduleerd kan worden met farmaca. Dit is niet na te bootsen met cellijnen. Er wordt in de voorbesprekingen wel aandacht besteed aan de mogelijk alternatieven voor het uitvoeren van dit practicum, zo hebben we in het blokboek van de cursus opgenomen dat er simulators beschikbaar zijn (bijvoorbeeld: guinea pig ileum (<http://www.sheffbp.co.uk/products/gpgileum.htm>)).

Vermindering: We hebben op praktische gronden een minimum aantal dieren van 50 aangevraagd. Er is geen mogelijkheid om minder dan één dier per practicumdag te gebruiken.

Verfijning: de dieren ondervinden geen ongerief als gevolg van geplande handelingen. Ze worden volgens de richtlijnen gehuisvest, om eventueel ongerief te verminderen zijn er geen additionele opties.

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 worden niet aan verdere behandelingen onderworpen en zullen volgens de richtlijnen worden gehuisvest.

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 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?

nee

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

nvt

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

nvt

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, de cavia's worden gedood en ondervinden verder geen handelingen

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 wordt darmweefsel geïsoleerd uit deze 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



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="Immunofarmacologie"/> |

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.

In het keuzevak wordt gebruik gemaakt van een model voor Type IV overgevoeligheid (allergie). Dit is een veel gebruikt model op de afdeling ter bestudering van de rol van het immuunsysteem in allergie en voor de identificatie van nieuwe therapeutische aangrijpingspunten. Met name de milde vorm van sensibilisatie en het kortdurende protocol van behandeling maken het model geschikt om de studenten in het Immunofarmacologie keuzevak in contact te brengen met dit type dierexperimenteel onderzoek. De muizen worden in een kortlopend experiment gesensibiliseerd via de huid met een haptene (contact allergeen). Hierdoor vindt systemische sensibilisatie plaats. Na 5-6 dagen worden de dieren op het oor gechallenged met het contactallergeen om een immunresponse te initiëren, die leidt tot lokale cytokine productie en een milde oedeemvorming op 24 uur na provocatie. De basale luchtwegfunctie wordt

gemeten in een bodyplethysmografische kamer (Buxco), waarin luchtwegfunctiemeting mogelijk zonder noodzaak tot verdoven en cannulatie van de trachea (non-invasief). Hiertoe worden de muizen gedurende enkele minuten blootgesteld aan een nevel van metacholine leidend tot een lichte benauwdheid, die vrijwel direct na beëindiging blootstelling verdwenen is. Bij astmapatienten wordt op een vergelijkbare manier longfunctie gemeten. Na afloop van dit experiment worden de dieren direct gedood, wordt oordikte gemeten en worden verschillende organen verzameld voor nadere analyse (histologie, in situ cytokine productie, restimulatie van miltcellen met allergeen). In de experimenten wordt oorzwellings gemeten als mate voor sensibilisatie en allergische respons.

Een power analyse is gedaan om de groepsgrootte te bepalen. De volgende assay constanten werden gebruikt (gemeten in de voorgaande experimenten): sigma: 30, delta: 50, alpha=0.05. Berekening van het aantal dieren op grond van een experiment met "continue uitkomst" leidt dit tot een groepsgrootte van groter dan 5,65 om statistisch significante waarden te bereiken. Het aantal dieren per groep wordt hierdoor N=6. Deze groepsgrootte is voldoende om binnen een experiment voldoende power te hebben om experimentele verschillen tussen behandelingsgroepen te detecteren.

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.

1. Muizen worden gevoelig gemaakt voor een allergeen door de huid van de muizen 2 maal bloot te stellen aan het allergeen (dag 0 en 1). Op dag 0, wordt het allergeen op zowel de poten als geschoren buik gesmeerd. Op dag 1, alleen op de huid van de buik (om evt irritatie van de poten en ongerief te voorkomen). De helft van de muizen wordt alleen met vehicle (aceton/olijfolie) behandeld. Deze groep dient als niet-allergische controle.
2. Op dag 5 of 6 na sensibilisatie worden de dieren eenmaal op een oor gechallenged met het allergeen, het andere oor ontvangt alleen het vehicle.
3. 24 Uur na de oorchallenge worden een aantal dieren (2 niet-gesensibiliseerde en 2 gesensibiliseerde) blootgesteld aan metacholine in een BUXCO kamer. Vervolgens worden alle dieren gedood dmv overdosis pentobarbital of cervicale dyslocatie. Hierna worden diverse organen geïsoleerd voor verdere bewerking/analyse.

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

In het keuzevak worden 12 muizen gebruikt (6 gesensibiliseerd en 6 niet-gesensibiliseerd), waarvan de weefsels door 2-3 groepen van 6-8 studenten nader geanalyseerd worden. Dit betekent dat elke groep studenten 2-3 muizen uit beide groepen zal analyseren. De data van alle groepen studenten zullen aan het eind van het blok gecombineerd worden zodat we een totaal van 6 muizen per behandelingsgroep hebben. Dit aantal is noodzakelijk om statistische analyses tussen de behandelingsgroepen uit te kunnen voeren.

B. De dieren

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

Muis, geregistreerde fok, 5x12x2=120 dieren (5 jaar, 2 cursussen/jaar, 12 dieren/cursus), 5-6 weken oud bij start experiment. In deze experimenten kunnen geen surplus dieren gebruikt worden, omdat dieren uit verschillende kooien met elkaar vechten en daarbij vaak de oren beschadigen. In dieren met beschadigde oren is het niet mogelijk de allergische reactie te meten (met micrometer). Ook vrouwelijke dieren zijn niet geschikt omdat de hormooncyclus van invloed is op de sensibilisatie. (zie ook Carlsten et al: <https://www.karger.com/Article/Pdf/234156>)

Het aantal studenten bedraagt 16-24 personen per blok. Per keuzevak worden 12 muizen gebruikt (6 gesensibiliseerd en 6 niet-gesensibiliseerd), waarvan de weefsels door 2-3 groepen van 6-8 studenten nader geanalyseerd worden. Dit betekent dat elke groep studenten 2-3 muizen uit beide experimentele groepen zal analyseren. De data van alle groepen studenten zullen aan het eind van het blok gecombineerd worden zodat we een totaal van 6 muizen per

behandelingsgroep hebben. Dit aantal is noodzakelijk om statistische analyses tussen de behandelingsgroepen uit te kunnen voeren. Het keuzevak wordt max 2x per jaar gegeven.

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.

In dit keuzevakonderwijs is gekozen voor het uitvoeren van een experiment waarbij de studenten een werkelijk experiment kunnen aanschouwen en uitvoeren. In de evaluevaluatie geven de studenten aan deze opzet zeer waardevol te vinden, welke niet vervangen kan worden door het bekijken van een video en/of werken met experimentregistratie.

We maken in het blok gebruik van het minimum aantal dieren noodzakelijk voor een goede praktische analyse en betrouwbare statistiek.

Het diermodel is geoptimaliseerd op de afdeling farmacologie en zodoende zeer reproduceerbaar. We gebruiken minimale concentraties van het sensibiliserend contactallergeen.

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 handelingen worden uitgevoerd door één van onze getrainde analisten. De dieren worden sociaal gehuisvest.

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 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?

Er treedt slechts een lichte irritatie in de huid van de oren en buik op. De dieren hebben hier ogenschijnlijk geen hinder en pijn van.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

nvt

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

De handelingen worden uitgevoerd door een van onze zeer ervaren analisten

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bij zeer sterke irritatie en wondvorming op de buik van DNFB-geïnsibiliseerde muizen worden deze uit het experiment gehaald en geëuthanaseerd. Scoring: oorzwellings: (0) normaal; (1) lichte zwellings huid oren; (2) ernstige oorzwellings; huid buik: (0) normaal; (1) geïrriteerde huid buik; (2) beschadigde huid buik. Bij score 2 of hoger wordt het dier uit het experiment gehaald en geëuthanaseerd.

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

<5%

K. Classificatie van ongerief

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

Licht (overlegd met proefdierdeskundige): sensibilisatie, oorchallenge, luchtwegfunctiemeting in BUXCO. In een besluit van de DEC na advies van de proefdierdeskundige (op 2014-02-28) is de mate van ongerief van de experimenten ingeschaald op gering/matig (zie bijgevoegde pdf). Omdat deze inschaling niet meer gehanteerd wordt in de nieuwe aanvraagformulieren, is in vooroverleg met de proefdierdeskundige door hem aangegeven dat deze experimenten nu met ongerief gering dienen te worden ingeschaald.

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.

Na afloop worden cellen en organen van muis geïsoleerd voor verdere analyses

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| <input type="text" value="3.4.4.3"/> | <input type="text" value="Practicum CPS FA336B Neuropsychopharmacology"/> |

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.

Studenten in dit practicum zullen middels een inleidend college over dier experimenten in het algemeen (praktijk en ethiek) en een voorbespreking van het practicum worden voorbereid. Tijdens het practicum zullen verschillende psychofarmaca (d-amfetamine, Diazepam en imipramine en placebo) worden toegediend aan ratten. In iedere rattenkooi (3 kooien) zijn 4 dieren gehuisvest. En worden 4 verschillende behandelingen (stoffen) gegeven per kooi.

Vervolgens zullen studenten een aantal tests met de dieren uitvoeren:

Observatie in een kooi, handling van de dieren. Hierbij zullen de uitkomstparameter de observatie van veranderingen in gedrag voor en na toediening van de stof zijn. Ook de spierspanning en de grip van de dieren wordt tijdens de handeling vastgesteld door de studenten. Tevens kijken (observatie) ze hier bij naar

een aantal gedragsmatige en fysiologische parameters (poetsgedrag, defecatie, houding en gang van het dier, algemene activiteit van het dier, pupil grootte, salivatie, kleur van de huid, frequentie ademhaling. Ook moeten ze proberen een gevoel voor de lichaamstemperatuur te krijgen tijdens het oppakken van de rat.)

Hierna wordt het gedrag van de dieren in een gedragstest gemeten. Iedere practicum dag wordt en andere test uitgevoerd.

De gebruikte gedragstesten zijn: een plus maze (tijd op de open arm en in het centrum wordt gemeten), rotarod test (tijd dat het dier op de draaiende stang loopt wordt gemeten), object recognition test (tijd die het dier bij het "oude" en "nieuwe" voorwerp doorbrengt wordt gemeten), Porsolt-zwemtest (tijd dat de rat zwemt wordt gemeten, deze test zal alleen op video vertoont worden en niet echt met de ratten worden uitgevoerd).

De verschillende farmaca zijn gekozen op basis van hun werkins mechanisme op verschillende neurotransmitter systemen d-amfetamine: dopamine systeem, Diazepam; gaba systeem en imipramine; serotonine/noradrenaline systeem en placebo (alleen het "oplosmiddel") als controle)

Buiten de ze "meetbare" parameters gaat het in dit practicum ook over het opdoen van ervaring met proefdieren in gedragswerk. Vragen als: "Hoe stil moet je zijn tijdens testen, Is veel beweging van jezelf van invloed op het dier. Zie je hetzelfde als je collega, komt dat door de manier van handelen of is dat alleen verschil in observatie?" zullen tijdens dit practicum naar voren komen.

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.

Schema/stappenplan waaraan de dieren worden blootgesteld

Dag 1

- Dieren worden gewogen door de studenten
- temperatuur meting 1 (SIH) (door art12)
- ratten worden geïnjecteerd (door art12) met de verschillende farmaca (imipramine, d-amfetamine, diazepam).
- temperatuur meting 2 (SIH) (door art12)
- ratten handeling/fysiologische observatie/observatie in kooi (studenten)

Dag 2

- dieren worden gewogen door de studenten
- orale toediening van de farmaca
- ratten handeling/fysiologische observatie/observatie in kooi (studenten)
- plus maze

Dag 3

- dieren worden gewogen door de studenten
 - orale toediening van de farmaca (imipramine, d-amfetamine, diazepam)
 - ratten handeling/fysiologische observatie/observatie in kooi (studenten)
 - rotarod test
-

Dag 4

- dieren worden gewogen door de studenten
- orale toediening van de farmaca (imipramine, d-amfetamine, diazepam)
- ratten handeling/fysiologische observatie/observatie in kooi (studenten)
- object recognition taak (studenten)

Dag 5 (Week 3)

- Porsolt-zwemtest -training van de ratten. Dit zal alleen op video vertoont worden (15 min) (studenten)

Dag 6 (week 3)

- Porsolt-zwemtest (5 min) Video practicum

Na de proef worden de dieren aangeboden als surplus

Orale toediening*

De farmaca worden opgelost in een zoete gecondenseerde melk.

De ratten drinken de vloeistof vervolgens uit een injectiespuit. Dit is een stress vrije en eenvoudige methode van toediening die wel waar meer tijd kost dan de "normale orale gavage" maar wel door studenten zelf is uit te voeren.

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

Het is niet nodig om solide statistische significantie aan te tonen omdat dit practicum niet als doel heeft een experiment na te bootsen maar we willen wel een aantal zeer duidelijke verschillen in gedrag laten zien die door farmaca te tweeweg wordt gebracht. Toch willen we voor de verschillende stoffen meer dan een dier gebruiken omdat ook juist de realisatie dat er individuele verschillen zijn belangrijk is en omdat ieder student dan de effecten van ieder stof kan waarnemen. De effecten van de gebruikte stoffen zijn groot zodat ze duidelijk door de studenten kunnen worden waargenomen. Een groep studenten werkt aan een kooi ratten (4 dieren) en in iedere kooi krijgt ieder dier een verschillende stof toegediend per sessie. Op deze wijze zien de studenten de effecten van iedere stof in iedere gedragstest.

B. De dieren

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

Voor practicum FA336B worden 12 Wistar ratten van 150-200 gram (6-7 weken oud) gebruikt per practicum. Het practicum wordt een keer per jaar gegeven. Voor een looptijd van 5 jaar komt dit dus op $12 \times 5 = 60$ ratten. We zullen proberen surplus dieren te bemachtigen die aan de bovenstaande voorwaarden voldoen. Wanneer dit niet lukt, zullen we dieren bij een proefdierleverancier (Harlan) bestellen.

We kiezen voor ratten omdat dit voor onervaren studenten veel handelbaarder is dan muizen. We kiezen voor de Wistar omdat dit een veel gebruikte

rattenstam is die zich (ook door onervaren studenten) makkelijk laat handelen en daardoor relatief weinig stress ervaart door de handelingen. Voor onervaren studenten kan het veel uitmaken hoe hun eerste ervaring verloopt. We laten de studenten diverse gedragingen bestuderen. Hiervoor zullen we het gedrag gedurende het practicum zo consistent mogelijk moeten houden.

Verschillende seksen door elkaar tijdens het testen levert een enorme afleiding voor de dieren waardoor het correct uitvoeren van de gedragstesten niet mogelijk is. Mannetjes ratten die een vrouwtjes rat ruiken zullen zich heel anders gedragen en het te meten gedrag in een gedragstest of tijdens een observatie kan vervolgens sterk veranderen.

Het gedrag van vrouwelijke ratten wordt in zekere mate bepaald door het stadium van de cyclus. Gedrag op de plus maze bijvoorbeeld wordt beïnvloed door de hormonale cyclus (Markondes 2001, Physiol Behav. 74(4-5):435-40.) Maar ook de effecten van diazepam en serotonerge anxiolytica variëren ten gevolge van de cyclus in vrouwelijke dieren (A. Fernández-Guasti 1990; Pharmacol Biochem Behav. 37(1):77-81). De gebruikte gedragstesten en gebruikte farmaca zijn dus gevoelig voor de hormonale status van vrouwelijke dieren. De gedragseffecten (die we met de gedragstesten meten) ten gevolge van de farmaca zijn afhankelijk van het stadium van de hormonale cyclus. De mogelijke verschillen in het specifieke stadium van de eustrus waarin een vrouwelijk dier zich bevindt bepaalt dus voor een deel de variatie van de resultaten. De vrouwtjes zullen niet allemaal op hetzelfde moment in de zelfde fase van de hormonale cyclus verkeren. Dus de gedragseffecten tussen vrouwelijke dieren die behandeld zijn met dezelfde stof kunnen toch onderling variëren doordat de dieren in een verschillende fase van de cyclus verkeren. De effecten van farmaca kunnen dan onvoldoende goed worden onderscheiden van de variatie in de gedragseffecten die ten gevolge van de verschillen in de hormonale cyclus optreden. We gebruiken hierom mannelijke dieren omdat die beter beantwoorden aan de gewenste evenwichtigheid van gedrag.

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.

Indien aan de voorwaarden wordt voldaan die genoemd zijn onder B (De dieren) zullen we, indien aanwezig, gebruik maken van surplus dieren.
Voorwaarden: manlijke Wistar rat (6-7 weken oud).

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.

Vermindering:

We hebben gekozen voor een opzet waarbij er geen statistische analyse nodig is om tot goede uitkomst parameters te komen. De studenten gaan ervaren wat de verschillende farmaca veranderen in het gedrag van de ratten en hoe dit eventueel de gedragstesten beïnvloed. Er hoeft echter geen "experiment" uitgevoerd te worden waarbij een statistisch verantwoord resultaat verkregen dient te worden. Wel willen we dat iedere student die meedoet aan het practicum de effecten van de verschillende farmaca op de gedragstesten waarneemt. Door te kiezen voor de opzet dat een groepje studenten een kooi (waarin alle farmaca getest kunnen worden) bestudeert. Is een minimaal aantal dieren nodig.

Verfijning: Door de studenten de farmaca opgelost in zoete gecondenseerde melk te laten toedienen via de orale toediening wordt het ongerief voor de ratten geminimaliseerd (vergeleken met injecties of orale gavage in de maag). De gezoete gecondenseerde melk wordt door de meeste dieren na een korte gewenningsperiode met graagte gedronken.

Vervanging is niet mogelijk gezien een deel van het doel van het practicum ervaring opdoen met het werken met proefdieren is. Een "echt dier" in een proefopzet gebruiken is een wezenlijk andere ervaring dan een filmpje of een dummy.

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 invasieve handelingen (IP injectie, rectale temperatuur meting) wordt door een ervaren en bevoegd zoölogisch analist uitgevoerd. Door de studenten eerst goed voor te lichten over het gebruik van proefdieren, de regels tijdens het practicum en wat ze kunnen verwachten worden vergissingen met nadelige gevolgen voor de dieren worden voorkomen.

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 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?

Ongieriefinschatting/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?

Dieren worden vanuit de huisvestingsruimte naar de practicumzaal vervoerd. Dit zal voor de dieren licht ongerief opleveren.

Het hanteren van de dieren door de studenten zal, zeker in het begin, stressvol (licht ongerief) zijn voor de ratten. Later zullen de dieren habitueren en de stress afnemen.

Iedere gedragstest zal een geringe mate van stress (en daarmee licht ongerief) met zich meebrengen. Deze is kortdurend en neemt af zodra het dier weer in de thuishokooi komt.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De farmaca zullen effect hebben op het dier. De mate van ongerief is moeilijk in te schatten. Voorgaande observaties en literatuuronderzoek doet niet vermoeden dat er sprake zal zijn van meer dan licht ongerief.

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

Om de stress (licht ongerief) van het vervoer te minimaliseren worden de kooien afgedekt met een verduisterende doek tijdens het transport.

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, injectie, handling van de dieren door studenten, observatie in een plus maze, rotarot test, object recognition test.

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



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 |
|------------|--------------------------|
| 3.4.4.4 | In vitro practicum DI411 |

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.

Na een uitvoerige theoretisch verdieping, waarin diverse receptor –ligand modellen worden bestudeerd en berekeningen gesimuleerd, voeren de studenten een 3-tal studies uit, die oplopen in complexiteit. Het einddoel van dit practicum is dat de studenten de farmacologische karakteristieken van een onbekend farmacon kunnen vaststellen, aan de hand van een door henzelf opgesteld werkplan. Ook moeten zij de betrouwbaarheid van hun bevindingen kunnen interpreteren binnen de context van intra- en inter assay variabiliteit. Aangezien de kans groot is dat deze studenten tijdens hun latere beroepsuitoefening met proefdieren zullen gaan werken (danwel de betrouwbaarheid van in vitro verkregen farmacon karakteristieken moeten kunnen interpreteren) is het wenselijk dat zij tijdens hun opleiding ervaring met deze proefdiertechnieken opdoen. De afgelopen jaren hebben wij gezien dat de studenten een steile leercurve doormaken in deze drie dagen. Op dag 1 vinden studenten het nog lastig om de theorie te koppelen aan de uit de myograaf verkregen data. Op dag 3 zijn zij goed in staat data te interpreteren, vervolgstappen te maken en kwaliteit van het orgaanbad te monitoren en zonodig te

verbeteren, Ook geeft de overgrote meerderheid van de studenten aan dat dit practicum duidelijke toegevoegde waarde heeft boven de simulaties.

Er wordt op elke practicum-dag (drie dagen in totaal) één cavia gedood, waarna darmweefsel wordt geïsoleerd. Dit darmweefsel wordt in het practicum gebruikt om te kijken naar effecten van farmaca op de contractiliteit. Er worden verschillende farmaca getest, in oplopende dosering, al dan niet in combinatie met antagonisten.

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.

De cavia's worden gedood, waarna darmweefsel wordt verzameld en in een orgaanbad opstelling geplaatst.

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

Er is gekozen voor de darm als orgaan omdat een (1) dier voldoende materiaal geeft voor 12 orgaanbadjes. De gekozen opzet van het experiment (op dag 1 bereidt een analist de te gebruiken media, en cross-over van te testen stoffen tussen dag 1 en 2) garandeert dat voor alle vier de farmaca klassen de verkregen data voldoende betrouwbaar zijn om het orgaanbad practicum succesvol uit te voeren en de analyseren, waardoor de resultaten van de experimenten van dag 3 (vaststellen karakteristieken onbekend farmacon) ook goed geïnterpreteerd kunnen worden.

B. De dieren

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

Cavia (Dunkin Hartley/HsdDhl: DH), Surplus dieren uit geregistreerde fok, 3 per jaar (totaal 15 in 5 jaar).

We gebruiken cavia's omdat de contractiliteit van de caviadarm goed gevoelig is, waardoor verschuivingen van de dosis-respons curve beter kwantificeerbaar zijn dan in bijv rattendarmen. Ook de verschillende stoffen die de studenten gebruiken om naar de contractiliteit te kijken zijn veelvuldig getest binnen deze context; daarvan weten we hoe de respons van de darm eruit zou moeten zien. Men zou kunnen spreken van een gevalideerde practicumopzet.

Er wordt gebruikt gemaakt van surplusdieren, omdat het niet erg veel uitmaakt als er spreiding zit in de leeftijd/gewicht/geslacht van de dieren. Er kan zowel met mannelijke als vrouwelijk dieren gewerkt worden.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

omdat het niet erg veel uitmaakt als er spreiding zit in de leeftijd/gewicht/geslacht van de dieren

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

X Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Vanuit theoretisch perspectief zijn er relevante computer simulaties beschikbaar (<http://www.sheffbp.co.uk/products/gpgileum.htm>; Isolated Guinea-Pig Ileum Simulator (<http://www.biosoft.com/w/ileum.htm>), Simulations of Pharmacological Experiments on the Guinea Pig Ileum v4.0 (http://www.coacs.com/coacs-software/published_titles/products/pccal/gpileum.htm). Deze simulaties geven de studenten echter geen goed beeld van het verschil tussen preparaten, het achteruit gaan in kwaliteit van preparaten, het belang van was stappen en positieve controles tussendoor testen. Er wordt in de voorbesprekingen wel aandacht besteed aan de mogelijk alternatieven voor het uitvoeren van dit practicum, zo hebben we in het blokboek van de cursus opgenomen dat er simulators beschikbaar zijn (bijvoorbeeld: guinea pig ileum (<http://www.sheffbp.co.uk/products/gpgileum.htm>)).

Vermindering: Er is gekozen voor de darm als orgaan omdat 1 dier voldoende materiaal geeft voor 12 orgaanbadjes. Hier kan een hele dag aan gemeten worden. De gekozen opzet van het experiment (bereiding te gebruiken media door analist op dag 1, en cross-over van te testen stoffen tussen dag 1 en 2) garandeert dat voor alle 4 de farmaca klassen de verkregen data voldoende betrouwbaar zijn om het orgaanbad practicum succesvol uit te voeren en te analyseren. Er is geen mogelijkheid om minder dan één dier per practicumdag te gebruiken.

Verfijning: de dieren worden volgens de richtlijnen gehuisvest en geëuthanaseerd. Wij zijn niet bekend met additionele opties om eventueel ongerief te verminderen.

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

Algehele narcose (Isofluraan) voorafgaand aan doden, deze handelingen worden uitgevoerd door een van onze ervaren analist

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.

Niet van toepassing

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?

X 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?

X 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?

geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

J. Humane eindpunten

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

x 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, de cavia's worden gedood en ondergaan geen verdere handelingen

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 darmen worden verwijderd

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- 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 |
|------------|-------------------------|
| 3.4.4.5 | In vivo practicum DI411 |

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.

Na een theoretische verdieping in de psychofarmacologie (waaronder het gebruik van diermodellen en analyse van bestaande data sets), gaan de studenten bij dit practicum zelfstandig (maar onder professionele begeleiding) een proefopzet bedenken. Aangezien de kans zeer groot is dat studenten die deze cursus volgen tijdens hun latere beroepsuitoefening met proefdieren zullen gaan werken is het derhalve wenselijk dat ze tijdens hun opleiding ervaring met proefdieren opdoen.

De studenten maken tijdens dit practicum kennis met verschillende componenten van gedragsonderzoek, te weten: 1. Het observeren, karakteriseren en kwantificeren van gedragseffecten van belangrijke farmaca klassen in vivo; 2. werkingsmechanismen van deze farmaca klassen, hun agonist –antagonist interacties, en het kwantificeren van deze interactie in vivo (geautomatiseerd of hand gescoord); 3 biologische variatie, en binnen- en tussen experiment

variatie; 4. Standaardisatie van onderzoek en uitleesmaten; 5. Gebruik van adequate proefopzet.

Door de gekozen opbouw kan de kennis en ervaring opgedaan op dag 1 (observeren en meten van farmacoon effecten op gedrag en reflexen), toegepast worden bij het opstellen van een geschikte proefopzet op practicum dag 2.

De keuze van farmaca op dag 1 is daar ook op gebaseerd. Op dag 1 bestuderen de studenten effecten van cafeïne, diazepam en 8-OH-DPAT; farmaca die net als amfetamine en haloperidol (de farmaca die getest worden op dag 2), activiteit (verhoogd of verlaagd) en motorfunctie (verhoogde of verlaagde speirtonus) beïnvloeden.

De farmaca zijn daarnaast zo gekozen dat ze te samen de belangrijkste neurotransmitter systemen bestrijken (cafeïne: glutamaat en dopamine (indirect via adenosine); diazepam GABA systeem, 8-OH-DPAT serotonine systeem; d-amfetamine, haloperidol: dopamine systeem).

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.

1. injectie met psychofarmacon of vehicle
2. observatie van gedrag in macrolon bak, rectaal temperaturen en scoren van reflexen in de hand 30 en 60 min na injectie (naderings-, grijp-, oprichtings-, cornea-, en pinna reflex)
3. observatie in open veld (10 min), 60 min na injectie.

1 week later:

4. 1 injectie met haloperidol of vehicle, 30 min later gevolgd door injectie d-amfetamine of vehicle
5. 30 min na laatste injectie, observatie in open veld gedurende 30 min.
- 6a. beschikbaar als surplus dier

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

Op dag 1 van het practicum werken de studenten in groepjes van 2 elk met 2 ratten. Op dag 2 worden er in totaal 12 ratten in het openveld getest. Dit is niet voldoende voor een complete analyse. De verkregen data worden daarom aangevuld met reeds bestaande data. Wel is dit aantal voldoende om studenten zelf het verschil tussen individuele dieren en condities te laten ervaren. De cursus wordt één keer per jaar gegeven

B. De dieren

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

Rat (Wistar, 150- 350 g), hergebruik of via Harlan, 12 per jaar (totaal 60 in 5 jaar). Geprobeerd wordt surplus dieren te krijgen binnen het GDL. Wanneer deze er niet zijn in de aangegeven gewichtsklasse, zullen de dieren bij een erkende leverancier worden bestellen.

We hebben een sterke voorkeur hebben voor het gebruik van mannelijke ratten, omdat de door studenten verzamelde data wordt samengevoegd met een reeds bestaande dataset die is verkregen met mannelijke ratten. Het practicum zou ook met vrouwtjes ratten uitgevoerd kunnen worden, maar de beide geslachten door elkaar gebruiken is onwenselijk.

Verschillende seksen door elkaar tijdens het testen levert een enorme afleiding voor de dieren waardoor het correct uitvoeren van de gedragstesten niet mogelijk is. Mannetjes ratten die een vrouwtjes rat ruiken zich heel anders gedragen en het te meten gedrag in een gedragstest of tijdens een observatie kan vervolgens sterk veranderen.

Ratten zijn voor de studenten beter hanteerbaar dan muizen. Ook is het gedrag van ratten voor studenten makkelijker te kwalificeren en kwantificeren.

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.

1. Het practicum is weinig belastend voor de dieren. 2. De uit het practicum verkregen data worden samengevoegd met reeds bestaande data. Mogelijke extra variatie in farmacon effecten ten gevolge van de voorgeschiedenis van de dieren, zal daardoor slechts een beperkte invloed hebben op de uitkomst en interpretatie van de data.

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 dieren worden opnieuw gebruikt binnen het practicum. Injecties worden uitgevoerd door een getrainde analist. Om inzicht te krijgen in biologische en experimentele variatie is het niet nodig om een volledige dosis-response curve te construeren. Met 12 dieren zijn alle condities vertegenwoordigd. De overige data, nodig voor de analyse komen uit een reeds uitgevoerde studie.

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.

injecties worden uitgevoerd door een van onze getrainde analisten.

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.

Niet van toepassing

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?

Dieren worden vanuit de huisvestingsruimte naar de testruimte gebracht. Dit transport zal voor de dieren licht ongerief opleveren.

Ook het hanteren van de dieren door de studenten zal mogelijk stressvol (licht ongerief) zijn voor de ratten.

De psychoactieve stoffen die worden toegediend, zouden mogelijk ook het welzijn tijdelijk kunnen aantasten.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De mate van ongerief ten gevolge van het toedienen van de psychofarmaca is moeilijk in te schatten. Op basis van eerdere observaties tijdens dit type practicum verwachten wij dat als er sprake is van ongerief dat niet meer dan licht ongerief zal zijn.

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

Om de stress van het vervoer te beperken worden de kooien afgedekt met een verduisterende doek tijdens het transport.

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, injectie met faramaca en gedragsobservaties

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



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.	11500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	UMC Utrecht	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		6	Advanced Neuroscience

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.

Bij dit practicum moeten de studenten zelfstandig (maar onder professionele begeleiding) een proefopzet bedenken. De studenten maken binnen drie proeven kennis met verschillende componenten van gedragsonderzoek, te weten; een experiment met muizen en een met ratten, een experiment automatische en een met handgescoorde data analyse, een experiment met farmacologische interventie en een niet-farmacologisch experiment. Aangezien de kans zeer groot is dat deze studenten tijdens hun latere beroepsuitoefening met proefdieren zullen gaan werken is het derhalve

wenselijk dat ze tijdens hun opleiding ervaring met proefdieren opdoen.

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.

Experiment 1

Sociaal speelgedrag bij jonge ratten onder invloed van methylfenidaat

Voor het experiment worden de dieren kortdurend sociaal geïsoleerd (3.5 uur) om sociale motivatie te verhogen, zodat met een relatief korte observatieperiode (10-15 minuten) kan worden volstaan.

Experimentele handelingen:

1. Kortdurende sociale isolatie (3.5 uur) om sociale motivatie te verhogen, zodat met een relatief korte observatieperiode (15 minuten) kan worden volstaan.
2. Subcutane injectie met methylfenidaat of vehikel (fysiologische zoutoplossing)
3. Meten van sociaal gedrag, in daartoe bestemde testomgeving (10-15 min)

Deze handelingen worden uitgevoerd door studenten onder toezicht van assistenten. Ratten worden 3 maal gebruikt met een tussentijd/rusttijd van minimaal 24 uur.

Experiment 2

Geconditioneerde locomotoriek en sensitiviteit door cocaïne bij de rat

1. IP injectie met cocaïne of vehikel (fysiologische zoutoplossing)
2. Het automatisch meten van motorische activiteit d.m.v. een video-tracking systeem.

Deze handelingen worden uitgevoerd door studenten onder toezicht van assistenten. Ratten worden 3x gebruikt met een tussentijd/rusttijd van minimaal 24 uur.

Experiment 3

Sociale herkenning bij de muis

1. sociale herkenning en discriminatie test (alle dieren). Initieel vindt er sociale interactie tussen testmuis en gast muis plaats (duur: 2 minuten); daarna worden de dieren voor 5, 30, en 60 minuten uit elkaar gehaald.
2. Vervolgens wordt er 2 minuten sociaal gedrag getest tussen testmuis, voorgaande gast muis en nieuwe gast muis (bepaling van sociale herkenning en discriminatie).

De gedragingen worden met een video opgenomen en geanalyseerd. De studenten zullen sociale en non-sociale gedragingen bestuderen en vergelijken in 2 verschillende inteeltstammen. Deze data zullen bijdragen aan het onderwijs over de mogelijkheden van gedragsgenetica. Het experiment wordt uitgevoerd door studenten onder toezicht van assistenten. De muizen worden 3x gebruikt met een tussentijd/rusttijd van minimaal 24 uur.

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

Een groepsgrootte van 4 paren (8 dieren; onderdeel 1, groep 1) of 6 dieren (onderdeel 2, groep 2) of 8 muizen per stam (onderdeel 3, groep 3 & 4) is nodig om de effecten goed te kunnen meten. Er worden 2 behandelingsgroepen (onderdelen 1 & 2)/stammen (onderdeel 3) getest. Bij onderdeel 3 zijn ook 2 A/J gastmuizen per testdier nodig (n=16) die worden hergebruikt. Het gehele practicum wordt 2 keer gegeven. Bij onderdelen 1 en 2 worden voor beide practicumweken aparte dieren gebruikt, bij onderdeel 3 worden tijdens beide weken dezelfde dieren gebruikt.

B. De dieren

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

Het totale aantal dieren per jaar bedraagt:

1: 8 (dieren) x 2 (gr.) x 2 (wk.) = 32 mannelijke ratten (Herkomst: geregistreerde fok/aflevering in NL, Leeftijd: 4-5 weken oud)

2: 6 (dieren) x 2 (gr.) x 2 (wk.) = 24 mannelijke ratten (Herkomst: geregistreerde fok/aflevering in NL, Leeftijd: volwassen)

3: 8 (test) C57 muizen en 8 (test) A/J muizen plus 16 (gast) A/J muizen=32 muizen (Herkomst: geregistreerde fok/aflevering in NL, Leeftijd: volwassen)

Totaal benodigd (5 jaar):

5 x 56 = 325 mannelijke Wistar ratten

5 x 8 = 40 vrouwelijke C57Bl/6 muizen

5 x 24 = 120 vrouwelijke A/J muizen.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Voor experiment 2 & 3 kan gebruik gemaakt worden van surplus dieren, voor experiment 1 kan dit niet (door de jonge leeftijd van de dieren). Alle dieren zijn na afloop van het practicum beschikbaar voor hergebruik.

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

x 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.

Om gedrag in een dier te observeren heb je een levend dier met een intact neuraal systeem nodig. In de jaren dat dit practicum gegeven is (jaarlijks sinds

2006) is gebleken dat slechts een kleine minderheid van de deelnemende studenten eerdere ervaring met proefdieren heeft. Verder geeft de overgrote meerderheid van de deelnemers aan het uitvoeren van het practicum met proefdieren veel leerzamer en effectiever te vinden dan d.m.v. video-opnames. Hierover is indertijd overleg geweest met het NKCA, dat aangaf ervaring met proefdieren voor BMW-studenten essentieel te vinden. Verder is het practicum dusdanig opgezet dat het aantal benodigde dieren minimaal is, een verdere vermindering is niet mogelijk (zie A). De experimenten worden al jarenlang uitgevoerd binnen deze afdeling en zijn helemaal uitontwikkeld. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

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 toegepaste technieken en procedures zijn essentieel in het kader van het onderzoek en worden zorgvuldig uitgevoerd.

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.

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?

Geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

n.v.t.

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

n.v.t.

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.

Experiment 1: licht

Experiment 2: licht

Experiment 3: licht

Cumulatief: 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



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="3.4.4.7"/> | <input type="text" value="Algemene farmacologie"/> |

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 student stelt, aan de hand van eigen observaties van het gedrag van ratten na toediening van psychofarmaca, vast wat het gedragsprofielen van de psychofarmaca zijn. Het door de student waargenomen profiel wordt vergeleken met gegeven werkingsprofielen van zes psychofarmaca. Op deze manier stelt de student zelf vast welk farmacon aan de ratten is toegediend. Aan de hand van de eigen observaties en de gegeven effecten verdiept de student zijn/haar eerder verworven (theoretische) kennis van en inzicht in de werkingsmechanismen van de klassen van psychofarmaca waartoe de farmaca behoren.

De primaire uitkomstmaat is gedrag. Dit gedrag is op te delen in A) de observatie van gedrag- en fysiologische responsen ("simple pharmacological

screening”) en B) de observatie van exploratief en motorisch gedrag in het groot open veld (“simple unconditioned behavior”)

Hieronder volgt een opsomming van de farmaca en het verwachte effect op gedrag

Morfine → hypoactiviteit (immobiliteit)

- Diazepam → hypoactiviteit (immobiliteit)
- Haloperidol → hypoactiviteit (catalepsie)
- Amfetamine → hyperactiviteit en stereotypie
- Cafeïne → hyperactiviteit
- Apomorfine → hyperactiviteit en stereotypie

De verwachte mate van ongerief van het gedragseffect van deze stoffen op de rat is licht

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.

De volgende handelingen worden per practicum dag uitgevoerd:

1. Subcutane injectie farmaca – eenmalig (duur=kort) (verwacht mate van ongerief licht)
2. Meten van rectaal temperatuur en het scoren van diverse reflexen (naderings-, grijp-, oprichtings- en corneareflex) en gedragsparameters (activiteit, poetsen, snuffelen, knagen, oorprikkeling, ect.) - 2x per practicum dag (duur=30 minuten), 30 en 60 minuten na toediening farmacon (verwacht mate van ongerief licht)
3. Open veld test - 2x per practicumdag (duur=3 minuten per keer), eenmaal voor toediening en eenmaal 120 minuten na toediening farmacon. De metingen van exploratief en motorisch gedrag (verwacht mate van ongerief licht)

Handeling 1 wordt uitgevoerd door de practicum-assistenten, handeling 2 en 3 worden uitgevoerd door de studenten onder toezicht van practicum-assistenten. De ratten worden 4x gebruikt met een tussen-/rusttijd van minimaal 24 uur.

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

Het practicum wordt 1 maal per jaar gegeven voor 18-20 studenten per practicum. Per groep zullen de studenten zich in subgroepjes van 2-3 studenten verdelen. Een groep van 2-3 studenten bestudeert de effecten van psychofarmaca in zes ratten. Dit aantal ratten geeft de mogelijkheid de effecten van placebo en twee psychofarmaca (in duplo) te kunnen waarnemen. Een nevenreden dat er per groepje studenten 6 ratten worden gebruikt is om een idee te geven van de individuele of biologische variatie aan te geven. Per practicum zijn er maximaal 10 practicumgroepen die maximaal 6 ratten bestuderen = 60 ratten per practicum.

B. De dieren

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

Diersoort: rat, man. Toelichting rat: ratten zijn voor de studenten beter hanteerbaar dan muizen. Ook is het gedrag van ratten voor studenten makkelijker te kwalificeren en kwantificeren. Toelichting man: het is duidelijk dat er sexe-verschillen bestaan in de farmacologie van psychotrope stoffen. Dit geldt voor zowel de farmacokinetische als farmacodynamische effecten van de middelen. Het doel van het praktikum is niet om het sexe-verschillen te onderzoeken of om de gegevens van het praktikum te vertalen naar een humane situatie, maar om de student een gedragsprofiel te laten scoren van een aantal klassen psychotrope stoffen. De sexe-verschillen in gedragsprofielen zal in het theoretisch gedeelte besproken worden.

Herkomst: Voor het practicum kan gebruik gemaakt worden van surplus dieren. Indien er dieren voorradig zijn die voldoen aan de juiste criteria (geslacht, gewicht, stam) worden dieren besteld worden bij Charles River (de transportduur en dus mate van ongerief vanaf Charles River is vergelijkbaar met andere mogelijke leveranciers (Envigo), maar de immunologische status van de dieren is constanter bij Charles River.

Aantal: 60 ratten per jaar (totaal 300 in 5 jaar).

Levensstadium: Jong volwassen. Toelichting: er is ruime ervaring met en kennis van de effecten van psychotrope stoffen op gedrag van jongvolwassen ratten).

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.

Indien er dieren voorradig zijn die voldoen aan de juiste criteria (geslacht, gewicht, stam) kunnen deze gebruikt worden voor dit practicum. Vervolgens kunnen de dieren uit het practicum gebruikt worden voor andere practica/onderwijs waarbij een herhaalde injectie met psychofarmaca geen bezwaar is.

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.

et doel van dit practicum is dat de student vaststelt wat het gedragsprofiel van psychofarmaca is. Om gedrag in een dier te observeren heb je intacte neurale systemen nodig. Indertijd heb ik met een medewerker van Nationaal Kenniscentrum Alternatieven voor dierproeven (NKCA) alle aspecten van het praktikum de revue laten passeren. Wij zijn toen samen tot de conclusie gekomen dat het huidige praktikum voldoet aan onze onderwijsdoelen. Op dit moment zijn er nog steeds geen alternatieven of ontwikkelingen die het praktikum wat dit aspect betreft kunnen verbeteren.

Om de mening van deelnemende studenten te peilen wordt elk jaar het practicum geëvalueerd. Uit deze evaluaties blijkt dat de een grote meerderheid van de deelnemers het praktikum dat het gebruik van proefdieren gerechtvaardigd is.

Evaluatie (2013-2014; n=67)

- Do you think it is justified to use animals for this practical? Yes: 94.0% / No: 6.0%
- Do you think an instruction video is a good alternative for this practical? Yes: 4.5% / No: 95.5%

Evaluatie (2014-2015; n=75)

- Do you think it is justified to use animals for this practical? Yes: 84% / No: 16%

Do you think an instruction video is a good alternative for this practical? Yes: 26.7% / No: 73.3%

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

Dieren worden zo veel mogelijk sociaal gehuisvest. Alleen gedurende de practicum dag worden de dieren voor ca. 6-8uur solitair gehuisvest. De injecties worden uitgevoerd door een getrainde analisten.

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.

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?

X 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?

X 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?

X 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.

Pijnbestrijding is niet nodig en is niet verenigbaar met de doelstellingen van het onderwijspracticum

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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.

De ingeschatte mate van ongerief van de beschreven handelingen is 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.

Indien dieren kunnen worden hergebruikt worden ze niet gedood.

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 : 2015.II.858.029
2. Titel van het project : Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie
3. Titel van de NTS : Dierproeven in het kader van de practica Neuro-immunofarmacologie van Farmaceutische Wetenschappen en Biomedische wetenschappen

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: 06-11-2015
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 18-11-2015, 16-12-2015 en 20-01-2016
 anderszins behandeld: per mail: 29-02-2016
 termijnonderbreking(en) van / tot : 20-11-2015 tot 07-12-2015
18-12-2015 tot 08-01-2016
22-01-2016 tot 29-02-2016
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 31-03-2016

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: 20-11-2015
- Strekking van de vragen:

- Opmerking vooraf: De DEC raadt u aan met de twee vergunninghouders te overleggen of het wel gewenst is om deze aanvraag niet op te splitsen per vergunninghouder. Juridisch gezien lijkt het niet correct om de ene vergunninghouder verantwoordelijk te maken voor het onderwijs van de andere vergunninghouder. Dit zou er dus toe kunnen leiden dat u uw aanvraag alsnog dient op te splitsen. U kunt voor deze kwestie contact opnemen met de Instantie voor Dierwelzijn.
- Algemene opmerking: De DEC heeft aan deze aanvraag bijzonder veel tijd moeten besteden, omdat de informatie niet volledig is en niet coherent is opgeschreven zodat het maken van een goede ethische afweging nog niet mogelijk is. De DEC realiseert zich dat dit type onderwijs al vele jaren op de campus wordt gegeven, maar het is niet de DEC, maar de CCD die uiteindelijk beslist of deze onderwijsonderdelen mogen worden uitgevoerd. Voor de CCD is deze informatie nieuw en het is verstandig om met dit gegeven in het achterhoofd de aanvraag/aanvragen volledig te herschrijven. In dit verband merkt de DEC op dat het belangrijk is om de context aan te geven van onderwijs modules waar proefdieren bij worden gebruikt. Te denken valt aan: het college bio-ethiek, de plaats van alternatieven (videodemonstratie bijvoorbeeld) en de onderwijs evaluatie toegespitst op het gebruik van levende dieren).

Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: De laatste alinea van onderen is niet erg sterk. De DEC doet u de suggestie de argumentatie voor het aanbieden van dit onderwijs aan de diverse groepen studenten, vermeld in 3.2. Doel, sub 3.4.4.3, hier ook te vermelden.
- 3.2 Doel: Algemeen: De uniformiteit is hier ver te zoeken. Graag duidelijker per module de leerdoelen benoemen opdat op basis daarvan de ratio en argumentatie voor de keuze van de experimenten duidelijk wordt.
- In 3.4.4.1. wordt het leerdoel het geheel niet genoemd. Probeert u de lezer meer mee te nemen in uw afwegingen.
- Ook graag per onderdeel vermelden dat er een ethische discussie plaatsvindt voordat het practicum wordt gegeven (mits dit ook daadwerkelijk plaatsvindt) en dat na afloop van het betreffende practicum een studentenevaluatie plaatsvindt, waarbij de deelnemers ook gevraagd wordt aan te geven of zij het gebruik van proefdieren voor dit type onderwijs gerechtvaardigd vinden.
- Ook graag duidelijker aangegeven dat er alleen gewerkt wordt met echte surplusdieren (dieren die toch gedood zouden worden). De DEC raadt u aan om veel meer nadruk te leggen op het gebruik van surplusdieren in relatie tot de leerdoelen en het type student dat het practicum volgt.

Bijlagen

- Algemeen: De DEC geeft u als advies mee om bijlage 6 als voorbeeld te gebruiken voor het herschrijven van alle bijlagen. De DEC verzoekt u alle bijlagen te uniformeren.

Voor alle onderdelen geldt dat u onvoldoende aandacht geeft aan het mogelijk gebruik van alternatieven, zoals video. Het gaat om het behalen van het onderwijsdoel gezien de achtergrond van de studenten.

Overige opmerkingen Bijlage 1 t/m 5: zie algemene opmerking hierboven.

Bijlage 2

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken:
- Op pagina 2 wordt gesproken over 3 groepen van 6-8 studenten en onder B. (De dieren) wordt gesproken over twee groepen van 8 studenten. Er zit ook een discrepantie in het aantal te gebruiken muizen per groep. Graag beter opschrijven, uitleggen.
- Op pagina 1 schrijft u 'De basale luchtwegfunctie wordt gemeten in een bodyplethysmografische kamer (Buxco). Hiertoe worden de muizen blootgesteld aan een nevel van metacholine leidend tot een lichte benauwdheid'. Waarom vermeldt u dit ongerief niet later bij K? Los daarvan vindt de DEC gezien het leerdoel lichte benauwdheid niet acceptabel (matig ongerief).
- Meer in het algemeen begrijpt de DEC niet waarom u – gezien het leerdoel – juist voor dit model heeft gekozen. Graag uw toelichting waarom u geen minder invasief alternatief model gebruikt.

Bijlage 3

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De werking en rationale achter de gekozen psychofarmaca ontbreken. Graag invullen.
- B. De Dieren: De reden waarom u voor mannelijke dieren kiest, is opmerkelijk. De DEC raadt u aan dit beter te formuleren.
- K. Classificatie van ongerief: De Porsolt-zwemtest gaat gepaard met meer dan licht ongerief. Gezien het onderwijsdoel acht de DEC dit practicumonderdeel niet acceptabel en doet u de suggestie in dit geval een video te vertonen.

Bijlage 4

- Deze bijlage is te summier. Wat gaat u precies in dit practicum doen en waarom is dit gerechtvaardigd in het licht van het leerdoel. Wat zijn uw verwachtingen?
- De term surplus ontbreekt. Voor deze proef mogen alleen surplusdieren (dieren die anders toch gedood zouden worden) gebruikt worden. Mocht er van de betreffende diersoort geen surplusdier zijn, dan is het te overwegen een ander soort surplusdier te gebruiken.

Bijlage 5

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De onderbouwing van de keuzen en ratio van de toet te dienen stoffen ontbreekt.

- B. De Dieren: Het geslacht ontbreekt. Gebruikt u beide geslachten? Gebruikt u surplusdieren? Wat verwacht u te zien aan het gedrag van de dieren?

Bijlage 6

De DEC is tevreden over de opbouw van deze bijlage. Deze bijlage graag als voorbeeld gebruiken voor de andere bijlagen.

- B. De Dieren: Het geslacht van de dieren ontbreekt
- C. Hergebruik: Kunnen de dieren die in experiment 1 gebruikt worden niet doorschuiven naar experiment 2?
- D. Vervanging, vermindering en verfijning: Hier staat een en ander goed uitgelegd. Gebruik deze onderbouwing ook in het algemene deel. Opmerking: Liever niet spreken van een 'ïntact neurale systeem' maar van een 'levend dier'.
- K. Classificatie van ongerief: Het ongerief graag per experiment vermelden. Daarna het ongerief over het hele project weergeven. De DEC vraagt zich af of het matige ongerief niet bijgesteld kan worden naar licht indien er meer dieren worden gebruikt. Graag uw visie.

Bijlage 7

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Welke farmaca worden er gebruikt en welke effecten verwacht u (voor het practicum en voor het ongerief voor de dieren)
- B. De Dieren: Waarom worden hier geen surplus dieren gebruikt? Nogmaals gezien het onderwijsdoel vindt de DEC alleen het gebruik van surplusdieren gerechtvaardigd.
- Waarom gebruikt u alleen mannelijke dieren en waarom nu deze stam Charles River (nadeel langer transport, dus meer ongerief voor de dieren) en waarom van dit gewicht etc.?

Niet technische Samenvatting

Algemeen: Graag de NTS volledig herschrijven, positiever formuleren en uitbreiden naar aanleiding van de op- en aanmerkingen van de DEC.

- Datum antwoord: 07-12-2015
- Strekking van de antwoorden:
-
- Opmerking vooraf: Hierover is gesproken met de betrokkenen en er is geconcludeerd dat wij wel door willen met een gezamenlijke aanvraag
- Algemene opmerking: Er is in de huidige projectaanvraag getracht een zo duidelijk mogelijk beeld te schetsen van het onderwijs en de samenhang. Wij waren er niet van op de hoogte dat het noodzakelijk zou zijn de opleidingen zelf van nadere toelichting te voorzien; er is nu enige informatie bijgevoegd wat e.e.a. zou kunnen verduidelijken. Hierover is op verschillende plaatsen in de aanvraag en in de bijlagen informatie bijgevoegd.

Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: Deze tekst is aangepast naar: 'Voor het praktisch onderwijs binnen de departementen wordt gebruik gemaakt van in vitro practica die het werken met levende dieren vervangen. Hierdoor zijn minder proefdieren nodig. In de huidige projectaanvraag gaat het om onderwijs waarbij wordt ingespeeld op de behoefte de studenten minimaal eenmalig in aanraking te laten komen met dierexperimenten, in het kader van hun opleiding. Hierbij vindt voortdurende oriëntatie plaats op nieuwe mogelijkheden tot vermindering, vervanging of verfijning. Het ervaren hoe het is om met dieren te werken draagt bij aan de studie/carrière van iedere student. Het is voor de maatschappij van groot belang dat toekomstig onderzoekers niet alleen vakkundig zijn maar ook op een verantwoorde en weloverwogen manier te werk gaan.' In de verschillende bijlages staan doel en uitvoering meer uitvoerig beschreven.
'Het is voor deze studenten van het grootste belang dat ze weten en ervaren hoe het is om met proefdieren te werken, hoe farmaca verschillende aspecten van een dier en diergedrag kan beïnvloeden en hoe je dit kunt meten. Deze studenten zullen in hun toekomstig werk vrijwel zeker te maken krijgen met dierexperimenteel werk als direct uitvoerende of als supervisor van een project.'
- 3.2 Doel: Er is getracht een zo uniform mogelijke weergave te gebruiken. Het betreft hier echter wel een aanvraag met verschillende soorten practica, die nooit gelijk aan elkaar zullen zijn. De term toetsbare eenheid is in gesprekken over deze materie opgeworpen en ik ben van mening dat als daar een parameter aan moet worden verbonden dat deze dan zou moeten zijn verbonden aan de onderwijsstrategie, niet zozeer de leerdoelen van de individuele cursussen. Hopelijk heeft de hernieuwde projectaanvraag verder weten te verduidelijken dat de rode draad is die de verschillende onderdelen met elkaar verbindt is dat de studenten iets wordt geleerd over preklinisch onderzoek.
- In 3.4.4.1: Dat is aangepast
- Dat is aangepast
- Dat is aangepast

Bijlagen

- Algemeen: Voor zover mogelijk hebben wij ons proberen te houden aan dit advies
- Dit is aangepast
- Overige opmerkingen Bijlagen 1 t/m 5: Hier zijn de nodige wijzigingen doorgevoerd.

Bijlage 2

- Dit is aangepast
- Dit is aangepast
- Dit ongerief wordt nu wel vermeld bij K en is aangepast naar licht ongerief naar aanleiding van overleg met de proefdierdeskundige.
- Naar onze mening sluit dit model aan bij de leerdoelen. Wij vragen ons hiernaast af hoe de BUXCO als een invasief model kan worden beschouwd, daar de dieren zonder restricties in een kamertje worden geplaatst en metacholine inademen. Indien het toedienen van een stof

die ingeademd wordt als invasief beschouwd moet worden: daar is niet zo makkelijk een alternatief op te bedenken.

Bijlage 3

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De experimentele aanpak is duidelijker omschreven. De uitkomst parameters zijn nu benoemd en ook per gedragstest aangegeven. De gekozen psychofarmaca en de rationale voor die keuze is aangegeven.
- B. De Dieren: De reden waarom geslachten niet door elkaar gebruikt kunnen worden in eenzelfde ruimte is verduidelijkt. De reden voor de keuze van mannelijke dieren is beter uiteengezet en van enkele referenties voorzien.
- K. Classificatie van ongerief: De Porsolt-zwemtest zal niet met de ratten worden uitgevoerd. In plaats daarvan zal een video worden getoond met de test.

Bijlage 4

- Wij hebben punt A nu uitgebreider beschreven en hopen dat hiermee de aanpak verduidelijkt is. Onze verwachtingen hebben we beschreven op basis van eerdere ervaringen met dit practicum
- We hebben het woord hergebruik vervangen door surplus, en een nog wat uitgebreidere toelichting gegeven waarom wij vonden dat hergebruik van dieren hier zondermeer een optie is. We zijn huiverig te stellen dat we een andere diersoort kunnen gebruiken, omdat onze ervaring is dat darmweefsel van de rat minder robuuste data geeft.

Bijlage 5

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Onderbouwing van de keuzen en ratio van de toe te dienen stoffen is toegevoegd.
- B. De Dieren: In de tekst is toegevoegd dat we een sterke voorkeur hebben voor het gebruik van mannelijke ratten, omdat de door studenten verzamelede data wordt toegevoegd aan een reeds bestaande dataset die is verkregen met mannelijke ratten. Het practicum zou ook met vrouwtjes ratten uitgevoerd kunnen worden, maar de beide geslachten door elkaar gebruiken is onwenselijk.

Verschillende seksen door elkaar tijdens het testen levert een enorme afleiding voor de dieren waardoor het correct uitvoeren van de gedragstesten niet mogelijk is. Mannetjes ratten die een vrouwtjes rat ruiken zich heel anders gedragen en het te meten gedrag in een gedragstest of tijdens een observatie kan vervolgens sterk veranderen.

Gebruikt u surplusdieren? Werd al genoemd in deze bijlage, hier is niets aan gewijzigd/toegevoegd.

Wat verwacht u te zien aan het gedrag van de dieren? Dit is behandeld onder punt I, en nu ook nog extra ingebracht onder punt A. De farmaca zullen naar verwachting enig effect hebben op de activiteit (meer of minder) en spierfunctie (hoger of lagere tonus) hebben.

Bijlage 6

- B. De Dieren: Dit is nu wel aangegeven.
- C. Hergebruik: dit kan niet omdat de dieren niet de juiste leeftijd hebben. Het practicum duurt niet lang genoeg (2 weken) om dieren van 4-5 weken volwassen te laten worden.
- D. Vervanging, vermindering en verfijning: Deze tekst is aangepast.

- K. Classificatie van ongerief: De inschatting van het ongerief was gebaseerd op de "oude indeling" en is nu herzien. In dit onderdeel is de tekst ook nagekeken en aangepast. Het ongerief is ingeschat op licht.

Bijlage 7

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: In de herziene versie van de bijlage zijn de farmaca aangegeven en is per farmacon het verwachte effect toegelicht
- B. De Dieren: Voor het practicum kan gebruik gemaakt worden van surplus dieren. Dit staat nu vermeld in de tekst.
- In de bijlage is hierover de volgende tekst opgenomen: 'Het is duidelijk dat er sekseverschillen bestaan in de farmacologie van psychotrope stoffen. Dit geldt voor zowel de farmacokinetische als farmacodynamische effecten van de middelen. Het doel van het practicum is niet om het sekseverschillen te onderzoeken of om de gegevens van het practicum te vertalen naar een humane situatie, maar om de student een gedragsprofiel te laten scoren van een aantal klassen psychotrope stoffen. De sekseverschillen in gedragsprofielen zal in het theoretisch gedeelte besproken worden. Indien er dieren voorradig zijn die voldoen aan de juiste criteria (geslacht, gewicht, stam) worden dieren besteld worden bij Charles River. De transportduur en dus mate van ongerief vanaf Charles River is vergelijkbaar met andere mogelijke leveranciers (Envigo), maar de immunologische status van de dieren is constanter bij Charles River.'

Niet Technische Samenvatting

Algemeen: Het is niet duidelijk wat er gewijzigd dient te worden aan de NTS. De wijzigingen die zijn doorgevoerd in de overige documenten hebben nagenoeg geen effect op de inhoud van de NTS. Omdat de NTS 'positiever' moet worden geformuleerd hebben we onderstreept wat het belang is van onderwijs aan studenten die onderzoek zullen gaan doen, dat er zoveel mogelijk naar wordt gestreefd geen diermodellen te gebruiken die onnodig belastend zouden zijn en dat er goed wordt stilgestaan bij bio-ethische afwegingen die gemaakt moeten worden.

- Datum: 18-12-2015
- Strekking van de vragen:

Niet Technische Samenvatting en titel van NTS en Project

- De DEC verzoekt u duidelijk te maken dat neuro- en immunofarmacologie de rode draad is in de aanvraag de huidige titel is veel te ruim en dekt de beperkte lading niet. De NTS bevat nog een aantal onjuistheden (zo werken apothekers bijvoorbeeld niet aan de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen) en niet goed lopende zinnen en herhalingen. Graag volledig herschrijven.

Projectvoorstel

- Figuur: Deze is niet evenwichtig. Het masterblok biomedische wetenschappen omvat ook andere masteropleidingen met dierproefpractica niet gerelateerd aan farmacologie.

Bijlage 2

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De DEC mist de argumentatie voor de aanpassing van het ongerief, van matig naar licht. Graag vermelden wat er besproken is met de proefdierdeskundige.

Bijlage 3

- B. De Dieren: De dieren: De DEC vindt de motivatie voor het gebruik van mannelijke dieren onvoldoende. Graag anders formuleren.
- B. De Dieren: U spreekt over de eustus cyclus, graag aanpassen
- Datum antwoord: 08-01-2016
- Strekking van de antwoorden:

Niet Technische Samenvatting en titel van NTS en Project

De NTS is aangepast, alsmede de titel van de aanvraag. Met de stelling dat apothekers niet aan de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen kunnen wij niet geheel instemmen, want hoewel het gros van onze studenten die dit studiep pad kiezen inderdaad niet bij dit werk betrokken zijn, zijn er toch wel degelijk apothekers betrokken bij geneesmiddelenonderzoek.

Projectvoorstel

- We hebben de invulling van dit onderdeel iets aangepast ter verduidelijking. Uiteraard zullen er meerdere practica zijn en we hebben daarom de schijnbare scheve verdeling opgelost door aan te geven dat er wel practica zijn, maar dat die niet in deze aanvraag figureren.

Bijlage 2

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Er is een PDF bijgevoegd van een kleine wijziging waarin besproken is dat het ongerief is aangepast. In de bijlage onder K is tekst toegevoegd (is in het formulier niet waarneembaar geel te maken): In een besluit van de DEC na advies van de proefdierdeskundige (op 2014-02-28) is de mate van ongerief van de experimenten ingeschaald op gering/matig (zie bijgevoegde pdf: kleinewijziging_3.4.4.2.pdf). Omdat deze inschaling niet meer gehanteerd wordt in de nieuwe aanvraagformulieren, is in vooroverleg met de proefdierdeskundige aangegeven dat deze experimenten nu met ongerief gering dienen te worden ingeschaald.

Bijlage 3

- B. De Dieren: Onder 2B is de tekst ter verduidelijking aangepast naar het volgende: Het gedrag van vrouwelijke ratten wordt in zekere mate bepaald door het stadium van de cyclus. Gedrag op de plus maze bijvoorbeeld wordt beïnvloed door de oestrus cyclus (Markondes 2001, Physiol Behav. 74(4-5):435-40.) Maar ook de effecten van diazepam en serotonerge anxiolytica variëren ten gevolge van de cyclus in vrouwelijke dieren (A. Fernández-Guasti 1990; Pharmacol Biochem Behav. 37(1):77-81). De gebruikte gedragstesten en gebruikte farmaca zijn dus gevoelig voor de hormonale status van vrouwelijke dieren. De gedragseffecten (die we met de gedragstesten meten) ten gevolge van de farmaca zijn

afhankelijk van het stadium van de hormonale cyclus. De mogelijke verschillen in het specifieke stadium van de oestrus waarin een vrouwelijk dier zich bevindt bepaalt dus voor een deel de variatie van de resultaten. De vrouwtjes zullen niet allemaal op hetzelfde moment in de zelfde fase van de hormonale cyclus verkeren. Dus de gedragseffecten tussen vrouwelijke dieren die behandeld zijn met dezelfde stof kunnen toch onderling variëren doordat de dieren in een verschillende fase van de cyclus verkeren. De effecten van farmaca kunnen dan onvoldoende goed worden onderscheiden van de variatie in de gedragseffecten die ten gevolge van de verschillen in de hormonale cyclus optreden. We gebruiken hierom mannelijke dieren omdat die beter beantwoorden aan de gewenste evenwichtigheid van gedrag.

- B. De Dieren: De typefout is hersteld

- Datum: 22-01-2016

Strekking van de vragen:

Algemeen:

- De DEC verzoekt u de namen van de proefdierdeskundigen te verwijderen uit de aanvraag.

Niet Technische Samenvatting

- U hebt de NTS onvoldoende herschreven. Graag meer aandacht aan besteden.
- Voorts mist in de NTS dat een belangrijk onderdeel van de practica bestaat uit een college over de bio ethische aspecten van het gebruik van proefdieren voor dit onderwijs.

Projectvoorstel

- De DEC vraagt aandacht voor een gedegen argumentatie waarom sommige experimenten niet kunnen worden vervangen door beeldmateriaal. Graag dus beter onderbouwen waarom onderwijs met levende dieren noodzakelijk is.
- De DEC verzoekt u toe te lichten waarom er hier sprake is van een toetsbare eenheid en vraag u om uw antwoord te relateren aan de handreiking Toetsbare Eenheid van de CCD die de DEC u bij deze toestuurt.

Bijlage 3

- B. De Dieren: De DEC verzoekt u de term eustus cyclus aan te passen, dit is niet correct.

- Datum antwoord: 29-02-2016

- Strekking van de antwoorden:

Algemeen:

- Dit is aangepast

Niet Technische Samenvatting

- Er zijn na persoonlijk overleg met de IvD een aantal zaken aangepast:
- Bij de doelstelling stond: 'De doelstelling van dit project is om studenten praktisch onderwijs te kunnen bieden in het kader van hun opleiding, waarbij zij in aanraking zullen komen met preklinisch onderzoek. Het maatschappelijk belang hierbij is dat de studenten, wie in hun latere carrière direct of indirect betrokken zullen zijn bij preklinisch onderzoek, weet hebben van wat het inhoudt om met proefdieren te werken.'

Dit is nu veranderd in: 'De doelstelling van dit project is om studenten praktisch onderwijs te kunnen bieden in het kader van hun opleiding, waarbij zij in aanraking zullen komen met preklinisch onderzoek, gerelateerd aan immunofarmacologie en neurofarmacologie. Het maatschappelijk belang hierbij is dat de studenten, wie in hun latere carrière direct of indirect betrokken zullen zijn bij preklinisch onderzoek, weet hebben van wat het inhoudt om met proefdieren te werken.'

Onder 3.2:

'De studenten die binnen onze opleidingen worden onderwezen, zullen worden opgeleid tot biomedisch onderzoeker, geneesmiddelenonderzoeker of apotheker. In hun latere werkveld zullen zij in aanraking komen met de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen. Hierbij is het essentieel om kennis van en enige ervaring met proefdieronderzoek te hebben. De plaats van de farmacologische practica, waarbij wordt gekeken naar de uitwerking van geneesmiddelen op het immuunsysteem/of gedrag is, zorgvuldig gekozen op basis van de aansluiting op de leerlijnen van het curriculum. De opbrengst van deze practica is dat de studenten goed voorbereid zijn op hun latere werkveld. Hiervoor is het belangrijk dat zij op de hoogte zijn van de verschillende stappen die benodigd zijn voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen.'

Onder 3.2:

'Er zullen in verschillende farmacologische practica, afhankelijk van de leerdoelen binnen de cursus, muizen, ratten of cavia's worden ingezet. In totaal gaat het om ongeveer 170 dieren per jaar. Er wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van surplus dieren.'

- In de NTS stond onder 4.3 Verfijning: 'Er wordt binnen de cursussen veel aandacht besteed aan bio-ethiek. Dat betekent dat er wordt ingegaan op het feit dat en waarom er proefdieren worden ingezet bij het practicum, en welke procedures er daarbij moeten worden doorlopen. Maar ook komt de thematiek van het gebruik van proefdieren bij onderzoek in bredere zin aan de orde, net als het belang van de 3Vs.'

Dit is nu aangepast: 'Er wordt binnen de cursussen veel aandacht besteed aan bio-ethiek. Hiervoor worden onderwijsbijeenkomsten zoals hoorcolleges verplicht gesteld om de studenten goed te informeren en ook mogelijkheden te bieden discussies op dit vlak aan te gaan. Dat betekent dat er wordt ingegaan op het feit dat en waarom er proefdieren worden ingezet bij het practicum, en welke procedures er daarbij moeten worden doorlopen. Maar ook komt de thematiek van het gebruik van proefdieren bij onderzoek in bredere zin aan de orde, net als het belang van de 3Vs.'

Projectvoorstel

- Binnen de opleidingen is er zorgvuldig gekeken naar wanneer welk practicum plaats zou moeten vinden, op basis van het curriculum en de daarop aansluitende leerlijnen. We gaan ervan uit dat waar de DEC spreekt over sommige experimenten bedoeld wordt op de orgaanbad-practica.

Onder 3.2 staat voor 3.4.4.1 beschreven: 'Het educatieve aspect van het werken met dierlijk materiaal is van belang omdat de studenten binnen de bachelor farmacie verder niet in aanraking komen met proefdieren/dierlijk materiaal, terwijl hun latere werkveld mede bepaald wordt door onderzoek met proefdieren. We vinden het belangrijk dat de studenten hier minimaal één keer mee in aanraking komen.'

Dit is veranderd in: 'Het educatieve aspect van het werken met dierlijk materiaal is van belang omdat de studenten binnen de bachelor farmacie verder niet in aanraking komen met proefdieren/dierlijk materiaal, terwijl hun latere werkveld mede bepaald wordt door onderzoek met proefdieren. Bovendien blijkt uit studentenevaluaties van de practica dat de leeropbrengst van het werken met dierlijk materiaal veel groter is, en ook de discussie hierover meer diepgang geeft. We vinden het belangrijk dat de studenten hier minimaal één keer mee in aanraking komen, omdat het ook een duidelijke bijdrage levert aan de bewustwording van de studenten.'

- In de handreiking staat op pagina negen een figuur waarvan wij denken dat onze aanvraag hier goed (perfect) op aansluit. Het hoofddoel bestaat uit dat we de studenten binnen de opleidingen op een goede manier willen voorbereiden op hun latere werkveld, we hebben hiervoor verschillende onderwijsonderdelen ingericht die goed overzien worden door de verantwoordelijk onderzoekers, het niveau van de studenten is helder en de noodzaak het onderwijs te volgen sluit naadloos aan op het curriculum (van zowel farmacie als BMW).

Bijlage 3

- B. De Dieren: Dat is aangepast in bijlage 3.
- 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 is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. De bachelor en masteropleidingen Farmaceutische en Biomedische Wetenschappen betreffen onder meer een aantal practica neuro- immunofarmacologie waarbij levende dieren worden ingezet. Voor details verwijst de DEC graag naar het figuur opgenomen in het projectvoorstel onder 3.1 Achtergrond. Het grootste deel van de studenten binnen deze opleidingen wordt opgeleid tot biomedisch wetenschapper of apotheker en komt na het afstuderen in het werkveld direct (wetenschapper) of indirect (apotheker) in aanraking met dierproeven. Door binnen elke opleiding een cursus aan te bieden waarin proefdieren gebruikt worden komen de studenten ongeacht hun studietraject in aanraking met proefdieren. De DEC is van mening dat het van reëel belang is dat studenten tijdens hun opleiding kennismaken met dierproeven, zodat zij zich realiseren wat het werken met proefdieren inhoudt en beter kunnen bepalen of zij in de toekomst met proefdieren willen werken. Voor wat betreft de specifieke onderwijsdoelstellingen van de practica neuro-immunofarmacologie die in de projectaanvraag beschreven worden vindt de DEC het van reëel belang dat studenten door middel van in vivo experimenten kennisnemen van de effecten van farmaca op fysiologie en gedrag van het dier en de wijze waarop de effecten gemeten kunnen worden.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Binnen de opleiding Farmacie stromen vanuit de bachelor veel studenten door naar de master Farmacie. Ondanks dat deze studenten niet direct zelf dierproeven zullen uitvoeren is het toekomstige werkveld een sector die direct afhankelijk is van proefdieronderzoek. Daarom achten de onderzoekers het raadzaam dat de studenten de mogelijkheid hebben tijdens de bachelor kennis te maken met dierexperimenteel werk. Binnen de master Farmacie voorziet het keuzevak in de behoefte verdere verdieping aan te brengen in het onderwijs aangaande preklinisch onderzoek voor de selecte groep studenten die binnen deze master kiest voor geneesmiddelenonderzoek. De studenten die de opleidingen Biomedische Wetenschappen (BMW), College of Pharmaceutical Sciences (CPS) en Drug Innovation volgen worden opgeleid tot (biomedisch) onderzoekers. De bachelor CPS en de master Drug Innovation zijn erop gericht studenten op te leiden om innovatieve en nieuwe medicijnen te gaan ontwikkelen. Om de studenten hierop voor te bereiden is het zeer waardevol

dat zij ook worden onderwezen in het preklinisch onderzoek. Het praktische onderwijs binnen de departementen bestaat voornamelijk uit *in vitro* practica die het werken met levende dieren vervangen. In de huidige projectaanvraag worden practica aangevraagd waar proefdieren bij betrokken zijn. In de bachelor farmacie is hier vooral sprake van een kennismaking met dierlijk materiaal (*ex vivo* orgaanbad practicum, bijlage 1). Voor de CPS (bijlage 3) en BMW studenten (bijlage 6 en 7) wordt al meer verdieping geboden daar deze groep studenten al duidelijk gekozen heeft voor een opleiding tot onderzoeker. In de masteropleidingen Drug Innovation (bijlage 2) en Farmacie (bijlage 4 en 5) komen de verschillende aspecten van het uitvoeren en opzetten van preklinisch onderzoek in nader detail aan bod. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen 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)
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Alle dieren die in de beschreven practica ingezet worden ondervinden maximaal licht ongerief. In de bijlagen 1 en 4 worden cavia's zonder voorafgaande handelingen gedood. In de andere bijlagen (2, 3, 5, 6, en 7) ervaren de dieren licht ongerief ten gevolge van verschillende experimentele handelingen (zoals sensibilisatie met allergenen, luchtwegfunctiemetingen, injecties met farmaca en gedragstesten). Naar verwachting zal maximaal 5% van de dieren in bijlage 2 het humane eindpunt bereiken door wondvorming op de buik en oor zwelling veroorzaakt door blootstelling aan een allergeen. Het is niet waarschijnlijk dat dieren in de andere bijlagen ten gevolge van de experimentele handelingen het humane eindpunt zullen bereiken.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. Om de onderwijsdoelstellingen van de verschillende opleidingen te bereiken wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van *in vitro* experimenten en video-opnamen van dierproeven. Maar een aantal onderwijsdoelstellingen – die in de projectaanvraag nader zijn toegelicht – kunnen alleen bereikt worden met behulp van *ex vivo* en *in vivo* experimenten. Voorafgaand aan dergelijke practica zal men samen met de studenten stilstaan bij de (on)mogelijkheden van alternatieve methoden en de ethische afweging die gemaakt is met betrekking tot het gebruik van proefdieren voor het betreffende practicum. In het verleden

hebben studenten tijdens de eindevaluaties van de practica aangeven het zeer waardevol te vinden een dierexperiment te kunnen aanschouwen en uitvoeren. Uit deze evaluaties blijkt dat een grote meerderheid van de studenten het gebruik van proefdieren voor practica gerechtvaardigd vindt. Op verzoek van de DEC hebben de onderzoekers ervoor gekozen het uitvoeren van de Porsolt-zwemtest te laten vervallen en in plaats daarvan video-opnamen te tonen.

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. Experimenten uitgevoerd door studenten hoeven niet altijd significante resultaten op te leveren maar dienen er voor studenten bewust te maken van effecten van farmaca. Uitgangspunt bij de berekening van het aantal benodigde dieren is het aantal studenten dat deelneemt aan de practica, en niet het aantonen van significante verschillen tussen groepen. Hierdoor zijn beduidend minder dieren nodig dan wanneer uitgegaan was van een significant effect. Voor het uitvoeren van analyses wordt ook data uit eerder uitgevoerd practica gebruikt. In de orgaanbad practica (bijlage 1 en 4) is voor darmmateriaal gekozen, omdat dit een grote opbrengst heeft en daardoor het aantal benodigde dieren kan worden beperkt. Daar waar mogelijk wordt gebruik gemaakt van surplusdieren.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De door studenten uit te voeren practica worden van tevoren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen. Binnen de opleiding is veel ervaring met de beschreven dierexperimenten en men heeft de practica in de loop der jaren kunnen optimaliseren. Daar waar mogelijk worden farmaca bijvoorbeeld opgelost in zoete gecondenseerde melk, zodat ze door de studenten oraal toegediend kunnen worden, waardoor orale gavage of injectie van het betreffende farmacon vermeden kan worden. Injecties worden uitgevoerd door of onder toezicht van ervaren analisten. De keuze voor het gebruik van alleen mannelijke of vrouwelijke ratten is daar waar van toepassing goed onderbouwd voor het betreffende practicum.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De DEC is van mening dat de onderwijsdoeleinden van dit project het voorgestelde gebruik van dieren rechtvaardigen. Voor de toekomstige onderzoekers/ apotheker is het van belang om kennis te hebben van de ethische aspecten van dierexperimenten en van de afwegingen die daarvoor gemaakt moeten worden. Het grootste deel van de studenten zal in de toekomst als onderzoeker of apotheker direct of indirect bij dierproeven betrokken zijn. Door binnen elke opleiding een cursus aan te bieden waarin proefdieren gebruikt worden kunnen studenten ongeacht hun studietraject een cursus volgen waarin zij te maken krijgen met proefdieren. Op deze manier

realiseren de studenten zich wat werken met proefdieren inhoudt, wat later van belang is in het werkveld als wetenschapper of apotheker. De ratten, muizen en cavia's in de practica ondervinden maximaal licht ongerief. Voorafgaand aan de aangevraagde practica zal een ethische discussie plaatsvinden met de studenten, dit wordt door de DEC van groot belang geacht voor de deelnemers om inzicht te verwerven in de ethische aspecten en de afwegingen die betrekking hebben op het werken met proefdieren. De mogelijkheden tot vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven zijn onderzocht en optimaal toegepast binnen de opzet van de practica. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het belang van de doelstellingen opweegt tegen het lichte ongerief dat de ratten, muizen en cavia's in dit project zullen ondervinden en dat het gebruik van de dieren ethisch aanvaardbaar is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Dierexperimentencommissie Utrecht



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

[REDACTED]

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD108002016525

Bijlagen

2

Datum 22 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 21 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD108002016525. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.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.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10800
Naam instelling of organisatie: Universiteit Utrecht
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 30275924
Straat en huisnummer: Bolognalaan 50
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
IBAN: NL27INGB0000425267
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Universiteit Utrecht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 juni 2016
Geplande einddatum: 31 mei 2021
Titel project: Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie
Titel niet-technische samenvatting: Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie
Naam DEC: DEC Utrecht
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 2.013,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: DEC-advies

Ondertekening

Naam: 
Functie: 
Plaats: Utrecht
Datum: 20 april 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Postbus 80.011

3508 TA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD108002016525

Bijlagen

2

Datum 22 april 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 22 april 2016

Vervaldatum: 22 mei 2016

Factuurnummer: 16700525

Ordernummer: CB. 841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD108002016525	€ 2.013,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

Van: [REDACTED]
Verzonden: maandag 23 mei 2016 14:21
Aan: Info-zbo
Onderwerp: RE: Aanvullingen AVD108002016525
Bijlagen: 2015.II.858.029 nts_AVD108002016525.doc

Categorieën: Dossier: [REDACTED]

Beste [REDACTED]

Hieronder de aanvullende informatie. Omdat ik geen informatie had over NetFTP heb ik nu de NTS als attachment bijgevoegd. Ik heb hierover contact gehad met uw collega mevrouw [REDACTED]

Met vriendelijke groeten,
[REDACTED]

Kunt u voor Dierproef 5 (In vivo practicum DI411) de 3V's beter beschrijven?

Vermindering: we hebben gekozen voor een opzet waarbij de studenten geen volledige data set hoeven te verzamelen. De data die de studenten verzamelen worden toegevoegd aan een bestaande dataset, waardoor de studenten wel ervaring opdoen met het werken met proefdieren en een volledige experiment kunnen doorlopen (van opzet, via uitvoering naar analyse), maar daar minder proefdieren voor gebruiken dan wat bij een regulier experiment nodig zou zijn. Ook het feit dat er voor dit practicum surplus dieren worden gebruikt draagt bij aan vermindering van het aantal proefdieren. Evenals het feit dat voor beide onderdelen dezelfde ratten worden gebruikt.

Verfijning: De injecties worden gegeven door een getrainde analist waardoor het ongerief van injecteren minimaal is.

Vervanging is niet mogelijk aangezien een van de doelen van het practicum is ervaring opdoen met het werken met proefdieren. Zoals ook studenten aangeven in de evaluaties, is het gebruiken van een "echt dier" in een proefopzet een wezenlijk andere ervaring dan een filmpje of een dummy.

Kunt u voor Dierproef 6 (Advanced Neuroscience) aangeven waarom u alleen mannelijke ratten en vrouwelijke muizen wilt gebruiken?

Gezien het feit dat de structuur en intensiteit van sociaal speelgedrag verschilt tussen mannelijke en vrouwelijke ratten (zie Pellis et al., Neurosci Biobehav Rev 1997), is het niet ondenkbaar dat de uitkomsten van een experiment naar de effecten van methylfenidaat op sociaal speelgedrag bij vrouwelijke ratten anders zijn. Aangezien dit practicumonderdeel gebaseerd is op eerdere bevindingen bij mannelijke ratten (Vanderschuren et al., Neuropsychopharmacology 2008), willen we mannelijke ratten gebruiken. Er is veel evidentie dat vrouwelijke ratten anders (meestal sterker) reageren op psychostimulantia, zoals cocaine en amfetamine (zie Carroll et al., Trends Pharmacol Sci 2004). Om die reden is het verstandig om alleen mannelijke of alleen vrouwelijke ratten te gebruiken. Aangezien dit practicumonderdeel gebaseerd is op eerdere bevindingen bij mannelijke ratten (Vanderschuren et al., Psychopharmacology 2000; Veeneman et al., Psychopharmacology 2011), willen we mannelijke ratten gebruiken.

Voor de muizen hebben we alleen eigen observaties:

Omdat er tijdens het practicumonderdeel 'sociale herkenning bij de muis' in het verleden in een aantal gevallen agressief gedrag te zien was (hetgeen ongewenst is, omdat dit het waarnemen

van sociale herkenning in de weg staat), hebben wij voor het practicum sinds 2013 vrouwelijke muizen gebruikt. Van vrouwelijke muizen van de gebruikte stammen is bekend dat er in beduidend mindere mate agressief gedrag optreedt tijdens een exploratieve, niet-territoriale sociale interactie.

Kunt u voor Dierproef 7 (Algemene farmacologie) de Vermindering en Verfijning beter beschrijven?

Het doel van dit practicum is dat de student vaststelt wat het gedragsprofiel van psychofarmaca is. Om gedrag in een dier te observeren heb je intacte neurale systemen nodig. In de jaren dat dit practicum gegeven is is gebleken dat slechts een kleine minderheid van de deelnemende studenten eerdere ervaring met proefdieren heeft. Verder geeft de overgrote meerderheid van de deelnemers aan het uitvoeren van het practicum met proefdieren veel leerzamer en effectiever te vinden dan d.m.v. video-opnames (zie onderstaande evaluaties uit 2014 en 2015). Hierover is indertijd overleg geweest met het NKCA, dat aangaf ervaring met proefdieren voor BMW-studenten essentieel te vinden. Verder is het practicum dusdanig opgezet dat het aantal benodigde dieren minimaal is, een verdere vermindering is niet mogelijk. De experimenten worden al jarenlang uitgevoerd binnen deze afdeling en zijn helemaal uitontwikkeld. De practica worden begeleid door ervaren onderzoekers (wetenschappers en dierwerkers).

Om de mening van deelnemende studenten te peilen wordt elk jaar het practicum geëvalueerd. Uit deze evaluaties blijkt dat de een grote meerderheid van de deelnemers het praktikum dat het gebruik van proefdieren gerechtvaardigd is.

Evaluatie (2013-2014; n=67)

- Do you think it is justified to use animals for this practical? Yes: 94.0% / No: 6.0%
- Do you think an instruction video is a good alternative for this practical? Yes: 4.5% / No: 95.5%

Evaluatie (2014-2015; n=75)

- Do you think it is justified to use animals for this practical? Yes: 84% / No: 16%
- Do you think an instruction video is a good alternative for this practical? Yes: 26.7% / No: 73.3%

From: Info-zbo [info@zbo-ccd.nl]
Sent: Wednesday, May 18, 2016 12:17 PM
To: [REDACTED]
Cc: [REDACTED]
Subject: Aanvullingen AVD108002016525

Geachte meneer, mevrouw,

Op 21 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie" met aanvraagnummer AVD108002016525. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze e-mail 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:

Kunt u voor Dierproef 5 (In vivo practicum DI411) de 3V's beter beschrijven?

Kunt u voor Dierproef 6 (Advanced Neuroscience) aangeven waarom u alleen mannelijke ratten en vrouwelijke muizen wilt gebruiken?

Kunt u voor Dierproef 7 (Algemene farmacologie) de Vermindering en Verfijning beter beschrijven?

Kunt u in de NTS 3.5 wijzigen? U schrijft hier "In de overige practica worden de dieren gedood zonder voorafgaande behandeling; dit wordt daarom ingeschat als geen verder ongerief." Dit valt echter ook onder licht ongerief, zoals u dat ook in de Bijlagen Dierproeven beschrijft.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze e-mail op. Indien wij de informatie voor 24 mei ontvangen, kan uw aanvraag de eerstvolgende vergadering van de CCD behandeld worden. U kunt een nieuwe NTS aanleveren via NetFTP, de vragen over de Dierproeven kunt u per e-mail sturen.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groeten,

██████████

Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 – 28 000 28 (10 ct/min)

E: info@zbo-ccd.nl



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



Centrale Commissie

Dierproeven

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD108002016525

Bijlagen

1

07 JUN 2016

Datum

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 21 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie" met aanvraagnummer AVD108002016525. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 23 mei 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof de 3 V's, onderbouwing van gebruik van één geslacht dieren en het ongerief in de NTS.

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 heeft in uw aanvraag aangegeven dat voor het experiment met ratten in dierproef 6 in principe zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt kunnen worden. Echter per proef is het gebruik van één geslacht gewenst en indien mogelijk wordt er gebruik gemaakt van surplus dieren.

Wij zijn van mening, dat indien er gebruik gemaakt wordt van surplus dieren, het acceptabel is enkel mannelijke of vrouwelijke dieren te gebruiken. Om het aantal in voorraad gedode dieren te beperken, dienen, als er geen gebruik gemaakt kan worden van surplus dieren, mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt te worden, voor de totale looptijd van de vergunning. Dit is overeenkomstig de artikelen 1d en 10, tweede lid, van de wet en de ethische afweging die gemaakt is op uw aanvraag.

De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1 sub a van de wet wordt gesteld om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie" starten. De vergunning wordt afgegeven van 7 juni 2016 tot en met 31 mei 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 31 maart 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

In aanvulling op het DEC-advies stelt de CCD voorwaarden. De voorwaarden staan in de vergunning beschreven. Voor het overige nemen wij het advies

van de DEC over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD108002016525

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

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: Universiteit Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 07 juni 2016 tot en met 31 mei 2021, voor het project "Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie" met aanvraagnummer AVD108002016525, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat er een specifieke en een algemene voorwaarde wordt gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is postdoc.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 21 april 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 20 april 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 23 mei 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 31 maart 2016, ontvangen op 20 april 2016.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 23 mei 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Orgaanbad practicum FA302	Cavia's (Cavia porcellus) /	50	Licht	
Immunofarmacologie	Muizen (Mus musculus) /	120	Licht	
Practicum CPS FA336B Neuropsychopharmacology	Ratten (Rattus norvegicus) / Wistar	60	Licht	
In vitro practicum DI411	Cavia's (Cavia porcellus) / Dunkin Hartley/HsdDhl:DH	15	Licht	
In vivo practicum DI411	Ratten (Rattus norvegicus) / Wistar	60	Licht	
Advanced Neuroscience	Ratten (Rattus norvegicus) /	325	Licht	
Advanced Neuroscience	Muizen (Mus musculus) /	160	Licht	
Algemene farmacologie	Ratten (Rattus norvegicus) /	300	Licht	

Voorwaarden

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

Voor Dierproef 6 worden voor de experimenten met ratten mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt, met uitzondering van experimenten waarbij surplus dieren gebruikt worden.

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

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 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 13d 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 13c 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.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2015.II.858.029
2. Titel van het project : Dierproeven in het kader van de opleiding farmacie
3. Titel van de NTS : Dierproeven in het kader van de practica Neuro-immunofarmacologie van Farmaceutische Wetenschappen en Biomedische wetenschappen

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: 06-11-2015
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 18-11-2015, 16-12-2015 en 20-01-2016
 anderszins behandeld: per mail: 29-02-2016
 termijnonderbreking(en) van / tot : 20-11-2015 tot 07-12-2015
18-12-2015 tot 08-01-2016
22-01-2016 tot 29-02-2016
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 31-03-2016

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: 20-11-2015
- Strekking van de vragen:

- Opmerking vooraf: De DEC raadt u aan met de twee vergunninghouders te overleggen of het wel gewenst is om deze aanvraag niet op te splitsen per vergunninghouder. Juridisch gezien lijkt het niet correct om de ene vergunninghouder verantwoordelijk te maken voor het onderwijs van de andere vergunninghouder. Dit zou er dus toe kunnen leiden dat u uw aanvraag alsnog dient op te splitsen. U kunt voor deze kwestie contact opnemen met de Instantie voor Dierwelzijn.
- Algemene opmerking: De DEC heeft aan deze aanvraag bijzonder veel tijd moeten besteden, omdat de informatie niet volledig is en niet coherent is opgeschreven zodat het maken van een goede ethische afweging nog niet mogelijk is. De DEC realiseert zich dat dit type onderwijs al vele jaren op de campus wordt gegeven, maar het is niet de DEC, maar de CCD die uiteindelijk beslist of deze onderwijsonderdelen mogen worden uitgevoerd. Voor de CCD is deze informatie nieuw en het is verstandig om met dit gegeven in het achterhoofd de aanvraag/aanvragen volledig te herschrijven. In dit verband merkt de DEC op dat het belangrijk is om de context aan te geven van onderwijs modules waar proefdieren bij worden gebruikt. Te denken valt aan: het college bio-ethiek, de plaats van alternatieven (videodemonstratie bijvoorbeeld) en de onderwijs evaluatie toegespitst op het gebruik van levende dieren).

Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: De laatste alinea van onderen is niet erg sterk. De DEC doet u de suggestie de argumentatie voor het aanbieden van dit onderwijs aan de diverse groepen studenten, vermeld in 3.2. Doel, sub 3.4.4.3, hier ook te vermelden.
- 3.2 Doel: Algemeen: De uniformiteit is hier ver te zoeken. Graag duidelijker per module de leerdoelen benoemen opdat op basis daarvan de ratio en argumentatie voor de keuze van de experimenten duidelijk wordt.
- In 3.4.4.1. wordt het leerdoel het geheel niet genoemd. Probeer u de lezer meer mee te nemen in uw afwegingen.
- Ook graag per onderdeel vermelden dat er een ethische discussie plaatsvindt voordat het practicum wordt gegeven (mits dit ook daadwerkelijk plaatsvindt) en dat na afloop van het betreffende practicum een studentenevaluatie plaatsvindt, waarbij de deelnemers ook gevraagd wordt aan te geven of zij het gebruik van proefdieren voor dit type onderwijs gerechtvaardigd vinden.
- Ook graag duidelijker aangegeven dat er alleen gewerkt wordt met echte surplusdieren (dieren die toch gedood zouden worden). De DEC raadt u aan om veel meer nadruk te leggen op het gebruik van surplusdieren in relatie tot de leerdoelen en het type student dat het practicum volgt.

Bijlagen

- Algemeen: De DEC geeft u als advies mee om bijlage 6 als voorbeeld te gebruiken voor het herschrijven van alle bijlagen. De DEC verzoekt u alle bijlagen te uniformeren.

Voor alle onderdelen geldt dat u onvoldoende aandacht geeft aan het mogelijk gebruik van alternatieven, zoals video. Het gaat om het behalen van het onderwijsdoel gezien de achtergrond van de studenten.

Overige opmerkingen Bijlage 1 t/m 5: zie algemene opmerking hierboven.

Bijlage 2

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken:
- Op pagina 2 wordt gesproken over 3 groepen van 6-8 studenten en onder B. (De dieren) wordt gesproken over twee groepen van 8 studenten. Er zit ook een discrepantie in het aantal te gebruiken muizen per groep. Graag beter opschrijven, uitleggen.
- Op pagina 1 schrijft u 'De basale luchtwegfunctie wordt gemeten in een bodyplethysmografische kamer (Buxco). Hiertoe worden de muizen blootgesteld aan een nevel van metacholine leidend tot een lichte benauwdheid'. Waarom vermeldt u dit ongerief niet later bij K? Los daarvan vindt de DEC gezien het leerdoel lichte benauwdheid niet acceptabel (matig ongerief).
- Meer in het algemeen begrijpt de DEC niet waarom u – gezien het leerdoel – juist voor dit model heeft gekozen. Graag uw toelichting waarom u geen minder invasief alternatief model gebruikt.

Bijlage 3

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De werking en rationale achter de gekozen psychofarmaca ontbreken. Graag invullen.
- B. De Dieren: De reden waarom u voor mannelijke dieren kiest, is opmerkelijk. De DEC raadt u aan dit beter te formuleren.
- K. Classificatie van ongerief: De Porsolt-zwemtest gaat gepaard met meer dan licht ongerief. Gezien het onderwijsdoel acht de DEC dit practicumonderdeel niet acceptabel en doet u de suggestie in dit geval een video te vertonen.

Bijlage 4

- Deze bijlage is te summier. Wat gaat u precies in dit practicum doen en waarom is dit gerechtvaardigd in het licht van het leerdoel. Wat zijn uw verwachtingen?
- De term surplus ontbreekt. Voor deze proef mogen alleen surplusdieren (dieren die anders toch gedood zouden worden) gebruikt worden. Mocht er van de betreffende diersoort geen surplusdier zijn, dan is het te overwegen een ander soort surplusdier te gebruiken.

Bijlage 5

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De onderbouwing van de keuzen en ratio van de toet te dienen stoffen ontbreekt.

- B. De Dieren: Het geslacht ontbreekt. Gebruikt u beide geslachten? Gebruikt u surplusdieren? Wat verwacht u te zien aan het gedrag van de dieren?

Bijlage 6

De DEC is tevreden over de opbouw van deze bijlage. Deze bijlage graag als voorbeeld gebruiken voor de andere bijlagen.

- B. De Dieren: Het geslacht van de dieren ontbreekt
- C. Hergebruik: Kunnen de dieren die in experiment 1 gebruikt worden niet doorschuiven naar experiment 2?
- D. Vervanging, vermindering en verfijning: Hier staat een en ander goed uitgelegd. Gebruik deze onderbouwing ook in het algemene deel. Opmerking: Liever niet spreken van een 'intact neurale systeem' maar van een 'levend dier'.
- K. Classificatie van ongerief: Het ongerief graag per experiment vermelden. Daarna het ongerief over het hele project weergeven. De DEC vraagt zich af of het matige ongerief niet bijgesteld kan worden naar licht indien er meer dieren worden gebruikt. Graag uw visie.

Bijlage 7

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Welke farmaca worden er gebruikt en welke effecten verwacht u (voor het practicum en voor het ongerief voor de dieren)
- B. De Dieren: Waarom worden hier geen surplus dieren gebruikt? Nogmaals gezien het onderwijsdoel vindt de DEC alleen het gebruik van surplusdieren gerechtvaardigd.
- Waarom gebruikt u alleen mannelijke dieren en waarom nu deze stam Charles River (nadeel langer transport, dus meer ongerief voor de dieren) en waarom van dit gewicht etc.?

Niet technische Samenvatting

Algemeen: Graag de NTS volledig herschrijven, positiever formuleren en uitbreiden naar aanleiding van de op- en aanmerkingen van de DEC.

- Datum antwoord: 07-12-2015
- Strekking van de antwoorden:
-
- Opmerking vooraf: Hierover is gesproken met de betrokkenen en er is geconcludeerd dat wij wel door willen met een gezamenlijke aanvraag
- Algemene opmerking: Er is in de huidige projectaanvraag getracht een zo duidelijk mogelijk beeld te schetsen van het onderwijs en de samenhang. Wij waren er niet van op de hoogte dat het noodzakelijk zou zijn de opleidingen zelf van nadere toelichting te voorzien; er is nu enige informatie bijgevoegd wat e.e.a. zou kunnen verduidelijken. Hierover is op verschillende plaatsen in de aanvraag en in de bijlagen informatie bijgevoegd.

Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: Deze tekst is aangepast naar: 'Voor het praktisch onderwijs binnen de departementen wordt gebruik gemaakt van in vitro practica die het werken met levende dieren vervangen. Hierdoor zijn minder proefdieren nodig. In de huidige projectaanvraag gaat het om onderwijs waarbij wordt ingespeeld op de behoefte de studenten minimaal eenmalig in aanraking te laten komen met dierexperimenten, in het kader van hun opleiding. Hierbij vindt voortdurende oriëntatie plaats op nieuwe mogelijkheden tot vermindering, vervanging of verfijning. Het ervaren hoe het is om met dieren te werken draagt bij aan de studie/carrière van iedere student. Het is voor de maatschappij van groot belang dat toekomstig onderzoekers niet alleen vakkundig zijn maar ook op een verantwoorde en weloverwogen manier te werk gaan.' In de verschillende bijlages staan doel en uitvoering meer uitvoerig beschreven.
'Het is voor deze studenten van het grootste belang dat ze weten en ervaren hoe het is om met proefdieren te werken, hoe farmaca verschillende aspecten van een dier en diergedrag kan beïnvloeden en hoe je dit kunt meten. Deze studenten zullen in hun toekomstig werk vrijwel zeker te maken krijgen met dierexperimenteel werk als direct uitvoerende of als supervisor van een project.'
- 3.2 Doel: Er is getracht een zo uniform mogelijke weergave te gebruiken. Het betreft hier echter wel een aanvraag met verschillende soorten practica, die nooit gelijk aan elkaar zullen zijn. De term toetsbare eenheid is in gesprekken over deze materie opgeworpen en ik ben van mening dat als daar een parameter aan moet worden verbonden dat deze dan zou moeten zijn verbonden aan de onderwijsstrategie, niet zozeer de leerdoelen van de individuele cursussen. Hopelijk heeft de hernieuwde projectaanvraag verder weten te verduidelijken dat de rode draad is die de verschillende onderdelen met elkaar verbindt is dat de studenten iets wordt geleerd over preklinisch onderzoek.
- In 3.4.4.1: Dat is aangepast
- Dat is aangepast
- Dat is aangepast

Bijlagen

- Algemeen: Voor zover mogelijk hebben wij ons proberen te houden aan dit advies
- Dit is aangepast
- Overige opmerkingen Bijlagen 1 t/m 5: Hier zijn de nodige wijzigingen doorgevoerd.

Bijlage 2

- Dit is aangepast
- Dit is aangepast
- Dit ongerief wordt nu wel vermeld bij K en is aangepast naar licht ongerief naar aanleiding van overleg met de proefdierdeskundige.
- Naar onze mening sluit dit model aan bij de leerdoelen. Wij vragen ons hiernaast af hoe de BUXCO als een invasief model kan worden beschouwd, daar de dieren zonder restricties in een kamertje worden geplaatst en metacholine inademen. Indien het toedienen van een stof

die ingeademd wordt als invasief beschouwd moet worden: daar is niet zo makkelijk een alternatief op te bedenken.

Bijlage 3

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De experimentele aanpak is duidelijker omschreven. De uitkomst parameters zijn nu benoemd en ook per gedragstest aangegeven. De gekozen psychofarmaca en de rationale voor die keuze is aangegeven.
- B. De Dieren: De reden waarom geslachten niet door elkaar gebruikt kunnen worden in eenzelfde ruimte is verduidelijkt. De reden voor de keuze van mannelijke dieren is beter uiteengezet en van enkele referenties voorzien.
- K. Classificatie van ongerief: De Porsolt-zwemtest zal niet met de ratten worden uitgevoerd. In plaats daarvan zal een video worden getoond met de test.

Bijlage 4

- Wij hebben punt A nu uitgebreider beschreven en hopen dat hiermee de aanpak verduidelijkt is. Onze verwachtingen hebben we beschreven op basis van eerdere ervaringen met dit practicum
- We hebben het woord hergebruik vervangen door surplus, en een nog wat uitgebreidere toelichting gegeven waarom wij vonden dat hergebruik van dieren hier zondermeer een optie is. We zijn huiverig te stellen dat we een andere diersoort kunnen gebruiken, omdat onze ervaring is dat darmweefsel van de rat minder robuuste data geeft.

Bijlage 5

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Onderbouwing van de keuzen en ratio van de toe te dienen stoffen is toegevoegd.
- B. De Dieren: In de tekst is toegevoegd dat we een sterke voorkeur hebben voor het gebruik van mannelijke ratten, omdat de door studenten verzamelede data wordt toegevoegd aan een reeds bestaande dataset die is verkregen met mannelijke ratten. Het practicum zou ook met vrouwtjes ratten uitgevoerd kunnen worden, maar de beide geslachten door elkaar gebruiken is onwenselijk.
Verschillende seksen door elkaar tijdens het testen levert een enorme afleiding voor de dieren waardoor het correct uitvoeren van de gedragstesten niet mogelijk is. Mannetjes ratten die een vrouwtjes rat ruiken zich heel anders gedragen en het te meten gedrag in een gedragstest of tijdens een observatie kan vervolgens sterk veranderen.
Gebruikt u surplusdieren? Werd al genoemd in deze bijlage, hier is niets aan gewijzigd/toegevoegd.
Wat verwacht u te zien aan het gedrag van de dieren? Dit is behandeld onder punt I, en nu ook nog extra ingebracht onder punt A. De farmaca zullen naar verwachting enig effect hebben op de activiteit (meer of minder) en spierfunctie (hoger of lagere tonus) hebben.

Bijlage 6

- B. De Dieren: Dit is nu wel aangegeven.
- C. Hergebruik: dit kan niet omdat de dieren niet de juiste leeftijd hebben. Het practicum duurt niet lang genoeg (2 weken) om dieren van 4-5 weken volwassen te laten worden.
- D. Vervanging, vermindering en verfijning: Deze tekst is aangepast.

- K. Classificatie van ongerief: De inschatting van het ongerief was gebaseerd op de "oude indeling" en is nu herzien. In dit onderdeel is de tekst ook nagekeken en aangepast. Het ongerief is ingeschat op licht.

Bijlage 7

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: In de herziene versie van de bijlage zijn de farmaca aangegeven en is per farmacon het verwachte effect toegelicht
- B. De Dieren: Voor het practicum kan gebruik gemaakt worden van surplus dieren. Dit staat nu vermeld in de tekst.
- In de bijlage is hierover de volgende tekst opgenomen: 'Het is duidelijk dat er sekseverschillen bestaan in de farmacologie van psychotrope stoffen. Dit geldt voor zowel de farmacokinetische als farmacodynamische effecten van de middelen. Het doel van het practicum is niet om het sekseverschillen te onderzoeken of om de gegevens van het practicum te vertalen naar een humane situatie, maar om de student een gedragsprofiel te laten scoren van een aantal klassen psychotrope stoffen. De sekseverschillen in gedragsprofielen zal in het theoretisch gedeelte besproken worden. Indien er dieren voorradig zijn die voldoen aan de juiste criteria (geslacht, gewicht, stam) worden dieren besteld worden bij Charles River. De transportduur en dus mate van ongerief vanaf Charles River is vergelijkbaar met andere mogelijke leveranciers (Envigo), maar de immunologische status van de dieren is constanter bij Charles River.'

Niet Technische Samenvatting

Algemeen: Het is niet duidelijk wat er gewijzigd dient te worden aan de NTS. De wijzigingen die zijn doorgevoerd in de overige documenten hebben nagenoeg geen effect op de inhoud van de NTS. Omdat de NTS 'positiever' moet worden geformuleerd hebben we onderstreept wat het belang is van onderwijs aan studenten die onderzoek zullen gaan doen, dat er zoveel mogelijk naar wordt gestreefd geen diermodellen te gebruiken die onnodig belastend zouden zijn en dat er goed wordt stilgestaan bij bio-ethische afwegingen die gemaakt moeten worden.

- Datum: 18-12-2015
- Strekking van de vragen:

Niet Technische Samenvatting en titel van NTS en Project

- De DEC verzoekt u duidelijk te maken dat neuro- en immunofarmacologie de rode draad is in de aanvraag de huidige titel is veel te ruim en dekt de beperkte lading niet. De NTS bevat nog een aantal onjuistheden (zo werken apothekers bijvoorbeeld niet aan de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen) en niet goed lopende zinnen en herhalingen. Graag volledig herschrijven.

Projectvoorstel

- Figuur: Deze is niet evenwichtig. Het masterblok biomedische wetenschappen omvat ook andere masteropleidingen met dierproefpractica niet gerelateerd aan farmacologie.

Bijlage 2

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: De DEC mist de argumentatie voor de aanpassing van het ongerief, van matig naar licht. Graag vermelden wat er besproken is met de proefdierdeskundige.

Bijlage 3

- B. De Dieren: De dieren: De DEC vindt de motivatie voor het gebruik van mannelijke dieren onvoldoende. Graag anders formuleren.
- B. De Dieren: U spreekt over de eustus cyclus, graag aanpassen
- Datum antwoord: 08-01-2016
- Strekking van de antwoorden:

Niet Technische Samenvatting en titel van NTS en Project

De NTS is aangepast, alsmede de titel van de aanvraag. Met de stelling dat apothekers niet aan de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen kunnen wij niet geheel instemmen, want hoewel het gros van onze studenten die dit studiep pad kiezen inderdaad niet bij dit werk betrokken zijn, zijn er toch wel degelijk apothekers betrokken bij geneesmiddelenonderzoek.

Projectvoorstel

- We hebben de invulling van dit onderdeel iets aangepast ter verduidelijking. Uiteraard zullen er meerdere practica zijn en we hebben daarom de schijnbare scheve verdeling opgelost door aan te geven dat er wel practica zijn, maar dat die niet in deze aanvraag figureren.

Bijlage 2

- A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters: Er is een PDF bijgevoegd van een kleine wijziging waarin besproken is dat het ongerief is aangepast. In de bijlage onder K is tekst toegevoegd (is in het formulier niet waarneembaar geel te maken): In een besluit van de DEC na advies van de proefdierdeskundige (op 2014-02-28) is de mate van ongerief van de experimenten ingeschaald op gering/matig (zie bijgevoegde pdf: kleinewijziging_3.4.4.2.pdf). Omdat deze inschaling niet meer gehanteerd wordt in de nieuwe aanvraagformulieren, is in vooroverleg met de proefdierdeskundige aangegeven dat deze experimenten nu met ongerief gering dienen te worden ingeschaald.

Bijlage 3

- B. De Dieren: Onder 2B is de tekst ter verduidelijking aangepast naar het volgende: Het gedrag van vrouwelijke ratten wordt in zekere mate bepaald door het stadium van de cyclus. Gedrag op de plus maze bijvoorbeeld wordt beïnvloed door de oestrus cyclus (Markondes 2001, Physiol Behav. 74(4-5):435-40.) Maar ook de effecten van diazepam en serotonerge anxiolytica variëren ten gevolge van de cyclus in vrouwelijke dieren (A. Fernández-Guasti 1990; Pharmacol Biochem Behav. 37(1):77-81). De gebruikte gedragstesten en gebruikte farmaca zijn dus gevoelig voor de hormonale status van vrouwelijke dieren. De gedragseffecten (die we met de gedragstesten meten) ten gevolge van de farmaca zijn

afhankelijk van het stadium van de hormonale cyclus. De mogelijke verschillen in het specifieke stadium van de oestrus waarin een vrouwelijk dier zich bevindt bepaalt dus voor een deel de variatie van de resultaten. De vrouwtjes zullen niet allemaal op hetzelfde moment in de zelfde fase van de hormonale cyclus verkeren. Dus de gedragseffecten tussen vrouwelijke dieren die behandeld zijn met dezelfde stof kunnen toch onderling variëren doordat de dieren in een verschillende fase van de cyclus verkeren. De effecten van farmaca kunnen dan onvoldoende goed worden onderscheiden van de variatie in de gedragseffecten die ten gevolge van de verschillen in de hormonale cyclus optreden. We gebruiken hierom mannelijke dieren omdat die beter beantwoorden aan de gewenste evenwichtigheid van gedrag.

- B. De Dieren: De typefout is hersteld

- Datum: 22-01-2016

Strekking van de vragen:

Algemeen:

- De DEC verzoekt u de namen van de proefdierdeskundigen te verwijderen uit de aanvraag.

Niet Technische Samenvatting

- U hebt de NTS onvoldoende herschreven. Graag meer aandacht aan besteden.
- Voorts mist in de NTS dat een belangrijk onderdeel van de practica bestaat uit een college over de bio ethische aspecten van het gebruik van proefdieren voor dit onderwijs.

Projectvoorstel

- De DEC vraagt aandacht voor een gedegen argumentatie waarom sommige experimenten niet kunnen worden vervangen door beeldmateriaal. Graag dus beter onderbouwen waarom onderwijs met levende dieren noodzakelijk is.
- De DEC verzoekt u toe te lichten waarom er hier sprake is van een toetsbare eenheid en vraag u om uw antwoord te relateren aan de handreiking Toetsbare Eenheid van de CCD die de DEC u bij deze toestuurt.

Bijlage 3

- B. De Dieren: De DEC verzoekt u de term eustus cyclus aan te passen, dit is niet correct.
- Datum antwoord: 29-02-2016
- Strekking van de antwoorden:

Algemeen:

- Dit is aangepast

Niet Technische Samenvatting

- Er zijn na persoonlijk overleg met de IvD een aantal zaken aangepast:
- Bij de doelstelling stond: 'De doelstelling van dit project is om studenten praktisch onderwijs te kunnen bieden in het kader van hun opleiding, waarbij zij in aanraking zullen komen met preklinisch onderzoek. Het maatschappelijk belang hierbij is dat de studenten, wie in hun latere carrière direct of indirect betrokken zullen zijn bij preklinisch onderzoek, weet hebben van wat het inhoudt om met proefdieren te werken.'

Dit is nu veranderd in: 'De doelstelling van dit project is om studenten praktisch onderwijs te kunnen bieden in het kader van hun opleiding, waarbij zij in aanraking zullen komen met preklinisch onderzoek, gerelateerd aan immunofarmacologie en neurofarmacologie. Het maatschappelijk belang hierbij is dat de studenten, wie in hun latere carrière direct of indirect betrokken zullen zijn bij preklinisch onderzoek, weet hebben van wat het inhoudt om met proefdieren te werken.'

Onder 3.2:

'De studenten die binnen onze opleidingen worden onderwezen, zullen worden opgeleid tot biomedisch onderzoeker, geneesmiddelenonderzoeker of apotheker. In hun latere werkveld zullen zij in aanraking komen met de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen. Hierbij is het essentieel om kennis van en enige ervaring met proefdieronderzoek te hebben. De plaats van de farmacologische practica, waarbij wordt gekeken naar de uitwerking van geneesmiddelen op het immuunsysteem/of gedrag is, zorgvuldig gekozen op basis van de aansluiting op de leerlijnen van het curriculum. De opbrengst van deze practica is dat de studenten goed voorbereid zijn op hun latere werkveld. Hiervoor is het belangrijk dat zij op de hoogte zijn van de verschillende stappen die benodigd zijn voor het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen.'

Onder 3.2:

'Er zullen in verschillende farmacologische practica, afhankelijk van de leerdoelen binnen de cursus, muizen, ratten of cavia's worden ingezet. In totaal gaat het om ongeveer 170 dieren per jaar. Er wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van surplus dieren.'

- In de NTS stond onder 4.3 Verfijning: 'Er wordt binnen de cursussen veel aandacht besteed aan bio-ethiek. Dat betekent dat er wordt ingegaan op het feit dat en waarom er proefdieren worden ingezet bij het practicum, en welke procedures er daarbij moeten worden doorlopen. Maar ook komt de thematiek van het gebruik van proefdieren bij onderzoek in bredere zin aan de orde, net als het belang van de 3Vs.'

Dit is nu aangepast: 'Er wordt binnen de cursussen veel aandacht besteed aan bio-ethiek. Hiervoor worden onderwijsbijeenkomsten zoals hoorcolleges verplicht gesteld om de studenten goed te informeren en ook mogelijkheden te bieden discussies op dit vlak aan te gaan. Dat betekent dat er wordt ingegaan op het feit dat en waarom er proefdieren worden ingezet bij het practicum, en welke procedures er daarbij moeten worden doorlopen. Maar ook komt de thematiek van het gebruik van proefdieren bij onderzoek in bredere zin aan de orde, net als het belang van de 3Vs.'

Projectvoorstel

- Binnen de opleidingen is er zorgvuldig gekeken naar wanneer welk practicum plaats zou moeten vinden, op basis van het curriculum en de daarop aansluitende leerlijnen. We gaan ervan uit dat waar de DEC spreekt over sommige experimenten bedoeld wordt op de orgaanbad-practica.

Onder 3.2 staat voor 3.4.4.1 beschreven: 'Het educatieve aspect van het werken met dierlijk materiaal is van belang omdat de studenten binnen de bachelor farmacie verder niet in aanraking komen met proefdieren/dierlijk materiaal, terwijl hun latere werkveld mede bepaald wordt door onderzoek met proefdieren. We vinden het belangrijk dat de studenten hier minimaal één keer mee in aanraking komen.'

Dit is veranderd in: 'Het educatieve aspect van het werken met dierlijk materiaal is van belang omdat de studenten binnen de bachelor farmacie verder niet in aanraking komen met proefdieren/dierlijk materiaal, terwijl hun latere werkveld mede bepaald wordt door onderzoek met proefdieren. Bovendien blijkt uit studentenevaluaties van de practica dat de leeropbrengst van het werken met dierlijk materiaal veel groter is, en ook de discussie hierover meer diepgang geeft. We vinden het belangrijk dat de studenten hier minimaal één keer mee in aanraking komen, omdat het ook een duidelijke bijdrage levert aan de bewustwording van de studenten.'

- In de handreiking staat op pagina negen een figuur waarvan wij denken dat onze aanvraag hier goed (perfect) op aansluit. Het hoofddoel bestaat uit dat we de studenten binnen de opleidingen op een goede manier willen voorbereiden op hun latere werkveld, we hebben hiervoor verschillende onderwijsonderdelen ingericht die goed overzien worden door de verantwoordelijk onderzoekers, het niveau van de studenten is helder en de noodzaak het onderwijs te volgen sluit naadloos aan op het curriculum (van zowel farmacie als BMW).

Bijlage 3

- B. De Dieren: Dat is aangepast in bijlage 3.
- 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 is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. De bachelor en masteropleidingen Farmaceutische en Biomedische Wetenschappen betreffen onder meer een aantal practica neuro- immunofarmacologie waarbij levende dieren worden ingezet. Voor details verwijst de DEC graag naar het figuur opgenomen in het projectvoorstel onder 3.1 Achtergrond. Het grootste deel van de studenten binnen deze opleidingen wordt opgeleid tot biomedisch wetenschapper of apotheker en komt na het afstuderen in het werkveld direct (wetenschapper) of indirect (apotheker) in aanraking met dierproeven. Door binnen elke opleiding een cursus aan te bieden waarin proefdieren gebruikt worden komen de studenten ongeacht hun studietraject in aanraking met proefdieren. De DEC is van mening dat het van reëel belang is dat studenten tijdens hun opleiding kennismaken met dierproeven, zodat zij zich realiseren wat het werken met proefdieren inhoudt en beter kunnen bepalen of zij in de toekomst met proefdieren willen werken. Voor wat betreft de specifieke onderwijsdoelstellingen van de practica neuro-immunofarmacologie die in de projectaanvraag beschreven worden vindt de DEC het van reëel belang dat studenten door middel van in vivo experimenten kennisnemen van de effecten van farmaca op fysiologie en gedrag van het dier en de wijze waarop de effecten gemeten kunnen worden.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Binnen de opleiding Farmacie stromen vanuit de bachelor veel studenten door naar de master Farmacie. Ondanks dat deze studenten niet direct zelf dierproeven zullen uitvoeren is het toekomstige werkveld een sector die direct afhankelijk is van proefdieronderzoek. Daarom achten de onderzoekers het raadzaam dat de studenten de mogelijkheid hebben tijdens de bachelor kennis te maken met dierexperimenteel werk. Binnen de master Farmacie voorziet het keuzevak in de behoefte verdere verdieping aan te brengen in het onderwijs aangaande preklinisch onderzoek voor de selecte groep studenten die binnen deze master kiest voor geneesmiddelenonderzoek. De studenten die de opleidingen Biomedische Wetenschappen (BMW), College of Pharmaceutical Sciences (CPS) en Drug Innovation volgen worden opgeleid tot (biomedisch) onderzoekers. De bachelor CPS en de master Drug Innovation zijn erop gericht studenten op te leiden om innovatieve en nieuwe medicijnen te gaan ontwikkelen. Om de studenten hierop voor te bereiden is het zeer waardevol

dat zij ook worden onderwezen in het preklinisch onderzoek. Het praktische onderwijs binnen de departementen bestaat voornamelijk uit *in vitro* practica die het werken met levende dieren vervangen. In de huidige projectaanvraag worden practica aangevraagd waar proefdieren bij betrokken zijn. In de bachelor farmacie is hier vooral sprake van een kennismaking met dierlijk materiaal (*ex vivo* orgaanbad practicum, bijlage 1). Voor de CPS (bijlage 3) en BMW studenten (bijlage 6 en 7) wordt al meer verdieping geboden daar deze groep studenten al duidelijk gekozen heeft voor een opleiding tot onderzoeker. In de masteropleidingen Drug Innovation (bijlage 2) en Farmacie (bijlage 4 en 5) komen de verschillende aspecten van het uitvoeren en opzetten van preklinisch onderzoek in nader detail aan bod. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen 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)
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Alle dieren die in de beschreven practica ingezet worden ondervinden maximaal licht ongerief. In de bijlagen 1 en 4 worden cavia's zonder voorafgaande handelingen gedood. In de andere bijlagen (2, 3, 5, 6, en 7) ervaren de dieren licht ongerief ten gevolge van verschillende experimentele handelingen (zoals sensibilisatie met allergenen, luchtwegfunctiemetingen, injecties met farmaca en gedragstesten). Naar verwachting zal maximaal 5% van de dieren in bijlage 2 het humane eindpunt bereiken door wondvorming op de buik en oor zwelling veroorzaakt door blootstelling aan een allergeen. Het is niet waarschijnlijk dat dieren in de andere bijlagen ten gevolge van de experimentele handelingen het humane eindpunt zullen bereiken.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. Om de onderwijsdoelstellingen van de verschillende opleidingen te bereiken wordt daar waar mogelijk gebruik gemaakt van *in vitro* experimenten en video-opnamen van dierproeven. Maar een aantal onderwijsdoelstellingen – die in de projectaanvraag nader zijn toegelicht – kunnen alleen bereikt worden met behulp van *ex vivo* en *in vivo* experimenten. Voorafgaand aan dergelijke practica zal men samen met de studenten stilstaan bij de (on)mogelijkheden van alternatieve methoden en de ethische afweging die gemaakt is met betrekking tot het gebruik van proefdieren voor het betreffende practicum. In het verleden

hebben studenten tijdens de eindevaluaties van de practica aangeven het zeer waardevol te vinden een dierexperiment te kunnen aanschouwen en uitvoeren. Uit deze evaluaties blijkt dat een grote meerderheid van de studenten het gebruik van proefdieren voor practica gerechtvaardigd vindt. Op verzoek van de DEC hebben de onderzoekers ervoor gekozen het uitvoeren van de Porsolt-zwemtest te laten vervallen en in plaats daarvan video-opnamen te tonen.

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. Experimenten uitgevoerd door studenten hoeven niet altijd significante resultaten op te leveren maar dienen er voor studenten bewust te maken van effecten van farmaca. Uitgangspunt bij de berekening van het aantal benodigde dieren is het aantal studenten dat deelneemt aan de practica, en niet het aantonen van significante verschillen tussen groepen. Hierdoor zijn beduidend minder dieren nodig dan wanneer uitgegaan was van een significant effect. Voor het uitvoeren van analyses wordt ook data uit eerder uitgevoerd practica gebruikt. In de organbad practica (bijlage 1 en 4) is voor darmmateriaal gekozen, omdat dit een grote opbrengst heeft en daardoor het aantal benodigde dieren kan worden beperkt. Daar waar mogelijk wordt gebruik gemaakt van surplusdieren.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De door studenten uit te voeren practica worden van tevoren uitgebreid besproken/toegelicht inclusief de ethische overwegingen. Binnen de opleiding is veel ervaring met de beschreven dierexperimenten en men heeft de practica in de loop der jaren kunnen optimaliseren. Daar waar mogelijk worden farmaca bijvoorbeeld opgelost in zoete gecondenseerde melk, zodat ze door de studenten oraal toegediend kunnen worden, waardoor orale gavage of injectie van het betreffende farmacon vermeden kan worden. Injecties worden uitgevoerd door of onder toezicht van ervaren analisten. De keuze voor het gebruik van alleen mannelijke of vrouwelijke ratten is daar waar van toepassing goed onderbouwd voor het betreffende practicum.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De DEC is van mening dat de onderwijsdoeleinden van dit project het voorgestelde gebruik van dieren rechtvaardigen. Voor de toekomstige onderzoekers/ apotheker is het van belang om kennis te hebben van de ethische aspecten van dierexperimenten en van de afwegingen die daarvoor gemaakt moeten worden. Het grootste deel van de studenten zal in de toekomst als onderzoeker of apotheker direct of indirect bij dierproeven betrokken zijn. Door binnen elke opleiding een cursus aan te bieden waarin proefdieren gebruikt worden kunnen studenten ongeacht hun studietraject een cursus volgen waarin zij te maken krijgen met proefdieren. Op deze manier

realiseren de studenten zich wat werken met proefdieren inhoudt, wat later van belang is in het werkveld als wetenschapper of apotheker. De ratten, muizen en cavia's in de practica ondervinden maximaal licht ongerief. Voorafgaand aan de aangevraagde practica zal een ethische discussie plaatsvinden met de studenten, dit wordt door de DEC van groot belang geacht voor de deelnemers om inzicht te verwerven in de ethische aspecten en de afwegingen die betrekking hebben op het werken met proefdieren. De mogelijkheden tot vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven zijn onderzocht en optimaal toegepast binnen de opzet van de practica. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het belang van de doelstellingen opweegt tegen het lichte ongerief dat de ratten, muizen en cavia's in dit project zullen ondervinden en dat het gebruik van de dieren ethisch aanvaardbaar is.

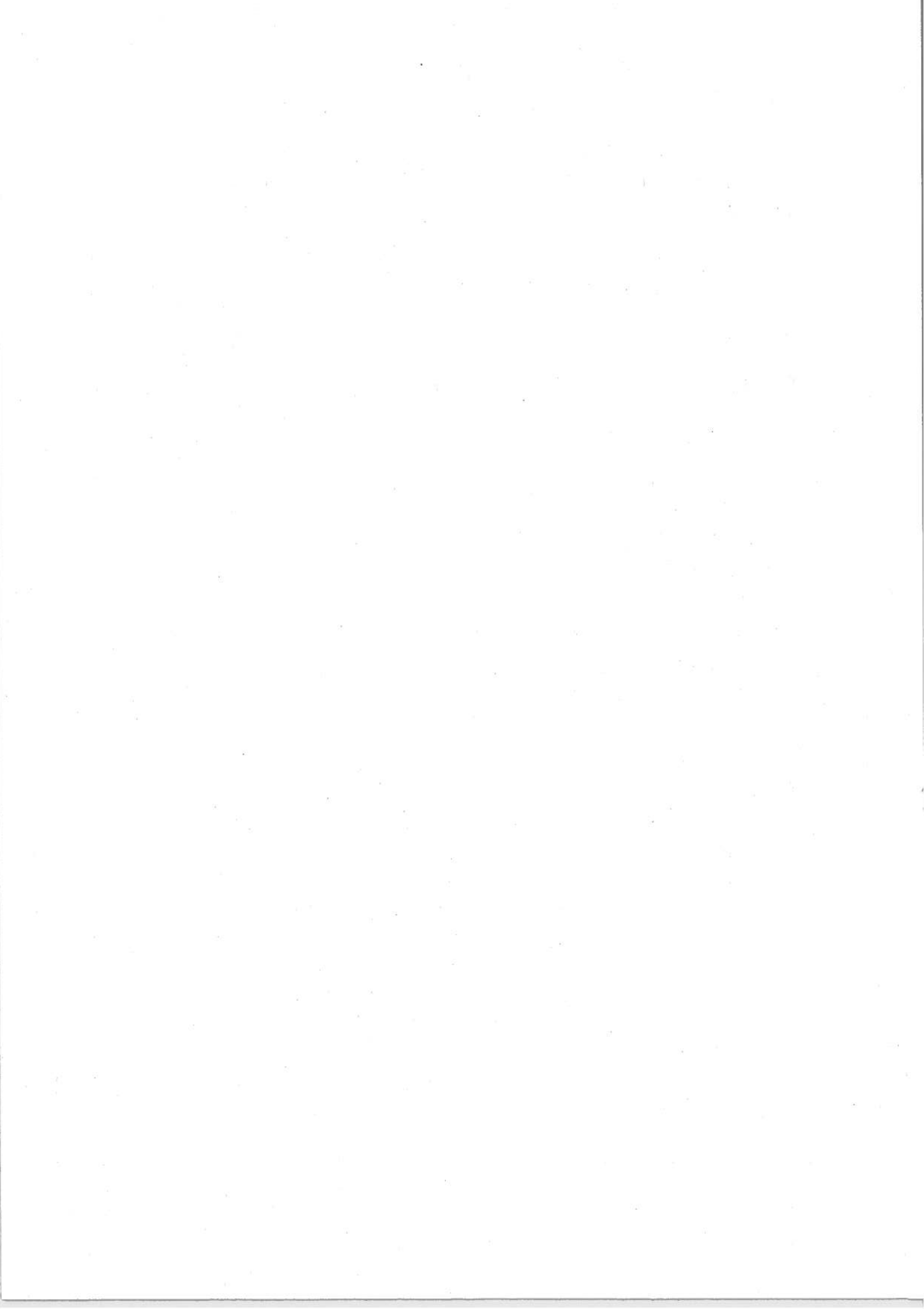
E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Dierexperimentencommissie Utrecht



ARD 118002016527



1.

26 MEI 2016

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 11800
		<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 Academic Medical Center Amsterdam
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde [Redacted]
		KvK-nummer 3 4 3 3 6 2 7 7 7
		Straat en huisnummer Meibergdreef 31
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>	Postbus
		Postcode en plaats 1105AZ Amsterdam
		IBAN NL68RABO0136166741
		Tenaamstelling van het rekeningnummer Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC
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
		Telefoonnummer 0 2 0 5 6 6 2 7 5 4
		E-mailadres [Redacted]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(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 | <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 | 0 1 . 0 5 . 2 0 1 6 |
| Einddatum | 0 1 . 0 5 . 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|-----------------|
| Naam DEC | DEC AMC |
| Postadres | Meibergdreef 31 |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 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
 Bijlage 1

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

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

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

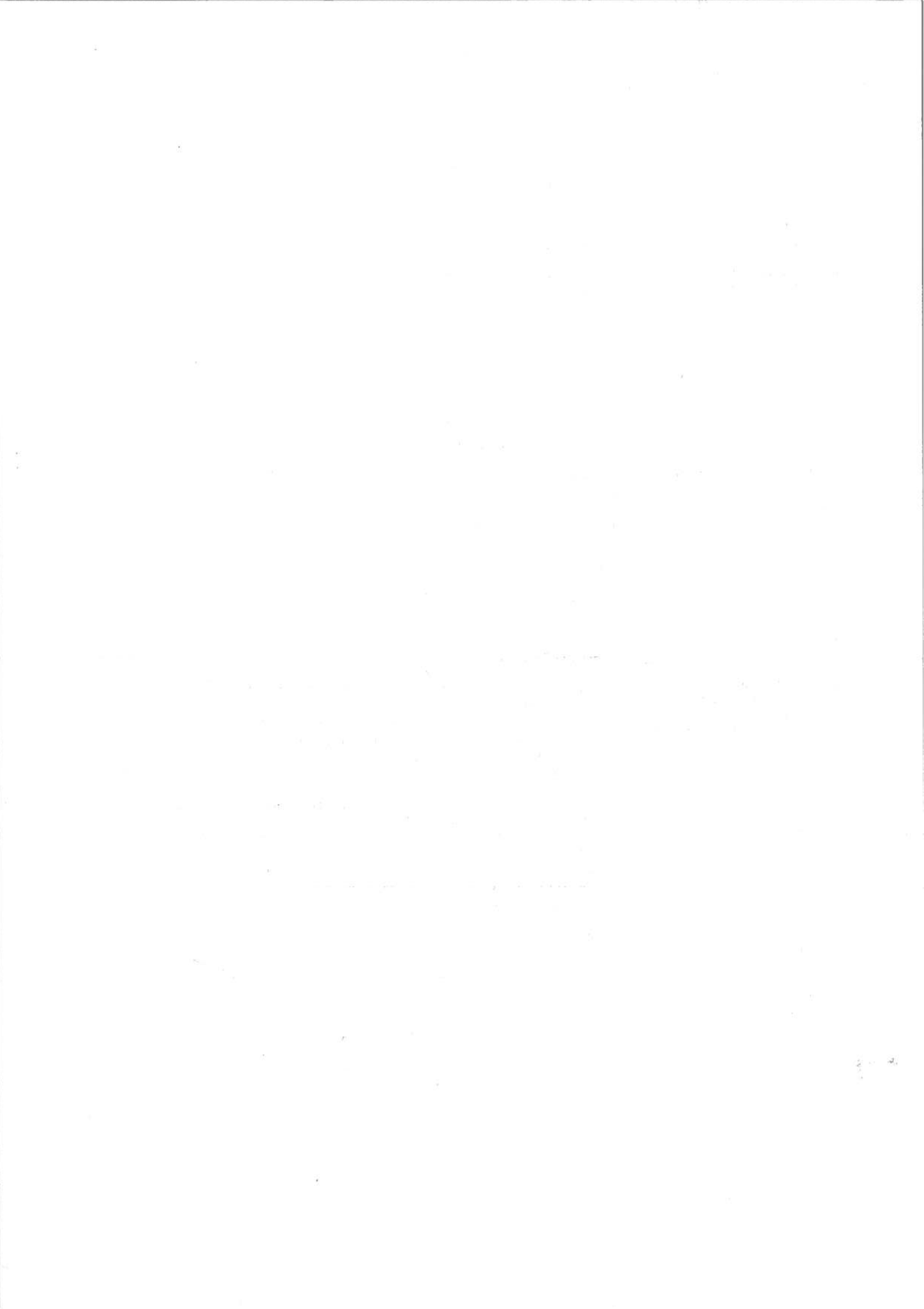
Naam [REDACTED]

Functie [REDACTED]

Plaats Amsterdam

Datum 26 - 04 - 2016

Handtekening [REDACTED]





Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | 11800 |
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. | AMC |
- 1.3 Vul de titel van het project in. | Negatieve effecten van vochtophoping tijdens acute longschade |

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.

Kritiek zieke patiënten met bijvoorbeeld een ernstige longontsteking, sepsis, trauma of aspiratie hebben

een hoog risico op het krijgen van acute longschade, ook wel acute respiratory distress syndrome (ARDS) genoemd. ARDS is een levensbedreigend ziektebeeld van de longen gekenmerkt door hevige ontsteking (inflammatie), schade aan de longblaasjes en ophoping van vocht in de longen (longoedeem), hetgeen een ernstige belemmering van de opname van zuurstof veroorzaakt. Patiënten met ARDS moeten daarom worden opgenomen op een intensive care voor kunstmatige beademing en extra zuurstof. De morbiditeit en mortaliteit van deze patiënten is zeer hoog. ARDS komt voor op zowel de volwassen- als de kinderleeftijd.

Vele studies hebben laten zien dat het toedienen van voldoende vocht (en daarmee voeding) aan kritiek zieke patiënten met ARDS op een intensive care van levensbelang is. In de praktijk blijkt echter dat dit een delicate balans is. Hoewel het geven van voldoende voeding en dus energie essentieel is houden deze patiënten ook makkelijk vocht in het lichaam vast ten gevolge van het ziekteproces. Hierbij treedt het vocht ook deels uit de bloedvaten en hoopt het zich op in bijvoorbeeld de buik, huid, nieren of longen. Dit proces wordt ook wel vochtophoping genoemd. Hierbij is de vochtbalans (hoeveelheid vocht dat het lichaam in gaat min de hoeveelheid vocht dat het lichaam uit gaat) positief. Gek genoeg treedt deze vochtophoping in het lichaam ook regelmatig op als er een normale of zelfs beperkte hoeveelheid vocht toegediend wordt.

De laatste tijd is duidelijk geworden dat vochtophoping in het lichaam van patiënten met ARDS van negatieve invloed is op de ziekte: ARDS patiënten met een positieve vochtbalans (en dus vochtophoping in het lichaam) hebben een langere opname duur en hogere kans op sterfte. Hierbij is ook daadwerkelijk (door middel van multivariabele analyses en gerandomiseerde prospectieve studies) aangetoond dat vochtophoping een oorzaak van deze slechtere ziekte-uitkomst is. Het is nog grotendeels onduidelijk *waarom* vochtophoping leidt tot een heviger of langer ziektebeeld bij patiënten met ARDS. Over het algemeen wordt aangenomen dat dit komt door toename van longoedeem, maar er zijn aanwijzingen dat dit toch niet de enige verklaring kan zijn. Het is goed mogelijk dat andere factoren (mechanismen), zoals toename van inflammatie, ten gevolge van de vochtophoping hierbij ook een rol spelen. Daarbij is ook nog niet opgehelderd of de effecten van vochtophoping leeftijdsafhankelijk zijn. Dit laatste is relevant want we weten dat er duidelijke verschillen bestaan tussen kinderen en volwassenen voor zowel de normale vocht balans/verhoudingen in het lichaam als het verloop van ARDS. Het is dus mogelijk dat de negatieve effecten van vochtophoping tijdens ARDS bij kinderen niet vergelijkbaar zijn met die bij volwassenen. Dit is belangrijk want in het bijzonder bij (kritiek zieke) kinderen is het geven van een adequate hoeveelheid vocht (en dus voeding) essentieel voor het herstel.

Het voorkomen van vochtophoping in het lichaam door het beperken van de vochttoediening en/of afdrijven van vocht met medicatie die de urineproductie verhogen (diuretica) lijken belangrijke middelen op de intensive care om het herstel van ARDS te bespoedigen. In de praktijk is dit met name bij kritiek zieke kinderen met ARDS een groot probleem, omdat ook voeding en medicatie doorgegeven moeten worden. Daarnaast blijkt het moeilijk om vocht te mobiliseren met diuretica. Precies *omdat* vochtophoping bij patiënten met ARDS dus zo moeilijk is te voorkomen en de consequenties daarvan verder lijken te gaan dan alleen het ontstaan van longoedeem is het belangrijk om inzicht te krijgen in de onderliggende oorzakelijke factoren (mechanismen) en leeftijdsafhankelijke verschillen hierin. Beter inzicht hierin kan namelijk leiden tot nieuwe strategieën om deze negatieve effecten te behandelen/verminderen. Experimenteel dieronderzoek kan hierbij een belangrijke bijdrage leveren.

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?

Recent is onze onderzoeksgroep in samenwerking met het onderzoeksnetwerk van de Nederlandse kinder intensive care afdelingen een groot onderzoek gestart naar vocht management bij kritieke zieke kinderen met ARDS. Dit onderzoek bestaat uit klinische studies bij patiënten (retrospectief en prospectief) en uit studies met proefdieren. De centrale vragen van dit grote klinische multicenter onderzoek zijn:

1. Hoe kunnen we ernstig zieke kinderen met ARDS die op de intensive care worden beademd zo weinig mogelijk vocht geven, maar toch genoeg voeding, om zo vochtophoping in het lichaam te voorkomen?
2. Hoe kunnen we de negatieve effecten van vochtophoping in het lichaam bij ernstig zieke kinderen met ARDS tijdens het ziekteproces zoveel mogelijk beperken? Dit is van belang omdat we weten dat ondanks beperkte vochttoediening bij deze kinderen nog steeds vochtophoping kan ontstaan.

Om deze vragen zo goed mogelijk te beantwoorden is meer inzicht in de biologische processen die gepaard gaan met vochtophoping en de leeftijdsverschillen die hierbij bestaan noodzakelijk. Deze vragen kunnen niet op directe wijze beantwoord worden in de studies met mensen. Daarom willen wij **dit proefdierexperiment** uitvoeren, met als **doel** om te onderzoeken:

1. wat de precieze biologische effecten (waaronder inflammatie, longoedeem, orgaanceldood/schade) van vochttoediening tijdens ARDS zijn, en
2. of er leeftijdsverschillen bestaan in deze biologische effecten in reactie op vochttoediening tijdens ARDS

Hypotheses:

Ad 1. vochttoediening tijdens ARDS leidt, naast verergering van longoedeem, tot meer inflammatie en orgaanschade.

Ad 2. De negatieve effecten van vochttoediening tijdens ARDS zijn minder uitgesproken op jonge (kinder) leeftijd in vergelijking tot oudere (volwassen) leeftijd.

Dit project zal gebruik maken van één dierproefmodel waarmee goede ervaring bestaat binnen onze groep, en is daarom zeer goed haalbaar.

3.3 Belang

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

ARDS is een van de meest belangrijke ziektebeelden op de intensive care. De incidentie van ARDS varieert van 20-80 per 100.000 volwassenen en van 2-15 per 100.000 kinderen, met helaas een hoge sterfte (20-45%). De directe morbiditeit, lange termijn effecten en maatschappelijke kosten van ARDS zijn tevens substantieel. De behandelmogelijkheden van ARDS patiënten zijn zeer beperkt. Tot op heden is alleen vooruitgang geboekt met een reductie van mortaliteit en morbiditeit door aanpassingen in de mate en vorm van kunstmatige beademing. Inzicht hierin is voortgekomen uit de krachtige combinatie van onderzoek bij mensen en dieren. Het wordt steeds duidelijker dat het vochtmanagement bij patiënten met ARDS een delicate balans is. Vochtophoping treedt makkelijk op en kan het ziektebeloop sterk negatief beïnvloeden. Echter, het gebrek aan kennis over de mechanismen van deze negatieve effecten van vochttophoping maken dat we nog niet precies weten hoe, wanneer en bij welke patiënten (bijvoorbeeld volwassenen en/of kinderen) we het vocht management kunnen verbeteren om zo tot een betere uitkomst van ARDS te komen. Dit project draagt bij aan meer wetenschappelijke kennis over het maatschappelijk belangrijke ziekteproces van ARDS.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Om de mechanismen en leeftijdsafhankelijke verschillen van de negatieve effecten van vochttoediening tijdens ARDS te kunnen onderzoeken zullen wij een ratten diermodel voor ARDS gebruiken. In dit model wordt ARDS veroorzaakt door een longontsteking, als gevolg van toediening van een bacteriebestanddeel (LPS).

Rat LPS ARDS model: dit is een van de meest gangbare ARDS modellen. Een belangrijk voordeel van dit model is dat wij de ratten kunstmatig kunnen beademen. Hoewel levensreddend bij patiënten met ARDS, draagt kunstmatige beademing ook in belangrijke mate bij aan zowel longschade als vochttophoping. Dit verhoogt daardoor de relevantie van deze dierproef als model voor ARDS bij mensen des te meer.

Om onze vragen met betrekking tot de negatieve effecten van vochttophoping te beantwoorden zullen we tijdens het ziekteproces in dit model verschillende hoeveelheden vocht geven. Daarnaast zullen we in beide modellen twee verschillende leeftijden van de dieren gebruiken om leeftijdsafhankelijke verschillen te kunnen onderzoeken.

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

Het onderzoek zal worden uitgevoerd in de volgende stappen:

Proef 1. ARDS model opbouwen met twee verschillende leeftijdscategorieën (jonge en volwassen dieren)

Proef 2. ARDS model met de twee leeftijdscategorieën uit fase 1 verdeeld in twee groepen met verschillende vochttoediening regimes (restrictieve vochttoediening en liberale vochttoediening)

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.

In het ARDS model zullen in proef 1 eerst normaal waardes van bloeddruk tijdens beademing en een minimaal haalbaar restrictieve hoeveelheid vocht bepaald worden (zie bijlage 1). Hierna zal proef 2 uitgevoerd worden met de twee verschillende vochttoediening regimes (met bijbehorende controle groepen).

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Rat LPS ARDS model
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.centralecommissiedierproeven.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="Rat LPS ARDS model"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Om de leeftijdsafhankelijke [negatieve gevolgen](#) van [vochtophoping](#) tijdens acute respiratory distress syndrome (ARDS) te kunnen onderzoeken zullen wij het LPS ARDS model in ratten [gebruiken](#).

Ziekte model

Het LPS ARDS model is het meest gebruikte proefdiermodel voor ARDS bij mensen. Dit experimentele model wordt zowel bij muizen als ratten gebruikt om een bacteriële oorzaak (longontsteking of sepsis) van ARDS nader te onderzoeken. Wij zullen ratten gebruiken in onze dierproeven omdat we kunstmatige beademing aan het model willen toevoegen. Dit is technisch makkelijker uitvoerbaar dan bij muizen. Daarnaast heeft onze onderzoeksgroep veel ervaring met ratten en kunstmatige beademing (bijv [J Pathol. 2011 Dec;225\(4\):618-27](#)). Door het toevoegen van enkele uren kunstmatige beademing aan ratten met LPS geïnduceerde ARDS wordt deze dierproef nog relevanter voor mensen met ARDS, omdat kunstmatige beademing tot nu toe de enige behandeling is bij deze groep patiënten. Uit onderzoek bij mensen en dieren is gebleken dat kunstmatige beademing, hoewel levensreddend, ook schadelijke bijeffecten kan hebben voor de longen, met name als de longen al 'ziek' zijn door bijvoorbeeld een (beginnende) longontsteking. Daarnaast leidt kunstmatige beademing en het daarmee samenhangend toedienen van slaapmiddel/spierverslapping, zeker bij patiënten die ten gevolge van ARDS kritiek ziek zijn, makkelijker tot het vasthouden van vocht in het lichaam, de [vochtophoping](#), waarop ons onderzoeksproject is gericht. Kortom, dit proefdiermodel is bij uitstek geschikt voor onze onderzoeksvraag.

Leeftijd

We weten dat er grote verschillen bestaan tussen kinderen en volwassenen in zowel de normale vocht huishouding in het lichaam als in het verloop van ARDS. Leeftijdsafhankelijke verschillen in de vochtbalans komen mogelijk door verschillen in fysiologische processen (lichaams-/organoppervlak en inhoud,

stofwisseling, hormonale effecten, bloeddruk/hartslag etc). Verschillen in het beloop van ARDS komen waarschijnlijk doordat kinderen zich nog ontwikkelende longen en immuunsysteem hebben, waardoor zij anders reageren op bijvoorbeeld een longontsteking in vergelijking met volwassenen. Tot op heden is het echter onduidelijk of er ook leeftijdsafhankelijke verschillen in de negatieve effecten van [vochttophopping](#) bestaan. Het is van belang dit te weten omdat dit belangrijke implicaties kan hebben voor de vochtbehandeling die we aan een kind met ARDS en beademing moeten geven. Om dit te kunnen onderzoeken zullen wij bij de dierproeven twee leeftijdscategorieën onderzoeken:

- 1) ratten van 2-3 weken (juvenile) als model voor jonge kinderen/zuigelingen, en
- 2) ratten van 12-14 weken als model voor volwassenen.

Vochttoediening

Om onze vragen met betrekking tot de negatieve effecten van vocht te kunnen beantwoorden zullen we de ratten in het LPS ARDS model met kunstmatige beademing tijdens het ziekteproces een verschillende hoeveelheid van vocht intraveneus toedienen. Er zullen twee experimentele groepen zijn: 1) een groep die een restrictieve hoeveelheid vocht krijgt en 2) een groep die een liberale hoeveelheid vocht krijgt. Daarnaast zal er een extra controle groep zijn die niet geïnfecteerd wordt met LPS en wordt behandeld met de liberale hoeveelheid vocht. Hiervoor is gekozen om tevens te kijken naar de combinatie van liberaal vocht en kunstmatige beademing, welke zoals hiervoor beschreven ook al schadelijke bijeffecten kan hebben voor de longen. Voor een liberale hoeveelheid vocht gaan wij uit van een normale vochtintake in ml per kg per dag gebaseerd op de huidige literatuur: [maximaal 150ml/kg/dag \(omgerekend naar aantal uur van beademing is dit ~40ml/kg per 6 uur\)](#) ([The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals: R. Hubrecht and J. Kirkwood, 2010 ISBN: 978-1-405-17523-4](#)). De hoeveelheid vocht in de restrictieve groep zullen wij bepalen in fase 1 en is afhankelijk van de minimale gemiddelde bloeddruk tijdens de kunstmatige beademing (pilot proef, zie verder). Onze verwachting is dat de groep met liberale hoeveelheid vochttoediening negatieve effecten van [vochttophopping](#) zal gaan laten zien. We vergelijken deze groep met de restrictieve vocht groep met LPS en de bovengenoemde controle groep (liberaal vocht zonder LPS).

De *primaire uitkomstmaten* van ons project zijn:

- 1) Ratio nat-droog longgewicht als maat voor longoedeem
- 2) Pro-inflammatoire cytokine concentraties in bloed en longen als maat voor inflammatie

Deze uitkomsten worden uiteraard uitgebreid met verschillende metingen voor klinische parameters (bloedgasanalyse voor oxygenatie/ventilatiestoornis, bloeddruk), orgaanschade (longen, lever en nieren: histologie, permeabiliteit, celdood) en leukocyten infiltratie.

[Het project is opgebouwd uit de volgende proeven \(zie ook projectvoorstel voor algemene onderbouwing\):](#)

Proef 1. Pilot en opbouw

- [A. Normale bloeddruk: juvenile en volwassen ratten worden kunstmatig beademd waarbij bloeddrukmeting zal plaatsvinden voor het verzamelen van de normale leeftijdsafhankelijke bloeddruk waardes tijdens kunstmatige beademing \(dit is niet bekend uit de literatuur\).](#)
- [B. Bepalen restrictieve vocht hoeveelheid: juvenile en volwassen ratten krijgen LPS toegediend waarna ze kunstmatig zullen worden beademd. Als gevolg van de LPS ARDS ziekte zal de bloeddruk mogelijk lager zijn dan in de dieren zonder LPS toediening \(pilot A\). Met de normale bloeddruk uit pilot A als uitgangspunt kan nu een minimale hoeveelheid vocht \(restrictieve vocht beleid\) worden gedefinieerd. Er zal dus worden bepaald \(dmv titratie\) hoeveel vocht toegediend moet worden om de normale bloeddruk zoals gemeten in pilot A te bereiken.](#)

Proef 2. Experimentele vocht proef

Juvenile en volwassen ratten met LPS ARDS worden kunstmatig beademd waarbij de dieren ofwel een restrictieve dan wel een liberale hoeveelheid vocht toegediend krijgen. Een [extra](#) controle groep (voor beide leeftijden, [géén](#) LPS ARDS) zal de liberale hoeveelheid vocht toegediend krijgen gedurende kunstmatige beademing. [In het totaal zijn er dus 6 groepen dieren.](#)

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.

Afhankelijk van de verschillende fasen zoals hierboven beschreven zullen de behandelingen van de dieren in deze proef zijn:

- 1) Intratracheale toediening van LPS onder inhalatie anesthesie. Duur van handeling is enkele minuten. Eenmalige toediening per dier. Longziekte door LPS zal maximaal 30 uur zijn, [waarvan de laatste 6 uur onder anesthesie tijdens beademing](#).
- 2) Kunstmatige beademing [op tijdstip 24 uur na toediening van LPS](#) met een mechanische ventilator via tracheotomie onder injectie anesthesie. Duur van deze eenmalige beademings [periode](#) is maximaal 6 uur.
- 3) Canulatie van staartvene en arteria carotis communis tijdens de (maximaal 6 uur durende) periode van kunstmatige beademing onder injectie anesthesie. Duur van handeling is enkele minuten. Via de staartvene zal continue anesthesie medicatie, eventueel vasoactieve medicatie (noradrenaline), en vocht kunnen worden toegediend. Via de arteriële catheter zal bloed worden afgenomen voor bloedgasanalyse en continue bloeddrukmeting kunnen plaatsvinden.
- 4) Offeren van de dieren middels intra-arteriële toediening [via de canule in de a. carotis communis](#) van een overdosis pentobarbital.

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

Door de resultaten van eerdere dierproeven met het rat LPS ARDS model binnen onze onderzoeksgroep te gebruiken, [kunnen wij dit onderzoek richten op slechts twee](#) leeftijdscategorieën. [Dit betekent een besparing van het aantal proefdieren](#). Daarnaast kunnen wij door onze al opgedane kennis met de LPS dosering en duur van kunstmatige beademing ook het aantal dieren in de pilot proef beperken. Aan de hand van een sample size analyse met primaire [uitleesparameter de verhouding tussen nat en droog longgewicht denken](#) wij 12 ratten per groep nodig te hebben voor de experimentele vocht proef. Dit is berekend uitgaande van een α van 0.05 en power (β) van 0.8 om een $\sim 15\%$ [effect verandering \(mean 5 versus mean 5.7\)](#) in ratio nat-droog longgewicht te kunnen aantonen bij een standaard deviatie van 0.6. Deze sample size analyse zullen wij [echter wel](#) nog herhalen aan de hand van verkregen gemiddelden en standaard deviatie uit de pilot proef. [De herberekening van de sample size is met name van belang omdat de variabiliteit \(standaard deviatie van 0.6\) gebaseerd is op proeven met alleen mannelijke ratten. In onze pilot proeven zullen wij zowel mannelijk als vrouwelijke ratten gebruiken \(zie B hieronder\). Het kan zijn dat de variabiliteit hierdoor wordt verhoogd: wij verwachten met maximaal 25%, dus een standaard deviatie van 0.75. In de sample size berekening komt dit dan uit op maximaal 19 dieren per groep. Dit aantal dieren is gebruikt in onze verdere berekening bij B \(zie hieronder\), dus uitgaande van een 'worst-case-scenario'.](#)

B. De dieren

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

Rat; Rcchan Wistar afkomstig van commerciële fok.

Wij zullen ratten gebruiken in onze dierproeven omdat we ook kunstmatige beademing aan het model willen toevoegen. Bij ratten is dit technisch makkelijker en is betere monitoring mogelijk in vergelijking met muizen. Internationaal wordt het meest gebruik gemaakt van mannelijke ratten bij ARDS onderzoek. In onze voorgaande experimenten, waar onze opzet van het model in grote mate op berust, werd ook gebruikt gemaakt van mannelijke ratten. [Om de relevantie voor mensen met ARDS \(zowel vrouwen als mannen\) in dit project verder te verhogen, kiezen wij ervoor om zowel mannelijke als vrouwelijke ratten te bestuderen. Het is echter wel mogelijk dat hierdoor de variabiliteit en dus aantal benodigde dieren iets hoger ligt. Zie hierboven bij A voor sample size berekening \(in twee stappen uitgevoerd\). Door gebruik te maken van beide geslachten zal er geen overschot van ofwel mannelijke ofwel vrouwelijke dieren ontstaan.](#)

Om leeftijdsafhankelijke verschillen in de negatieve effecten van [vochtophoping](#) te kunnen onderzoeken zullen wij bij de dierproeven twee leeftijdscategorieën onderzoeken:

- 1) ratten van 2-3 weken (juvenile) als model voor jonge kinderen/zuigelingen, en
- 2) ratten van 12-14 weken als model voor volwassenen.

De longontwikkeling, hormonale huishouding, vochthomeostase en het immuun systeem zijn zeer verschillend op deze leeftijden, en kunnen allen dus van invloed zijn op onze bevindingen.

NB. De juveniele rattenpups zijn nog niet gespeend en zullen met een moeder gehuisvest worden tot op het moment van start met kunstmatige beademing. Het is mogelijk rattenpups te bestellen van één geslacht (met surrogaat moeder). Pups van het andere geslacht zullen dan herverdeeld worden onder andere zogende vrouwelijke ratten.

Geschatte aantallen:

Proef 1 (pilot): 40 dieren (A: 2 groepen met 10 dieren/groep; B: 2 groepen met 10 dieren/groep). Deze aantallen zijn nodig voor de opbouw van het model met verkrijgen van de benodigde normaal waarden voor bloeddruk, het restrictieve vochtbeleid met standaard verdeling voor nieuwe sample size berekening (zie boven)

Proef 2: 114 dieren (6 groepen met 19 dieren per groep), uitgaande van bovenstaande 'worst-case scenario' sample size berekening. NB. mocht de variabiliteit in pilot proef 1 minder zijn (conform onze eerdere proeven bij alleen mannelijke ratten), dan verwachten wij 12 dieren per groep = 72 dieren in het totaal nodig te hebben.

Totaal: 154 dieren + 10% eventuele uitval door instrumentatie = 169 dieren.

Aantal moeders waarmee juveniele rat pups gehuisvest worden uitgaande van gemiddelde nestgrootte en experiment opzet: maximaal 21.

NB. Deze dieren ondergaan geen experimentele handelingen en zullen gebruikt worden voor onderwijsdoeleinden (nog lopende goedgekeurde DEC protocollen).

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Omdat het hierbij gaat om complexe interacties tussen verschillende organen, zoals de longen, het hart/bloedsomloop en de nieren, het immuunsysteem en pathogenen is het niet mogelijk om zulke mechanismen in een in vitro onderzoek te bestuderen. Tevens is het door gebrek aan mogelijkheden voor controle van de vele variabelen in dit onderzoek niet mogelijk om zulke mechanismen op een directe wijze in mensen te onderzoeken.

Verfijning: We hebben een opzet gekozen waarbij het ongerief voor de dieren zoveel mogelijk wordt beperkt door zorgvuldige keuze van de dosis LPS en gebruik van continue anesthesie tijdens de handelingen en de periode van kunstmatige beademing.

Vermindering: Door de resultaten van eerdere dierproeven met dit model binnen onze onderzoeksgroep te gebruiken, hebben wij het aantal leeftijdscategorieën, en dus aantal benodigde dieren, kunnen beperken tot 2 groepen. Daarnaast kunnen wij door onze al opgedane kennis met de LPS dosering en duur van kunstmatige beademing ook het aantal dieren in de pilot proef beperken. De sample size analyse zullen wij nogmaals verrichten aan de hand van verkregen gemiddelden en standaard deviatie uit de pilot proef (proef 1). Hierdoor zal in ons project het aantal benodigde dieren beperkt worden.

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 zullen tijdens de kunstmatige beademing onder diepe anesthesie zijn, waardoor zij geen pijn of stressprikkelers zullen ervaren. De gekozen dosering van LPS, en dus de mate van ziek zijn/ongerief door longontsteking, is relatief laag. Dit is bewust gekozen omdat enerzijds de dieren niet te ziek moeten zijn voor het succesvol afronden van enkele uren van kunstmatige beademing, en anderzijds omdat onze belangrijkste variabele, de hoeveelheid vocht dat toegediend wordt, nog aantoonbare effecten op ziekte verschijnselen moet kunnen hebben. Dit is belangrijk voor het proof of principle van de wetenschappelijke vraag. Ongerief registratie vindt uiteraard nauwlettend plaats.

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.

Op basis van een uitgebreide literatuursearch in Pubmed en Embase is nagegaan of eerder al dergelijke experimenten zijn uitgevoerd. Naar ons beste weten is dit niet gebeurd.

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 > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Tracheotomie en canulatie van de staartvene en arteria carotis communis zijn handelingen die pijn veroorzaken. Deze handelingen zullen echter onder diepe injectie anesthesie ([initieel intraperitoneaal en na verkrijgen van intraveneuze toegang intraveneus](#)) en pijnstillende medicatie gedaan worden zodat hierbij geen ongerief verwacht wordt. De diepte van de anesthesie gedurende de kunstmatige beademing wordt gecheckt met een pijnreflex en monitoring van bloeddruk en hartfrequentie.

NB. Van de LPS longontsteking en kunstmatige beademing wordt wel ongerief verwacht maar dit zijn geen pijnprikkels, en vereisen derhalve geen specifieke pijnbestrijding. Wel zal de kunstmatige beademing onder diepe anesthesie plaatsvinden.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De dieren zullen ongerief hebben van de LPS longontsteking. Hierbij zullen zij benauwdheid ervaren en malaise hebben, mogelijk bestaande uit verminderde eetlust, verminderde activiteit en vachtverzorging. [Dit zal maximaal 24 uur duren, tot de start van beademing onder anesthesie.](#)

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Longontsteking kan koorts en benauwdheid veroorzaken

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

De gekozen dosering van LPS, en dus de mate van ziek zijn/ongerief door longontsteking, is relatief laag. Dit is bewust gekozen omdat enerzijds de dieren niet te ziek moeten zijn voor het succesvol afronden van enkele uren van kunstmatige beademing, en anderzijds omdat onze belangrijkste variabele, de hoeveelheid vocht die toegediend wordt, nog aantoonbare effecten op ziekteverschijnselen moet kunnen hebben. Dit is belangrijk voor het proof of principle van de wetenschappelijke vraag. [De diepte van de anesthesie tijdens beademing zal elke 30 minuten worden gecontroleerd.](#) Gedurende de hele periode van kunstmatige beademing wordt anesthesie gegeven waardoor de dieren geen stress of ongerief zullen ervaren hiervan.

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.

Er zal een ongerief logboek bijgehouden worden die voorziet in een algemene ongerief score voor ratten:

	Score
Uiterlijke kenmerken	
Normaal	1
Verminderde verzorging	2
Piloerectie, afscheiding neus/ogen	3
Vuile, slecht verzorgde vacht	4
Klinische tekenen	
Voedsel en waterinname normaal	0
Tachypneu	1
Irregulaire ademhaling	2
Moeizame ademhaling	3
Cyanose	4
Respons op handeling	
Normaal	0
Licht verminderde of verhoogde respons	1

Verminderde of verhoogde respons	2
Sterk verminderde of verhoogde respons	4

Het humane eindpunt waarbij een dier wordt geofferd [ligt bij score 6 of hoger. Gewichtsverlies is bewust niet opgenomen in de score omdat niet wordt verwacht dat het gewicht veel afneemt in een periode van maximaal 24 uur.](#) Gezien de relatief lage dosering LPS en korte duur van de proef (maximaal 24 uur longontsteking, daarna start diepe anesthesie met kunstmatige beademing voor maximaal 6 uur) verwachten wij in onze proef geen score hoger dan [5](#). Bij een score [van 5](#) zal het dier vaker beoordeeld worden ([viermaal](#) daags [ipv tweemaal daags](#)). Gedurende de periode van kunstmatige beademing wordt regelmatig de pijnreflex beoordeeld om de diepte van anesthesie in te schatten en bij onvoldoende diepte zal hierop worden geanticipeerd [door ophoging van anesthesie dosis onderhoud](#). Tevens wordt de lichaamstemperatuur bijgestuurd m.b.v een warmtemat.

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

We verwachten dat 0% van de dieren het humane eindpunt zal behalen.

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 mate van ongerief in dit project wordt voor het belangrijkste deel veroorzaakt door LPS toediening en de daaropvolgende longontsteking. Dit ongerief is voornamelijk licht en kortdurend matig gezien de beoogde lage dosering van LPS en wordt maximaal 24 uur ervaren, waarna kunstmatige beademing onder diepe anesthesie start.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

Om de (primaire) uitkomsten in de longen te kunnen meten is het offeren van de dieren noodzakelijk.

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 DEC-advies (02 december 2015)

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van het Ethisch Toetsingskader en de bijbehorende toelichting waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht.

A. Algemene gegevens over de procedure

- 1) Aanvraagnummer
- 2) Titel van het project: [Negatieve effecten van vochtophoping tijdens acute longschade](#)
- 3) Titel van de NTS [Gevaarlijke vochtophoping door schade in longen](#)
- 4) Type aanvraag: [nieuwe aanvraag projectvergunning](#)
- 5) Contactgegevens DEC:

naam DEC	DEC-AMC
telefoonnummer contactpersoon	██████████
e-mailadres contactpersoon	██████████
- 6) Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

ontvangen door DEC	
aanvraag compleet	
in vergadering besproken	07-04-2016
anderszins behandeld	
termijnonderbreking(en) van / tot	
besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen	
aanpassing aanvraag	
advies aan CCD	26-04-2016
- 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 wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag	
- 8) Correspondentie met de aanvrager

Datum	
Strekking van de vraag / vragen	
Datum antwoord	
Strekking van het (de) antwoord(en)	
De antwoorden hebben wel/niet 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	
- 10) Advies van IvD

Datum advies IvD	
Strekking advies IvD	

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.
> Ja
Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag / een melding / een wijziging op een bestaande vergunning.
> nieuwe aanvraag
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?
> Ja
4. Zijn DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies?
> Nee

C. Beoordeling (inhoud):

1. Overleg de argumenten waarom het een toetsbare eenheid is'. Geef hierbij ook aan of 1) de aanvraag als programma of project getypeerd wordt (Een programma omvat meerdere projecten en heeft een hoger gelegen doel, terwijl een project een concrete onderzoeksvraag heeft met in principe één concrete doelstelling en een helder geformuleerd resultaat), 2) het project coherent is, waarbij alle dierexperimenten logisch samenhangen en nodig zijn om het beoogde concrete resultaat te bereiken en 3) alle stappen in het project voldoende zijn uitgewerkt en geen onzekerheden bevatten, die voor de ethische toetsing relevant zouden kunnen zijn.
Dit project is erop gericht om de negatieve effecten van vochttoediening tijdens acute longschade te onderzoeken. Er wordt gebruik gemaakt van één rattenmodel voor acute longschade wat opgewekt wordt door toediening van de bacteriële celwand component LPS. De onderzoeksgroep heeft uitgebreide ervaring met dit model. In dit experiment zal onderzocht worden of er leeftijdsverschillen zijn in de biologische parameters (waaronder inflammatie, longoedeem, orgaanceldood/schade) na vochttoediening bij acute longschade. Alle stappen zijn goed uitgewerkt, waaronder het gebruikte model, de leeftijd van de dieren, de gebruikte volumes voor vochttoediening, en de duur van de gehele proef, en bevat geen onzekerheden die relevant zouden zijn voor de ethische toetsing. Hierdoor voldoet de aanvraag aan de voorwaarden voor een toetsbare eenheid.
2. Zijn er aspecten in deze aanvraag die niet in overeenstemming zijn met wet en regelgeving anders dan de Wod, zoals bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren? Indien van toepassing, leg uit waarom.
> Nee
3. Is/zijn de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en)?
> Ja

Belangen en waarden

4. Wat is het motiverende doel van het project? (Zie ETK, Doeleinden project pag. 2).
> De hoofddoelstelling is antwoorden te vinden op de volgende vragen (onderdeel van een groot klinisch multicenter onderzoek):
 1. Hoe kan aan ernstig zieke kinderen met ARDS (acute respiratory distress syndrome) die op de intensive care worden beademd, zo weinig mogelijk vocht worden geven, maar toch genoeg voeding, om zo vochtophoping in het lichaam te voorkomen?
 2. Hoe kunnen de negatieve effecten van vochtophoping in het lichaam bij ernstig zieke kinderen met ARDS zoveel mogelijk worden beperkt? Dit is van belang omdat ondanks beperkte vochttoediening bij deze kinderen nog steeds vochtophoping kan ontstaan.

Deze doelstelling vereist inzicht in de biologische processen die optreden tijdens vochtophoping tijdens acute longschade. Hiervoor zal een rattenmodel gebruikt worden waarin biologische parameters onderzocht zullen worden na vochttoediening tijdens acute longschade (waaronder inflammatie, longoedeem, longschade) in jonge ratten ten opzichte van volwassen ratten.
Dit kan op termijn leiden tot vermindering van de negatieve effecten van vochtophoping bij ernstig zieke kinderen met ARDS die beademd moeten worden.

5. Wat is het effect van het onderzoek op het welzijn van mens, dier en omgeving en wetenschappelijke kennis (zie tabel 1 van het ETK)?
> Dit onderzoek zal inzicht verkrijgen in de schadelijke effecten van vochtophoping tijdens ARDS. Deze inzichten kunnen op termijn gebruikt worden om de vochtbehandeling van ARDS patiënten te optimaliseren om deze negatieve effecten te minimaliseren. Daarnaast levert dit onderzoek een bijdrage aan de wetenschappelijke kennis over de onderliggende ziekteprocessen bij vochtophoping tijdens ARDS. Welzijn van dier en omgeving staan niet in het focus van dit onderzoek.
6. Worden de belangen van dieren, consumenten, burgers en omgeving (in termen van waarden) voldoende beschreven of zijn er overige belangen die voor de toetsing relevant zijn (zie tabel 2 van het ETK)? Specificeer de belangrijkste belanghebbenden (kwalitatief en kwantitatief).
> De belangen van ARDS patiënten zijn duidelijk omschreven in het doel van dit onderzoek. ARDS kent weliswaar geen zeer hoge incidentie (1 op 10.000 kinderen en 5 op 10.000 volwassenen) maar hoge mortaliteit (20-45%). Vochtophoping lijkt de cruciale factor voor het negatieve verloop, maar de mechanismen die daaraan ten grondslag liggen zijn nog onbekend. Deze studie beoogt een licht te werpen op deze mechanismen, om daarmee een geïndividualiseerde vochtbehandeling tijdens ARDS mogelijk te maken. Ook de bijdrage die dit fundamenteel onderzoek zal leveren aan meer kennis over de onderliggende ziekteprocessen bij vochtophoping tijdens ARDS, wordt door de DEC als belangrijk bestempeld. Aan belangen van individuele onderzoekers wordt geen aandacht besteed. Deze belangen worden door de DEC ook niet significant geacht voor de ethische afweging. Wel worden maatschappelijke belangen in brede zin aangeduid door te verwijzen naar de substantiële kosten die ARDS voor de samenleving met zich meebrengt.
7. Benoem de waarden die in het geding zijn voor de belangrijkste belanghebbenden.
> Voor de mens gaat het hier om de waarde van minder complicaties ten gevolge van de vochtbehandeling tijdens ARDS. Het belang van de ratten is om in zo gering mogelijke aantallen en met zo min mogelijk ongerief te worden gebruikt in dit onderzoek.
8. Is er sprake van belangwekkende milieueffecten? Zo ja, leg uit waarom.
> bij dit onderzoek worden geen milieubelastende methoden en technieken toegepast. Ook zullen de resultaten geen kennis opleveren die verband kan houden met milieuaspecten.

Proefopzet en haalbaarheid

9. Is het project goed opgezet? Leg uit waarom wel/niet.
> Het project is logisch en stapsgewijs gestructureerd, waarbij eerst een pilot studie wordt gedaan om de restrictieve vochttoediening (om de door ARDS verlaagde bloeddruk te normaliseren) te bepalen in jonge en volwassen ratten. Daarna wordt de experimentele vochtproef uitgevoerd met jonge en volwassen ratten met ARDS die restrictief vocht krijgen of een liberale hoeveelheid vocht. Deze laatste gebaseerd op de normale dagelijkse vochtinname van ratten, maar veel hoger dan het restrictieve volume. Er wordt een controle groep meegenomen in beide leeftijdscategorieën met hetzelfde vochtbeleid maar zonder ARDS. De proef beschikt daarom over de juiste controles.
De DEC vraagt zich wel af of het in alle gevallen mogelijk zal zijn om het vochtvolume dat aan de dieren in de restrictieve groep zal worden toegediend, te bepalen op de aangegeven wijze, namelijk door in dieren met ARDS die ten gevolge van ARDS "mogelijk een lagere bloeddruk hebben dan dieren zonder ARDS" deze bloeddruk weer op peil te brengen door het titreren van vocht. Het getitreerde volume wordt dan het vochtvolume dat zal worden toegediend aan de dieren van de restrictieve groep. De DEC meent dat het aan de IvD is om de resultaten van de eerste pilotexperimenten nauwkeurig te volgen, en erop toe te zien dat het restrictieve vochtvolume veel kleiner wordt gekozen dan het liberale volume, desnoods geheel onafhankelijk van de pilotexperimenten, waarvan het resterende deel dan overbodig zou worden.
10. Zijn kennis en kunde van onderzoekers en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd? Licht toe waar dit uit blijkt?
> De IvD zal erop toezien dat alle personen die bij dit onderzoek betrokken zullen zijn, zowel de analisten en onderzoekers die de experimenten gaan uitvoeren, als de onderzoekers die het project hebben vormgegeven en opgeschreven, voldoen aan de wettelijke eisen van deskundigheid en kennis.
11. Kan de gekozen strategie en experimentele aanpak leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project (*Zie ETK, Haalbaarheid pag. 4*)? Leg uit waarom wel/niet.
> De hoofddoelstelling (inzicht krijgen in de negatieve effecten van vochtophoping tijdens ARDS op de longen) kan behaald worden met deze rattenproeven, vooropgesteld dat de experimenten naar verwachting zullen verlopen. De belangrijkste uitleesparameters zullen immers een beeld geven van de mate waarin vochtophoping (of verhoogde vochttoediening) negatieve effecten hebben op het verloop van de ARDS. Strategie en experimentele aanpak zijn geschikt om het beoogde hoofddoel te bereiken. De onzekerheid bestaat of de vochttoediening wel zal leiden tot een verergering van de ARDS. Deze uitkomst is echter ook zeer waardevol, gezien de onzekerheid of vochttoediening gelimiteerd zou moeten worden of juist niet.

Welzijn dieren

13. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Geef aan of en waarom de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk onderbouwd is.
> Er is geen sprake van bijzondere dieren of omstandigheden
14. Is de kwaliteit van de huisvesting en verzorging volgens bijlage III van de richtlijn? Wordt de kwaliteit van de huisvesting en verzorging, indien afwijkend van bijlage III, voldoende geborgd? Leg uit waarom wel/niet.
> Volgens bijlage III
15. Is het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch ingeschat en geclassificeerd? Leg uit waarom wel/niet.
> Ongeriefinschatting is in overleg met de IvD tot stand gekomen, met gebruikmaking van de Toelichting Codering Ongerief
16. Is er sprake van integriteitsaantasting? Leg uit waarom wel/niet (Zie ETK, Waarden, pag. 4).
> De integriteit van de ratten in deze proef wordt aangetast door het induceren van ARDS. Hierdoor hebben de dieren ongerief gedurende maximaal 24 uur, wat het normale functioneren zal beïnvloeden. Daarna worden de ratten onder verdoving nog 6 uur beademd, en wordt het vocht toegediend. Hierna worden de dieren opgeofferd.

3V's

17. Heeft de aanvrager een overzicht gegeven van alle potentiële vervangingsalternatieven en heeft de aanvrager daar een gemotiveerde keuze in gemaakt? Onderschrijft de DEC deze keuze? Leg uit waarom wel/niet (Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4).
> Dit onderzoek is niet uit te voeren zonder gebruik van proefdieren, omdat het gaat om een samenspel tussen verschillende organen (hart, longen, nieren), het immuunsysteem en ziekteverwekker. Het beloop van een longontsteking is niet in een laboratorium d.m.v. bijvoorbeeld celweek na te bootsen. De DEC onderschrijft deze keuze. Er is geen in-vitro model beschikbaar dat het effect van vochttoediening op de longontsteking kan nabootsen.
18. Is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat? Is er een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Leg uit waarom wel/niet (Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4).
> Het aantal dieren is ingeschat op basis van eerdere ervaringen met dit model. Er is een poweranalyse gedaan met een standaarddeviatie die bepaald is in een experiment met alleen mannelijke dieren. In dit experiment zullen echter mannelijke en vrouwelijke dieren gebruikt worden, wat de variatie kan verhogen. De onderzoeker schat in dat de verhoogde variatie 25% kan zijn en de power analyse gaat uit van deze worst-case variatie. De werkprotocollen die onder dit project zullen worden geschreven, zullen de te gebruiken aantallen dieren na de pilot proef herberekenen en statistisch onderbouwen; de IvD houdt hierop toezicht, en kan ook in die fase consultatie van de statisticus eisen.
19. Is het project in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en is het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Leg uit waarom wel/niet (Zie ETK, subsidiariteit, pag. 4).
> Alle handelingen aan dieren zijn doorgesproken met de IvD, en worden zodanig uitgevoerd dat het ongerief tot een minimum beperkt blijft. De vochttoediening wordt uitgevoerd wanneer de ratten onder verdoving zijn en beademd worden. Hierdoor wordt een additioneel ongerief ten gevolge van de vochttoediening voorkomen.
20. Zijn er redenen om aan te nemen dat, bij wettelijk vereist onderzoek, duplicatie plaats vindt? Zo ja, licht dit toe.
a. Beschikt de aanvrager over voldoende expertise en informatie om tijdens het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt? Leg uit waarom wel/niet.
> nvt

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

21. Worden dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet? Zo nee, is daarvoor een actuele wetenschappelijke onderbouwing? Welke maatregelen zijn verder getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken (Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 4)?

> Ondanks dat er enkel ervaring is met mannelijke dieren in dit model, zullen er van beide geslachten gelijke aantallen dieren worden gebruikt. De eventuele toegenomen variatie in het experiment zal bepaald worden aan de hand van de pilot proef. Hierdoor kunnen uiteindelijk meer dieren nodig zijn, dan wanneer het geval zou zijn in een proef met enkel mannelijke dieren.

22. Worden dieren gedood in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef)? Is dit noodzakelijk en wordt een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 3*)? Licht dit toe.

> De dieren worden in het kader van de proef gedood volgens een methode van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU; doden is noodzakelijk omdat de longen en andere organen uit het dier moeten worden gehaald voor verdere analyse.

23. Indien dieren worden gedood, is adoptie of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is (*Zie ETK, proportionaliteit en voorzorg, pag. 3*).

> nvt

NTS

24. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

> Ja, deze is in overleg met de afdeling communicatie van de vergunninghouder bewerkt met het oog op de begrijpelijkheid.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centraal morele vraag (Zie ETK, Probleem definiëren, pag. 9)
(Rechtvaardigt het directe doel van het onderzoek, aangevuld met het uiteindelijke doel van het project, en de haalbaarheid van het project het ongerief dat dieren wordt aangedaan in het voorliggende project?)
> Het directe doel van dit project is het in kaart brengen van de biologische processen die optreden tijdens vochtophoping bij acute longschade. Hiervoor zal een rattenmodel gebruikt worden waarin biologische parameters onderzocht zullen worden na vochttoediening tijdens acute longschade (waaronder inflammatie, longoedeem, longschade) in jonge ratten ten opzichte van volwassen ratten. Het uiteindelijke doel van het project is het verkrijgen van inzicht in de negatieve effecten van vochtophoping bij ernstig zieke kinderen met ARDS die beademd moeten worden.
De centraal morele vraag luidt: rechtvaardigen het wetenschappelijk en maatschappelijk belang van deze doelen het gebruik van maximaal 169 ratten die matig ongerief zullen ondergaan.
2. Weeg voor de ethische afweging de waarden van de verschillende belanghebbenden zoals beschreven in C ten opzichte van elkaar af. Onderbouw dit met moreel relevante feiten (Zie ETK, Waarden, pag. 4 en Weging moreel relevante argumenten, pag. 11).
> De uiteindelijke waarde van dit onderzoek is enerzijds gelegen in het verkrijgen van een beter inzicht in de negatieve effecten van vochttoediening tijdens ARDS, en anderzijds en mede daardoor, in de stap die ermee wordt gezet in de richting van een beter vochtbeleid bij patiënten met ARDS. De belanghebbenden hierbij zijn in de eerste plaats de patiënten met ARDS, maar ook de medische wetenschap in bredere zin heeft belang bij het verkrijgen van deze nieuwe inzichten in tot op heden onbekende mechanismen. De kans dat dit project bijdraagt aan kennis over het effect van vochttoediening of vochtophoping tijdens ARDS, acht de DEC reëel.
Daartegenover staat het gebruik van maximaal 169 ratten, een relatief beperkt aantal, die hoogstens slechts kortdurend matig ongerief zullen ondervinden. Deze aantasting van het belang van de dieren acht de DEC gerechtvaardigd, gezien de waarde van dit onderzoek voor ARDS-patiënten.
3. Beantwoord de centraal morele vraag, gebruik makend van bovenstaande afweging. Motiveer de afweging, zodanig dat deze navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel.
> Rekening houdend met de waarden en belangen van medische wetenschap, toekomstige patiënten en proefdieren zoals hierboven aangegeven, meent de DEC dat het belang van de te verwachten resultaten uit dit project voor de verbetering van de vochtbehandeling tijdens ARDS opweegt tegen het gebruik van 169 ratten en het matige ongerief dat zij zullen ondervinden.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
- 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 ministeriële ontheffing vereist
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...
- 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

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt. Specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (Zie ETK, Advies pag. 12).

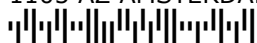
3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (Zie ETK, Proportionaliteit en voorzorg pag. 3, Subsidiariteit pag. 4, Dilemma's pag. 8 en Advies pag. 12).



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef 31
1105 AZ AMSTERDAM



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD118002016527

Bijlagen

2

Datum 28 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 26 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD118002016527. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.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.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11800

Naam instelling of organisatie: Academisch Medisch Centrum

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde:

████████████████████

KvK-nummer: 343362777

Straat en huisnummer: Meibergdreef 31

Postcode en plaats: 1105 AZ Amsterdam

IBAN: NL68RABO0136166741

Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

Nieuwe aanvraag

Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve
gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve
gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 mei 2016
Geplande einddatum: 1 mei 2021
Titel project: Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade
Titel niet-technische samenvatting: Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade
Naam DEC: DEC AMC
Postadres DEC: Meibergdreef 31
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 935,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Amsterdam
Datum: 26 april 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

AMC Crediteurenadministratie
Postbus 4100
1115 ZJ AMSTERDAM


**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD118002016527
Bijlagen
2

Datum 28 april 2016
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur
Factuurdatum: 28 april 2016
Vervaldatum: 28 mei 2016
Factuurnummer: 16700527
Ordernummer: Kostenplaats 0960

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD118002016527	€ 935,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academic Medical Center Amsterdam

Meibergdreef 31
1105 AZ Amsterdam

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD118002016527

Uw referentie

Bijlagen

Datum 23 mei 2016

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte

Op 26 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade" met aanvraagnummer AVD118002016527. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben.

Welke informatie nog nodig

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

U beschrijft in de bijlage dierproeven 3.4.4.1 een pilotstudie om onder meer de hoeveelheid toe te dienen vocht vast te stellen om een normale bloeddruk te handhaven. Dit volume zal dan gebruikt worden als restrictieve hoeveelheid toe te dienen vocht in de vervolg experimenten. De DEC maakt hierover ook een opmerking in het advies, namelijk dat de hoeveelheid vochtvolume uit de restrictieve groep veel kleiner moet zijn dan die in de liberale groep. Kunt u aan dit verschil een kwantitatieve maat toekennen? Wat is in uw opinie het criterium op basis waarvan u de vervolg experimenten na de pilot studie in kunt zetten? (go/ no go moment?)

In de bijlage dierproeven beschrijft u dat de jonge dieren worden besteld (en geleverd) met een zogend moederdier omdat zij nog niet gespeend zijn op het moment van afleveren. Hierbij beschrijft u dat u rattenpups van 1 geslacht besteld. U beschrijft verder het inzetten van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren; kunt u dan niet complete nesten bestellen waarin zo nodig de verhouding man/ vrouw naar 50/50 is bijgesteld?

Uw aanvraag betreft een project met een looptijd voor 5 jaar. Uit de beschreven experimenten wordt niet duidelijk waarom een dergelijke langdurige looptijd noodzakelijk is. Kunt u dit nader toelichten?

Stuur de ontbrekende informatie op voor 2 juni 2016, dit in verband met de behandeling van uw aanvraag in de eerstvolgende CCD vergadering. U kunt dit

aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Datum

23 mei 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD118002016527

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.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

26 mei 2016, Amsterdam

Geachte leden van de Centrale Commissie Dierproeven,

In reactie op uw vragen aangaande onze projectvergunning dierproeven "Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade" met aanvraagnummer AVD118002016527 zenden wij u de volgende informatie en antwoorden.

Vraag 1:

U beschrijft in de bijlage dierproeven 3.4.4.1 een pilotstudie om onder meer de hoeveelheid toe te dienen vocht vast te stellen om een normale bloeddruk te handhaven. Dit volume zal dan gebruikt worden als restrictieve hoeveelheid toe te dienen vocht in de vervolg experimenten. De DEC maakt hierover ook een opmerking in het advies, namelijk dat de hoeveelheid vochtvolume uit de restrictieve groep veel kleiner moet zijn dan die in de liberale groep.

Kunt u aan dit verschil een kwantitatieve maat toekennen? Wat is in uw opinie het criterium op basis waarvan u de vervolg experimenten na de pilot studie in kunt zetten? (go/ no go moment?)

Zoals vermeld in onze aanvraag, krijgt de liberale groep een vaststaande normale vochtintake van 150 ml/kg/dag (~40 ml/kg per 6 uur). Uitgaande van de gegevens bij vorige proeven binnen onze onderzoeksgroep met ratten met LPS en kunstmatige beademing verwachten wij maximaal 100 ml/kg/dag (~25 ml/kg per 6 uur), maar mogelijk nog een lagere intake van 60 ml/kg/dag (~15 ml/kg per 6 uur), als restrictief volume vochtintake nodig te hebben. Echter, in deel A en B van de pilot (proef 1) zal moeten blijken of en hoe restrictief we kunnen zijn voor beide leeftijdsgroepen uitgaande van de bloeddruk (zoals normaal gedefinieerd in deel A van de pilot) tijdens kunstmatige beademing. Dit kunnen wij dus niet direct overnemen uit voorgaande proeven.

Op deze manier zullen wij het laagst haalbare vochtbeleid kunnen kiezen waarbij de proefdieren (cardiovasculair) stabiel blijven. Onze verwachting is dus dat de restrictieve groep ruim 50% van de normale vochtintake nodig zal hebben. Ons doel is vanzelfsprekend om zo restrictief mogelijk te zijn, om het verschil tussen beide groepen zo groot mogelijk te maken.

Een **no-go** moment na de pilot van het onderzoek (voor voortgang naar proef 2) is als blijkt dat slechts minder dan 25% verschil in de vochtintake tussen de groepen bereikt kan worden. Dit verschil is gekozen aangezien in de klinische praktijk deze afname van vochttoediening ook als een restrictief vochtbeleid wordt aangeduid. Derhalve is een verschil van meer dan 25% nog steeds klinisch relevant, terwijl een kleiner verschil dan 25%te weinig onderscheidend tussen beide behandelgroepen is en als niet klinisch relevant wordt beschouwd.

Vraag 2:

In de bijlage dierproeven beschrijft u dat de jonge dieren worden besteld (en geleverd) met een zogend moederdier omdat zij nog niet gespeend zijn op het moment van afleveren. Hierbij beschrijft u dat u rattenpups van 1 geslacht besteld. U beschrijft verder het inzetten van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren; kunt u dan niet complete nesten bestellen waarin zo nodig de verhouding man/ vrouw naar 50/50 is bijgesteld?

De volgende zin: “Het is mogelijk rattenpups te bestellen van één geslacht (met surrogaat moeder). Pups van het andere geslacht zullen dan herverdeeld worden onder andere zogende vrouwelijke ratten”, is foutief blijven staan uit een eerdere versie van onze aanvraag. Onze excuses hiervoor. Wij zullen inderdaad dieren van beide geslachten inzetten en dus ook complete nesten bestellen met beide geslachten.

Vraag 3:

Uw aanvraag betreft een project met een looptijd voor 5 jaar. Uit de beschreven experimenten wordt niet duidelijk waarom een dergelijke langdurige looptijd noodzakelijk is. Kunt u dit nader toelichten?

De looptijd van dit onderzoek hebben wij gesteld op 4 jaar (zie NTS, punt 1.2; de looptijd van 5 jaar zoals aangegeven in het aanvraagformulier had 4 jaar moeten zijn). Deze gekozen periode is ruimer dan wij daadwerkelijk verwachten nodig te hebben voor dit onderzoek vanwege de huidige en geplande werkzaamheden in onze dier-faciliteit en recente voorvallen met infecties in commerciële foklijnen. Op deze manier houden wij rekening met mogelijke onvoorziene vertraging bij de uitvoer van deze experimenten.

Wij hopen u hiermee voldoende geïnformeerd te hebben voor de verdere beoordeling van ons project.

Met vriendelijke groet,

A black rectangular redaction box covering the signature area.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef 31
1105 AZ Amsterdam

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD118002016527

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 8 juni 2016
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 26 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade" met aanvraagnummer AVD118002016527. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 23 mei 2016 hebben wij u om aanvullende informatie ter verduidelijking gevraagd. Op 26 mei 2016 heeft u de vragen voldoende beantwoord. De antwoorden zijn toegevoegd aan het dossier en meegewogen in de besluitvorming.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1 sub a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade" starten. De vergunning wordt afgegeven van 8 juni 2016 tot en met 1 mei 2020. De startdatum wijkt af van uw aanvraag omdat deze in het verleden ligt. De looptijd wijkt af van uw aanvraag maar is in overeenstemming met uw antwoord dd 26 mei 2016 gesteld op 4 jaar.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC AMC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 26 april 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Dit advies van de commissie, nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden twee aanvullende voorwaarden gesteld. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Datum

8 juni mei 2016

Onze referentieAanvraagnummer
AVD118002016527**Bezwaar**

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

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

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

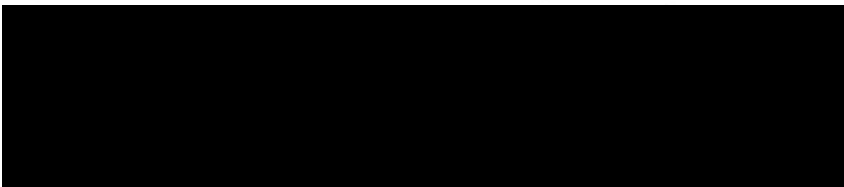
Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel 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.centralecommissiedierproeven.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: Academisch Medisch Centrum
Adres: Meibergdreef 31
Postcode en woonplaats: 1105 AZ Amsterdam
Deelnemersnummer: 11800

deze projectvergunning voor het tijdvak 8 juni 2016 tot en met 1 mei 2020, voor het project "Negatieve effecten van vocht tijdens acute longschade" met aanvraagnummer AVD118002016527, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC AMC. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 26 april 2016
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 26 april 2016;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 26 april 2016
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie dd 26 april 2016, ontvangen op 26 april 2016;
 - d. De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 26 mei 2016.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Rat LPS ARDS model	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / wistar rat	169	Matig	Voor de proeven in jonge dieren worden er maximaal 21 moederdieren mee besteld. Deze dieren ondergaan geen handelingen voor dit project en worden nadat de jongen zijn gespeend ingezet voor onderwijsdoelen op lopende DEC protocollen.

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

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning.

Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

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

8 juni mei 2016

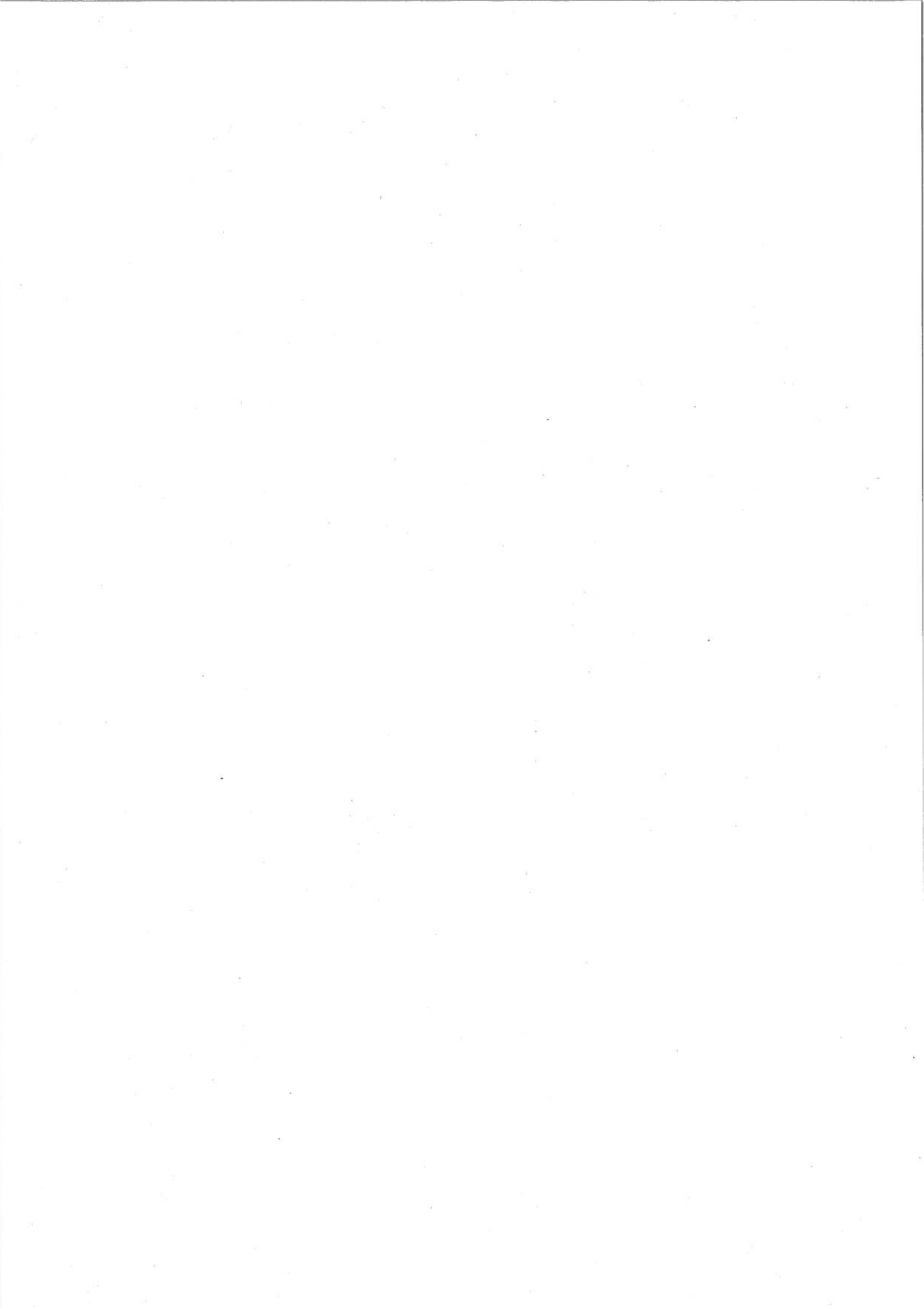
Onze referentieAanvraagnummer
AVD118002016527

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.



Inventaris Wob-verzoek W16-21S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016531								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven			x					
5	DEC-advies			x					
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Mails vragen en antwoorden 26-5-2016				x		x	x	
8	Advies CCD		x						x
9	Beschikking en vergunning				x		x	x	
10	Mail terugkoppeling DEC 16-6-2016				x		x	x	



02 MEI 2016

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.centralecommissiedierproeven.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	11500
		<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	UMC Utrecht
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	30244197
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	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht
		Postbus	12007
		Postcode en plaats	3501AA Utrecht
		IBAN	NL27INGB0000425267
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
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	(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	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]

- 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 | 1 - 6 - 2016 |
| Einddatum | 31 - 5 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Ontwikkeling van anti-aritmische therapieën, pro-aritmische screening van medicatie en risicopredictie van hartritmestoornissen.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|-------------------------------|
| Naam DEC | DEC Utrecht |
| Postadres | Postbus 85500 3508 GA Utrecht |
| E-mailadres | dec-utrecht@umcutrecht.nl |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 935 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
-

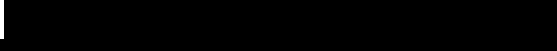
6 Ondertekening

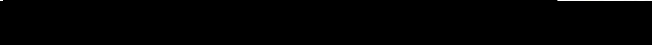
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

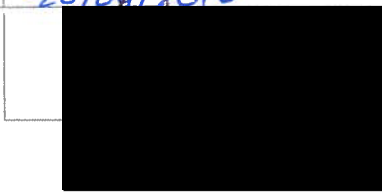
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan 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 

Plaats Utrecht

Datum 20/04/2016

Handtekening 



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for 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.centralecommissiedierproeven.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'. 11529
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. UMC Utrecht, Department of Medical Physiology
- 1.3 Provide the title of the project. Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or
- 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.

Background

Ventricular remodeling predisposes the heart to arrhythmia

Despite advances in diagnostic possibilities and therapeutic interventions, cardiovascular diseases remain the most common cause of mortality and morbidity in developed countries. Sudden cardiac death due to ventricular arrhythmias accounts for approximately 50% of cardiovascular deaths (Huikuri et al., *New England Journal Medicine*, 2001). Incidence of acquired ventricular arrhythmias is relatively high in patients with ventricular remodeling due to ischemic or non-ischemic cardiomyopathy. Ventricular remodeling is a (mal)adaptive response of the heart to altered stress, such as a myocardial infarction, hypertension, valvular abnormalities or an altered activation pattern (e.g. left bundle branch block). This remodeling process consists of structural (e.g. hypertrophy), contractile (altered Ca^{2+} handling) and electrical adaptations (altered repolarization). These adaptations aim to maintain normal contractile function, but make the heart highly susceptible for ventricular arrhythmias. Two important mechanisms that predispose the heart to arrhythmias are prolongation of the action potential duration (APD) and an altered Ca^{2+} homeostasis. A hallmark of electrical remodeling is downregulation of repolarizing potassium currents, which increases APD. Longer action potentials favor the occurrence of early after-depolarizations (EAD) which could trigger a polymorphic ventricular arrhythmia, called Torsade de Pointes (TdP) arrhythmia. TdP could, if not self terminating, degenerate into ventricular fibrillation and lead to sudden cardiac death. In addition, alterations in Ca^{2+} homeostasis, may cause a Ca^{2+} overload in the cardiac cell. When this excess Ca^{2+} is extruded out of the cell, an inward current is generated. When large enough, this inward current could result in delayed after-depolarizations (DAD) that could also act as a trigger for ventricular arrhythmias.

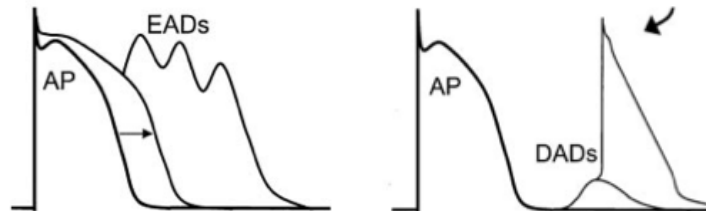


Figure 1. Early after-depolarizations (EAD) and delayed after-depolarizations (DAD)

Despite advantages in our understanding of ventricular remodeling and the electrophysiological mechanisms underlying arrhythmias, therapeutic options for the treatment of ventricular arrhythmias are limited. The majority of antiarrhythmic drugs available today have shown to increase mortality due to their proarrhythmic properties and are therefore contraindicated as preventive therapy in these patients.

In the first decade of the century, two large randomized controlled trials, the MADIT II and SCD-HeFT trial, have shown that patients with diminished cardiac function, expressed as a low left ventricular ejection fraction (LVEF), benefit from prophylactic implantation of an implantable cardioverter-defibrillator (ICD) (Moss et al., *New England Journal Medicine*, 2002; Bardy et al., *New England Journal Medicine*, 2005). Since the publication of these landmark trials, ICD implantation has become the mainstay of therapy for the prevention of sudden cardiac death. However, besides being exposed to side-effects such as infection, inappropriate shocks and re-operation due to battery depletion, up to two thirds of the patients with a prophylactic ICD implanted do not receive life-saving ICD shocks (Koller et al., *Circulation*, 2008). Furthermore, ICD therapy does not avoid occurrence of ventricular arrhythmias but only prevent sudden cardiac death. Moreover, a number of patients, who do not fulfil the criteria for prophylactic ICD implantation, still die from sudden cardiac death. Therefore, better risk stratification of sudden cardiac death is needed, to determine which patients benefit the most from ICD therapy.

Risk stratification

Numerous non-invasive risk markers have been proposed and evaluated for the stratification of patients with high and low risk of ventricular arrhythmias. Most of these markers are ECG-derived parameters such as heart-rate variability or microvolt T-wave alternans. A recent study have showed that post-extrasystolic potentiation (PESP), which describes the augmentation of the beat following an extrasystolic

beat, could be used as a predictor of mortality in postinfarction patients (Sinnecker et al., Journal of American Heart Association, 2014). This study did not stratify mortality for arrhythmic death or non-arrhythmic death due to pump failure. Post-extrasystolic potentiation is the result of changes in calcium handling. Due to refractoriness of Ca^{2+} release channels during the short interval, less calcium is released at the premature beat. At the subsequent postextrasystolic beat, more calcium is available, which result in a forceful contraction. As stated above, altered Ca^{2+} homeostasis is an expression of ventricular remodelling in cardiac disease and may be a trigger for arrhythmias. PESP could be seen as a macroscopic measure of calcium handling and could thus function as a potential marker of arrhythmia. In the reported study by Sinnecker et al. PESP was measured non-invasively as a change in blood pressure. However, previous reports used contractility measures (LV dP/dtmax) for determination of PESP. It is not known how these non-invasive measurements are correlated to the invasive parameters of PESP. However, if this non-invasive PESP is a valid reflection of cardiac Ca^{2+} handling, then this might be very useful tool in risk stratification of sudden cardiac death.

Anti-arrhythmic strategies

While ICD therapy may prevent sudden cardiac death, it does not prevent ventricular arrhythmias. Therefore, development of new antiarrhythmic strategies remain necessary to improve life quality of high risk patients. Current antiarrhythmic drugs include calcium and sodium channel blockers. However, related to their pharmacology, known adverse effects significantly affect cardiac function and electrical conduction, two components already compromised in heart failure conditions. As a consequence, their use is strongly limited among this patient population. Furthermore, the better understanding of the cellular and molecular basis of cardiac arrhythmias has given rise to new potential pharmacological targets. As an example, we recently showed in our department that the specific inhibition of the late sodium current performed as good as calcium blockers in suppressing TdP arrhythmias in vivo (■■■■ ■■■■ ■■■■) without slowing conductivity or affecting cardiac function. This further supports the necessity to investigate novel and safe antiarrhythmic strategies through the evaluation of new antiarrhythmic drugs. Possible candidate drugs consist of these late sodium current blockers or autonomous nervous system modulators.

Pacing-induced ventricular remodeling

Finally, certain device-based interventions might even be deleterious for cardiac function. A frequently-used therapeutic intervention, right ventricular pacing, may cause unwanted ventricular remodelling. Cardiac pacing is the most often used treatment modality for bradycardia syndromes (e.g. complete AV-block, sick sinus syndrome) and the right ventricular apex (RVA) is the usual location for lead placement. However, in the last decades a substantial number of reports have been published concerning the possible detrimental effects of RVA pacing. The abnormal activation pattern (e.g. the interventricular septum is activated early compared to the lateral free wall) may cause deterioration of left ventricular ejection fraction or may even form a substrate for arrhythmia. However, the electrophysiological effects of RVA pacing on tissue and cellular level are still unknown.

The chronic atrioventricular block dog model

To investigate ventricular remodeling and associated ventricular arrhythmias in an animal model, one must be aware of differences in physiology of electrical signal propagation between species. As illustrated in figure 2 (left), the morphology of the action potential differs significantly between species due to a different expression profile of cardiac ion channels, mainly sodium, calcium or potassium channels. In order to extrapolate results of studies on arrhythmias to the patient, basic electrophysiological characteristics must be similar between the animal model and human. As one can appreciate from figure 2, the morphology of the action potential of the canine heart is most comparable to human, therefore this animal is frequently used for electrophysiological studies.

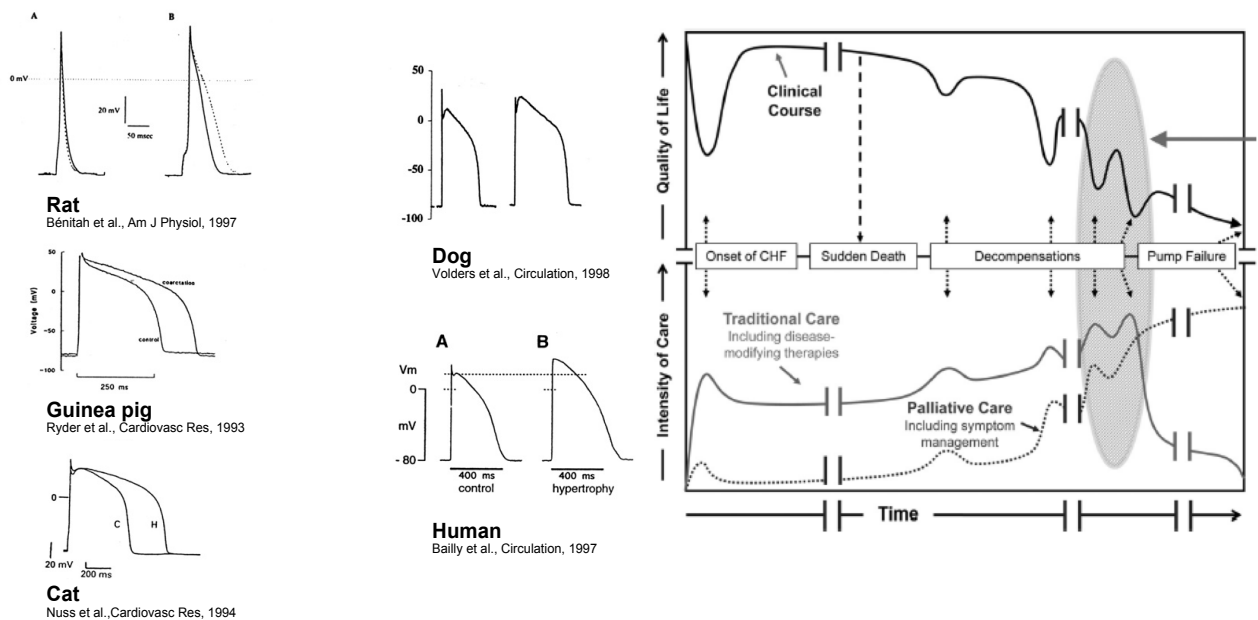


Figure 2. Morphology of cardiac action potential in different species (left) and clinical course of heart failure in patients (right)

Within our department, a dog model has been developed and extensively characterized to study ventricular arrhythmias: the chronic atrioventricular (AV) block (CAVB) dog model. In this animal model, the AV node is ablated which causes a significant bradycardia. Subsequently, the escape ventricular activation originates from a focus located within the ventricles, giving rise to the idioventricular rhythm (IVR). This chronic bradycardia will result in a volume overload to both ventricles, which causes mechanical, contractile and electrical remodelling, similar to the remodelling seen in patients with structural heart disease. Similar to patients, this initial event will result in a compensated state of hypertrophy, i.e. the animals will not show signs of decompensated heart failure. As illustrated in figure 2 (right), sudden cardiac death is especially prevalent in this compensated phase. Thus, the CAVB dog model, in contrast to a heart failure model, represents the vulnerable patient who is at risk of arrhythmias.

After remodelling, these animals are highly susceptible for ventricular arrhythmias, such as TdP, when induced by an additional challenge with dofetilide, a gold standard drug blocking an important current (I_{Kr}) involved in the repolarization process. Because of this additional 'hit' needed to induce arrhythmias, the occurrence of arrhythmia can be controlled. Furthermore, dofetilide-induced TdP incidence is highly reproducible in this model (~95%). This model has therefore high value in the assessment of new screening modalities for arrhythmia or to test the efficacy of new anti-arrhythmic agents. Because of the reproducibility of arrhythmias, a serial comparison is possible between a known proarrhythmic drug (dofetilide) with a drug evaluated for its anti-arrhythmic properties.

However, in the regular CAVB dog, there is no control over the origin of the IVR after induction of AV block. Therefore, ventricular activation is altered but the origin of its focus may be unstable during follow up period. This inconsistent activation pattern complicates research into mechanisms underlying the role of activation pattern in ventricular remodelling and arrhythmogenesis. To maintain a stable but altered ventricular activation pattern compared to sinus rhythm, our group decided to implement right ventricular apical (RVA) pacing in the CAVB dog model. This induces mechanical dyssynchrony, during which the ventricles no longer contract simultaneously. Recent work showed that the immediately induced mechanical dyssynchrony by bradycardic RVA pacing was partially reversed after 3 weeks remodeling. The partial restoration of mechanical synchrony occurred without apparent baseline electrical effects. However, dofetilide clearly unmasked (region specific) arrhythmic consequences of remodeling (Dunnink et al, 2009). Other studies evaluating electrophysiological adaption associated with an altered

activation pattern also showed regional differences but the relation between early and late activated regions was not consistent. (Aiba et al., *Circulation*, 2009; Jeyaraj et al., *American Journal of Physiology*, 2013; Jeyaraj et al. *Circulation*. 2007). Adaption of the heart during RVA pacing needs to be further evaluated as well as its influence on the susceptibility to TdP and the underlying cellular mechanisms.

As a summary, this research proposal will address the following:

- 1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)**
- 2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies**
- 3. Ventricular remodeling related to altered activation**

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?

1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)

Is PESP changed in the chronic AV-block dog model?

Is there a correlation between high PESP and arrhythmic events?

Is PESP measured non-invasively correlated to invasive contractility measures (LV dp/dtmax)?

2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies

What is the antiarrhythmic efficacy of the investigated strategy?

Is the drug able to suppress or prevent occurrence of TdP arrhythmias in vivo and early afterdepolarizations in vitro?

Does this observed antiarrhythmic effect is associated with electrophysiological changes?

Comparison of antiarrhythmic effect and electrophysiological changes with known reference drugs. What are the clinical implications and potential applications of this new antiarrhythmic strategy?

3. Ventricular remodeling related to altered activation

What is the effect of RVA bradycardia pacing on cardiac electro-mechanical remodelling?

What is the mechanism underlying, and time span of, reversal of mechanical dyssynchrony (mechanical adaption) after chronic RVA pacing?

Does RVA bradycardia pacing induce regional cellular electrophysiological differences?

Is there a correlation between the phase of adaption and the risk of repolarization dependent arrhythmias?

Achievability

Objectives 1. and 2.

Based on the enhanced and reproducible susceptibility to dofetilide-induced TdP arrhythmias in the CAVB dog model, as well as our expertise in hemodynamic and electrophysiological recording in vivo and in vitro studies, these research questions are achievable.

Objectives 3.

The same accounts for this objective. However, up till now no cellular experiments have been performed elucidating the exact regional remodeling due to altered (but stable), dyssynchronous activation and bradycardia. This research question requires electrophysiological cellular experiments in which our lab is experienced, e.g. patch clamping and fluorescence microscopy imaging performed with isolated cardiomyocytes. Besides experiments with isolated cardiomyocytes, experiments with multicellular preparations, i.e. cardiac slices, will also be performed. By using multiple techniques to investigate electrophysiological remodeling in the same animal we aim to compare results of isolated cardiomyocytes to those of multicellular preparations but it will also ensure results.

3.3 Relevance

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

Despite progress in diagnosis and treatment of cardiovascular diseases, it still remains one of the most frequent cause of death in developed countries, including sudden cardiac death related to ventricular arrhythmias.

ICD implantation represents the most frequently used approach to prevent sudden cardiac death in high risk patients. Based on contractile function, more than 100.000 ICD are implanted each year, and cost overall more than 2 billion euros worldwide. As discussed before, only one third of these patients receive life-saving ICD shocks, but patients are still exposed to side effects; inappropriate shocks have a high impact on patients lives and can cause severe psychological distress and anxiety. Thus, a better risk prediction for ventricular arrhythmias via specific and sensitive markers of arrhythmic susceptibility would have a significant (clinical, socioeconomical, psychosocial) benefits. As a consequence, new parameters for risk stratification are highly needed. The new data on PESP shows that this marker might be a useful predictor, which is non-invasive and easy to apply. However, due to its novelty little is known about the relation between PESP and arrhythmias. Therefore, experimental studies on this new parameter are urgently needed.

Furthermore, antiarrhythmic drugs currently used to prevent ventricular arrhythmias, mostly calcium and sodium blockers, are associated with adverse effect that significantly affect cardiac function already compromised in heart failure conditions and can even be proarrhythmogenic. As a result, their clinical use is strongly restricted among these patients. Therefore, the development of more efficient antiarrhythmic strategies – while being safer – is needed for a better prevention of fatal arrhythmias.

Finally, a large subgroup of patients suffering from cardiovascular disease (e.g. dyssynchronous heart failure) have an altered activation pattern of the ventricles. Moreover, RVA pacing is a widely used therapeutic option for patients with an AV conduction disorders, sick sinus syndrome, brady-tachy syndrome and long QT syndrome. Therefore more insight in the effect of altered ventricular activation, either due to RVA pacing or due to cardiovascular disease itself, on cardiac remodelling and arrhythmogenesis might improve treatment strategies for patients with cardiovascular disease.

3.4 Research strategy

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

The CAVB dog model has been used extensively by our research group for the last decades to assess anti- and pro-arrhythmic properties of new drugs as well as the identification of new markers of refelecting the proarrhythmic risk. Therefore, this model will be used to develop predictive markers of proarrhythmic risk, to investigate efficacy of novel antiarrhythmic strategies and to study ventricular remodeling processes related to altered activation.

1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)

Hemodynamic and electrophysiological markers will be developed to further identify arrhythmic susceptibility of individuals.

To investigate new marker of proarrhythmic susceptibility, the parameter can be measured in control sinus rhythm (SR) conditions and compared to unremodelled (acute AVB) and remodelled circumstances (chronic AVB) to evaluate if this marker changes due to cardiac remodelling. In addition, incidence and severity of arrhythmias will be correlated with this parameter. Moreover, susceptible and non-susceptible CAVB dogs can be compared, to unravel a relation between this parameter and proarrhythmic susceptibility.

PESP is a hemodynamic marker that will be measured non-invasively and validated to its invasive equivalent.

2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies

Novel antiarrhythmic strategies will be chosen according to their innovative pharmacology targeting cardiac ion channel, pump or transporter or any other physiological system (i.e. the autonomic nervous

system) implicated directly or indirectly in the occurrence of ventricular arrhythmias. To evaluate this new antiarrhythmic strategy, electrophysiological effects of the drug (ECG intervals and electrophysiological parameters) have to be first determined under control conditions (sinus rhythm dogs). This first step may require up to 2 experiments with a maximum of 2 doses per experiment (calculated to reach relevant plasma exposure) to determine a dose-response relationship.

Then, the antiarrhythmic efficacy of the drug can be evaluated in CAVB dogs possibly in two different ways, after (suppression) or before (prevention) a proarrhythmic (dofetilide) challenge. In the first case, dofetilide will induce TdP arrhythmias and the suppressive antiarrhythmic effect of the strategy will be evaluated. In the second case, incidence of arrhythmias will be monitored after dofetilide in presence of the investigated antiarrhythmic drug.

Incidence and severity of arrhythmias will be compared between the two periods. Similarly, a drug dose-antiarrhythmic response may be necessary, resulting in several dofetilide testings. If no TdP arrhythmias are observed after dofetilide administration, the antiarrhythmic strategy will not be evaluated.

At the cellular level, experiments will be performed in cardiomyocytes isolated from SR and CAVB dogs. The antiarrhythmic efficacy of the drug will be assessed after dofetilide-induced EADs.

For this objective, based on our throughput capacity (from previous years), about 4 novel antiarrhythmic drugs can be studied every year via in vivo and in vitro investigations. For this objective, **only** animals exhibiting Torsade de Pointes arrhythmias after dofetilide challenge (in 70-75% of animals) will be used. The reason is that the efficacy of an antiarrhythmic strategy can only be assessed if arrhythmias occur after dofetilide.

For these reasons, animals resistant to dofetilide challenge will be discarded from this research objective.

However, objective 1. (part New markers of arrhythmic susceptibility) focusing on the prediction of ventricular arrhythmias occurrence will therefore require both resistant and inducible animals.

3. Ventricular remodeling related to altered activation

For this research objective, SR and CAVB dogs will be necessary.

Previous research focused on remodelling in the CAVB dog model and its effects on arrhythmogenesis. To investigate the effect of stable but altered ventricular activation on ventricular remodelling and arrhythmogenesis, we will use the CAVB dog model paced from the right ventricle apex (RVA). In order to evaluate the processes of cardiac adaption and ventricular remodelling correlated with the susceptibility to TdP, serial in vivo experiments will be performed and followed after sacrifice by cellular (in vitro) investigations.

Previous work showed bradycardic RVA pacing induced mechanical dyssynchrony immediately which was partially reversed after 3 weeks remodeling. The latter occurred without apparent baseline electrical effects. However, dofetilide clearly unmasked (region specific) arrhythmic consequences of remodelling (Dunnink et al., *Europace*, 2012). We now aim to evaluate whether a longer period of remodelling allows the heart to truly restore dyssynchrony and evaluate the cellular effects.

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.

Outline of the different components of the project

1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)

At the start of the experiment, baseline measurements in sinus rhythm are recorded and AV node is ablated. After AV-node ablation a PESP pacing protocol is performed. Because PESP is highly influenced by the extrasystolic and postextrasystolic intervals, the heart is paced and the extrasystole and postextrasystolic beat are introduced at specific intervals. This pacing protocol is repeated at different basic rhythms. During this protocol mechanical and electrophysiological parameters are measured. This pacing protocol is repeated after dofetilide infusion. After chronic AV-block the same pacing protocol is performed and measurements are recorded to compare with baseline conditions. Finally, dofetilide testing is performed to evaluate susceptible to TdP arrhythmias.

2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies

Electrophysiological effects of the antiarrhythmic strategy will be evaluated under unremodelled

conditions. The antiarrhythmic efficacy of the strategy will be assessed after dofetilide-induced TdP arrhythmias in CAVB.

Antiarrhythmic properties against dofetilide-induced EAD will be confirmed in vitro in cardiomyocytes isolated from unremodelled and remodelled dogs.

3. Ventricular remodeling related to altered activation

Dofetilide tests will be performed serially within the same dog to compare different stages of cardiac remodelling (SR, acute AVB and several chronic AVB time points) and associated with arrhythmogenesis. Moreover, echocardiograms and cardiac magnetic resonance imaging (MRI) will be performed at the same time points before dofetilide tests to correlate cardiac function at the phase of cardiac remodelling.

Table 1. summarizes the basic outline of each research objective:

Research objective	Sinus rhythm dogs		Acute AV block dogs	Chronic AV block dogs	Cellular experiments
1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)	PESP/hemodynamic parameters and electrophysiology	AV node ablation	PESP/hemodynamic parameters, arrhythmias and electrophysiology	PESP/hemodynamic parameters, arrhythmias and electrophysiology	-
2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies	Effect of the drug under physiological conditions (electrophysiology)			Antiarrhythmic efficacy against dofetilide-induced TdP (electrophysiology, arrhythmias)	Antiarrhythmic efficacy against dofetilide-induced EADs in cardiomyocytes isolated from SR and CAVB dogs (electrophysiology, arrhythmias)
3. Ventricular remodeling related to altered activation	Echocardiography and cardiac imaging		Acute RVA pacing: - Echocardiography and cardiac imaging - Arrhythmias and electrophysiology	Serial experiments after chronic RVA pacing -> different stages of remodeling - Echocardiography and cardiac imaging - Arrhythmias and electrophysiology	- Electrophysiological comparison between early and late activated region - Regional ventricular remodeling

Table 1. Outline of the different research objectives

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.

As stated in the Background section, the most important challenges in the prevention of sudden cardiac death in patients with remodelled hearts are improvement of risk stratification and the development of new preventive antiarrhythmic drugs. In addition, in the last years it has become clearer that asynchronous pacing may be detrimental and result in remodelling. However, ventricular remodelling is a complex process, which includes mechanical, functional and electrical changes at the both tissue and cellular levels. Therefore, to investigate these questions, we need a model that resembles this process in all of these different aspects. The CAVB dog model is an ideal tool to investigate and answer these important questions: proarrhythmic risk prediction and stratification, development of new antiarrhythmic strategies, and the electrical changes caused by RVA pacing. Objectives could be combined during the same procedure to further reduce the number of animals and discomfort associated to multiple procedures (see Figure 5. in the enclosed Appendix form).

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	Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	



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.centralecommissiedierproeven.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'. 11529
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. UMC Utrecht, Department of Medical Physiology
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 | Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling |

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.

In each research objective detailed below, the cardiac electrophysiology will be studied in relation with ventricular arrhythmias in control, unremodeled and remodelled conditions. Electrophysiological recordings will include ECG intervals (Figure 1.)

- RR interval: effect on heart rate
- PR and/or QRS intervals: effect on electrical conduction
- QT and QTc (QT corrected for heart rate) intervals: effect on repolarization

associated with the regional electrophysiological activity recorded from electrode catheters placed in the left and right ventricles (LV and RV) and inserted via femoral artery and vein.

These parameters will be referred below as "electrophysiological parameters".

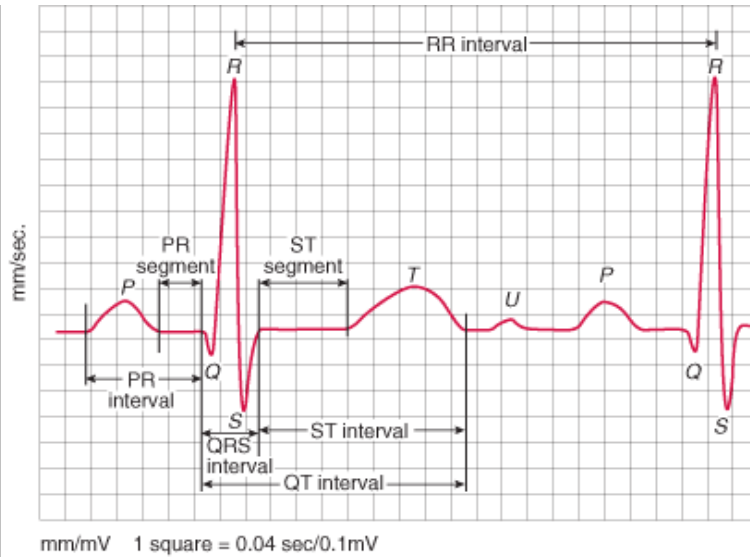


Figure 1. Electrocardiogram and its associated intervals

1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)

This experiment aims to assess, at different stages of cardiac remodeling, the correlation of post-extrasystolic potentiation (PESP) with pro-arrhythmic outcome in order to evaluate PESP value as a predictor of ventricular arrhythmias. In addition, the correlation of PESP of LV dP/dt max to PESP of non-invasively measured blood pressure will be assessed, to see if non-invasive measurements can be used to measure PESP and thus may serve as a non-invasive marker of arrhythmia susceptibility. Post-extrasystolic potentiation will be measured invasively using a LV pressure catheter and non-invasively using a photoplethysmographic device (Finapres©) along with electrophysiological parameters before and after dofetilide-induced TdP.

Sinus rhythm + acute AV block		Chronic AV block	
Experiment #1	Experiment #2	Experiment #3	Experiment #4
Proarrhythmic marker under control and acute AV block (unremodelled) conditions Dofetilide challenge	Proarrhythmic marker under chronic AV block (remodelled) conditions at early stage Dofetilide challenge	Proarrhythmic marker under chronic AV block (remodelled) conditions later stage Dofetilide challenge	Proarrhythmic marker under chronic AV block (remodelled) conditions end stage Dofetilide challenge
Correlation between PESP and arrhythmic susceptibility or resistance	Correlation between PESP and arrhythmic susceptibility or resistance	Correlation between PESP and arrhythmic susceptibility or resistance	Correlation between PESP and arrhythmic susceptibility or resistance

Figure 2. Flowchart of experiments for development of markers of proarrhythmic susceptibility

2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies

Sinus rhythm experiments

The first experiment consists in the administration of the investigated drug in normally-conducted SR dogs. Its effect on electrophysiological parameters under control conditions will be determined. Up to two SR experiments may be required (maximum 2 doses per experiment) to determine the drug's dose-response relationship.

At the end of the last SR experiment, the atrioventricular (AV) node will be ablated by radiofrequency to create complete AV block.

Chronic AV block experiments

The antiarrhythmic efficacy of the strategy will be investigated in CAVB dogs after dofetilide-induced TdP.

Electrophysiological parameters associated with incidence/severity of TdP arrhythmias will be compared between dofetilide and antiarrhythmic strategy periods within the same experiment.

At the end of the last (terminal) CAVB experiment, the heart will be sampled and cardiomyocytes will then be isolated to perform additional cellular experiments meant to confirm previous in vivo outcomes.

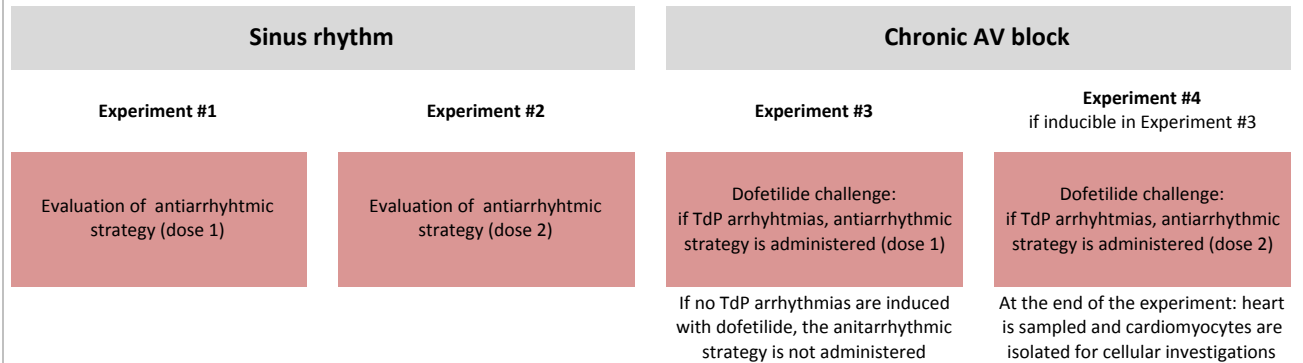


Figure 3. Flowchart of experiments for evaluation of novel antiarrhythmic strategies

3. Ventricular remodeling related to altered activation

The aim of this project is to assess the process of cardiac ventricular remodeling due to altered ventricular activation and evaluate its effect on TdP arrhythmia susceptibility in the CAVB dog model. Therefore the general design of the animal procedures involves serial in vivo experiments assessing cardiac remodeling and arrhythmia susceptibility. Cardiac remodeling will be evaluated both based on electrophysiological parameters, echocardiogram and cardiac imaging techniques. To assess correlation between cardiac remodeling and arrhythmia susceptibility dofetilide testing will also be performed on the same occasions.

To investigate the underlying electrophysiological mechanism of the cardiac remodeling related to altered activation, cellular experiments will be performed after termination of the dogs.

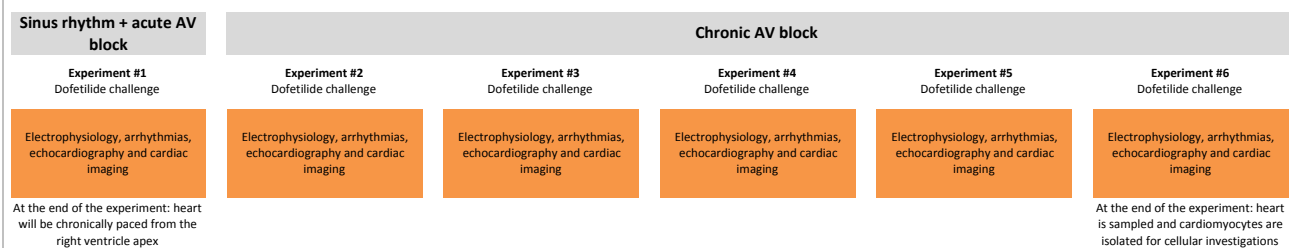


Figure 4. Flowchart of experiments addressing ventricular remodeling related to altered activation

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

All described experiments will be performed under general anesthesia (intravenously induced and maintained by inhalation) after animals were sedated.

1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)

Anesthetized experiment: about 3 hours duration, at least 2 weeks interval between 2 consecutive experiments, maximum of 6 anesthetized experiments

Procedure: Invasive LV pressure measurement, non-invasive Finapres© pressure measurement, ECG recording and catheterization of femoral artery and vein to access LV and RV for electrophysiological measurements.

Sinus rhythm and acute AV block conditions (1 experiment)

Electrophysiology and pressure (invasive LV pressure and non-invasive with Finapres©) will be measured:

1. Baseline measurements in control SR conditions (electrophysiological parameters, LV dP/dt max, Finapres©)
2. AV node ablation
3. Baseline measurements in unremodelled (acute AV block) conditions (electrophysiological parameters, LV dP/dt max, Finapres©, arrhythmias), followed by:
4. Dofetilide administration in acute AV block conditions (electrophysiological parameters, LV dP/dt max, Finapres©, arrhythmias)

A pacing protocol will be performed at baseline and dofetilide acute AV block conditions to induce extrasystolic beat at specific intervals. The dP/dtmax and change in blood pressure by the Finapres© of the post-extrasystolic beat are measured.

Chronic AV block conditions

After a remodeling period, similar procedures as under acute AV block conditions will be conducted:

1. Baseline measurements in chronic AV block conditions (electrophysiological parameters, LV dP/dt max, Finapres©, arrhythmias), followed by:
2. Dofetilide administration in chronic AV block conditions (electrophysiological parameters, LV dP/dt max, Finapres©, arrhythmias)

A pacing protocol will be performed at baseline and dofetilide (like under acute AV block conditions) to induce extrasystolic beat at specific intervals. The dP/dtmax and change in blood pressure by the Finapres© of the post-extrasystolic beat are measured.

Up to 3 experiments under chronic AV block conditions will be performed to serially evaluate PESP at several stages (early until end stage) of cardiac remodeling in the CAVB dog model.

2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies

Anesthetized experiment: about 3 hours duration, at least 2 weeks interval between 2 consecutive experiments, maximum of 6 anesthetized experiments

Procedure: ECG recording and catheterization of femoral artery and vein to access LV and RV for electrophysiological measurements.

Sinus rhythm conditions

Electrophysiological parameters will be measured before (baseline) and after administration of the investigated drug. Up to 2 SR experiments (maximum of 2 doses per experiment) may be necessary to complete the dose-response profile of the antiarrhythmic drug investigated.

At the end of the last SR experiment, AV node will be ablated.

Chronic AV block conditions

After a remodeling period, the antiarrhythmic efficacy of the strategy will be evaluated after dofetilide-induced TdP arrhythmias. Incidence/severity of arrhythmias along with electrophysiological parameters will be compared between dofetilide and antiarrhythmic drug period. Up to 2 CAVB experiments, during which the antiarrhythmic drug (different doses) will be administered, may be necessary to complete its dose-response profile.

3. Ventricular remodeling related to altered activation

Anesthetized experiment: about 4 hours duration, at least 2 weeks interval between 2 consecutive experiments, maximum of 6 anesthetized experiments

Procedure: Echocardiography, cardiac imaging technique, ECG recording and catheterization of femoral artery and vein to access LV and RV for electrophysiological measurements.

Sinus rhythm and acute AV block conditions (1 experiment)

1. Baseline measurement in SR conditions (electrophysiological parameters, echocardiography, cardiac imaging techniques)

2. Implantation of the pacemaker, positioning of right ventricular (RV) lead, positioning of epicardial right atrial (RA) lead after thoracotomy, closing of the thorax
3. AV node ablation
4. Baseline measurement in acute AV block conditions (electrophysiological parameters, echocardiography, cardiac imaging techniques) and paced from RV, followed by:
5. Dofetilide administration in acute AV block conditions (electrophysiological parameters, echocardiography, cardiac imaging techniques, arrhythmias) and paced from RV.
6. Animals will be chronically paced from RV.

Chronic AV block conditions

Five serial experiments under chronic AV block conditions will serially be performed. At least 2 weeks interval will expire between each of them to allow recovery of animals.

During these experiments, similar procedures will be performed:

1. Baseline measurement in chronic AV block conditions (electrophysiological parameters, echocardiography, cardiac imaging techniques) and paced from RV, followed by:
2. Dofetilide administration in chronic AV block conditions (electrophysiological parameters, arrhythmias) and paced from RV

At the end of the last chronic AV block experiment, heart will be excised and sampled for cellular experiments investigating the remodeling differences within different regions of the heart.

For all research objectives, ECG recordings under awake conditions will be performed the day after the anesthetized experiment to ensure the recovery of animals.

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

For each study, a sample size will be calculated based on the dofetilide inducibility in the CAVB dog model (70-75%) and on the threshold of relevance of the research question endpoint. Using the G-power 3.1 statistical software, an a priori analysis will compute required sample size.

Below is illustrated an example showing the calculation of a sample size for one particular study: example of an antiarrhythmic strategy.

To demonstrate the antiarrhythmic effect of a drug/intervention in the CAVB dog model, this strategy will be administered only after TdP arrhythmias were induced by dofetilide (inducibility ~75%). To consider the strategy as efficient antiarrhythmic, less than 25% of inducible dogs (with dofetilide) should still exhibit TdP arrhythmias after drug administration.

Determination of the odds ratio is the first step of sample size calculation and is performed as followed:

$$\text{Odds ratio} = (A/B)/(C/D)$$

	Presence of TdP	Absence of TdP
After dofetilide	A	C
After antiarrhythmic drug	B	D

A: inducible CAVB dogs with dofetilide: 75%

B: inducible CAVB dogs negatively responding to the antiarrhythmic drug/intervention (still presence of TdP arrhythmias): 25%

C: non-inducible CAVB dogs with dofetilide: 25%

D: inducible CAVB dogs positively responding to the antiarrhythmic drug/intervention (absence of TdP arrhythmias): 75%

$$\text{Odds ratio} = (0.75/0.25)/(0.25/0.75) = 9$$

In G-Power 3.1 statistical software, an a priori analysis is performed: "proportions: inequality, two

dependent groups, McNemar". (Figure 5.)

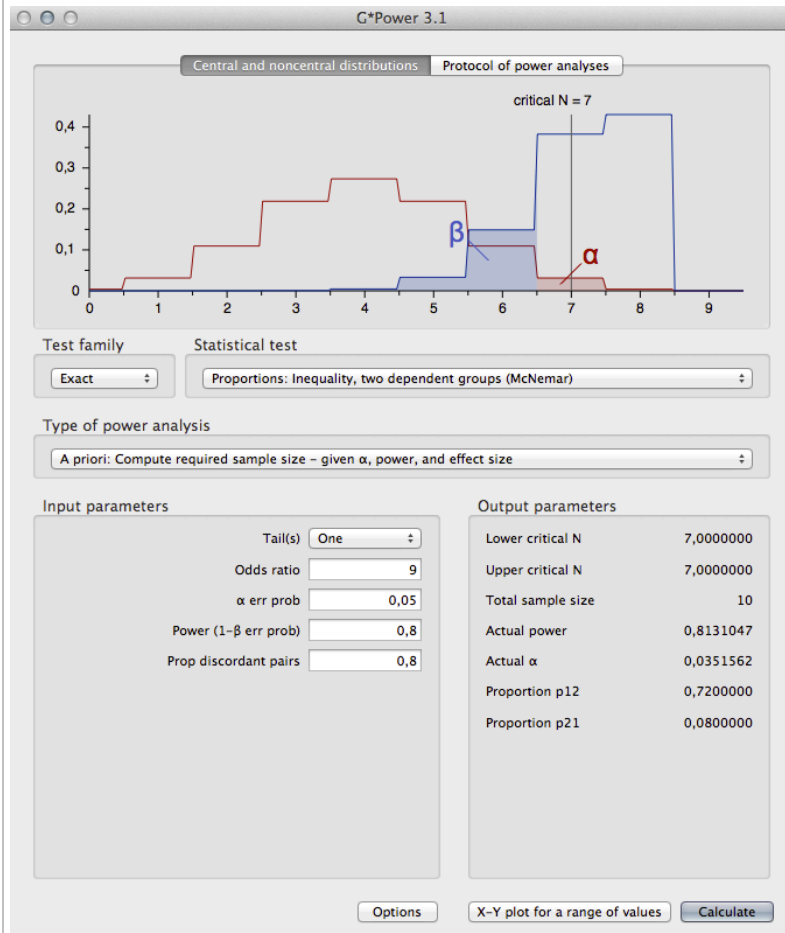


Figure 5. Screenshot of the G-Power 3.1 statistical software used for sample size calculation

Because incidence of TdP arrhythmias is expected to be lower after the evaluated antiarrhythmic drug/intervention than after dofetilide, a one-tail test is chosen.

Computing Odds ratio (9), risk alpha (5%), power (80%) and proportion of discordant pairs (80%) in this software gives a sample size of 10 animals.

As a result, to determine if a drug/intervention provides an antiarrhythmic efficacy in the CAVB dog model, 10 animals are necessary.

Moreover, several other considerations have been taken into account. First, the re-use of animals will allow the reduction of the total amount necessary.

Moreover, research objectives 1. and 2. can be addressed within the same experiment and in the same animal. As an example, within a protocol evaluating a drug's anti-arrhythmic effect, a dofetilide experiment (susceptibility test) has to be performed in the first CAVB experiment. In this experiment, new markers of arrhythmic susceptibility can be measured at the same time. As a result, 2 research objectives can be addressed in 1 animal.

An example illustrating the combination of research objectives in the same animal and within the same experiment is represented in Figure 6.

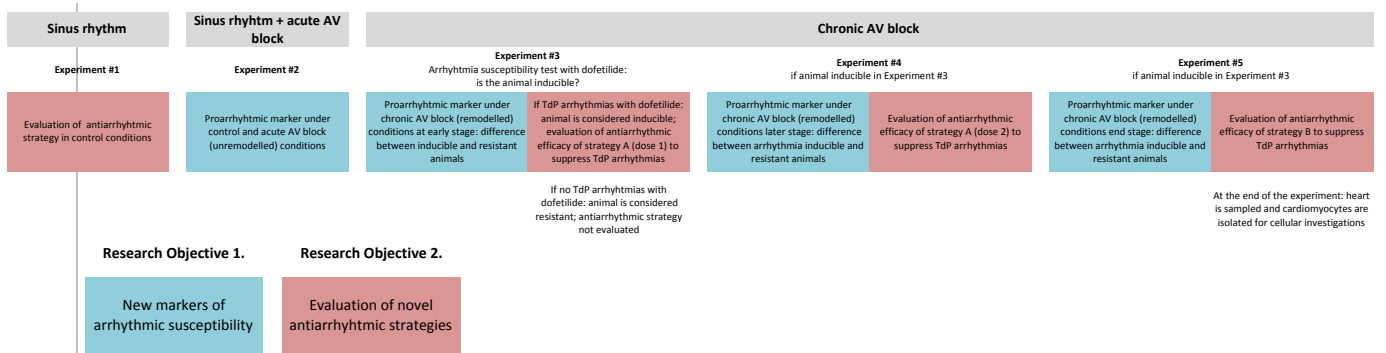


Figure 6. Flowchart of experiments addressing research objectives 1. and 2. (corresponding colors) to reduce animals and experiments.

Objective 3 (ventricular remodeling related to altered activation) cannot be combined to the other objectives. This objective will unravel the structural, mechanical and electrical remodeling processes occurring in chronically paced subjects. Vice-versa, since this remodeling process and its associated arrhythmia susceptibility remain to be characterized, novel antiarrhythmic interventions and markers for arrhythmic susceptibility will not be evaluated.

Altogether, the combination of re-use of animals and the investigation of research objectives within one single experiment greatly reduces the total amount of animals necessary.

B. The animals

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

All our research objectives will investigate ventricular arrhythmias, in the form of Torsade de Pointes arrhythmias, within different aspects; development of new markers of arrhythmic susceptibility, novel antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling. Cardiac arrhythmias, by definition, are the results of an altered electrical activity of the heart, which results in an inappropriate contractile function. This electrical activity is the consequence of the propagation of action potentials throughout the entire heart. As illustrated on Figure 7., action potential morphology varies significantly among animal species resulting from a different expression profile of cardiac ion (sodium, calcium and potassium) channels.

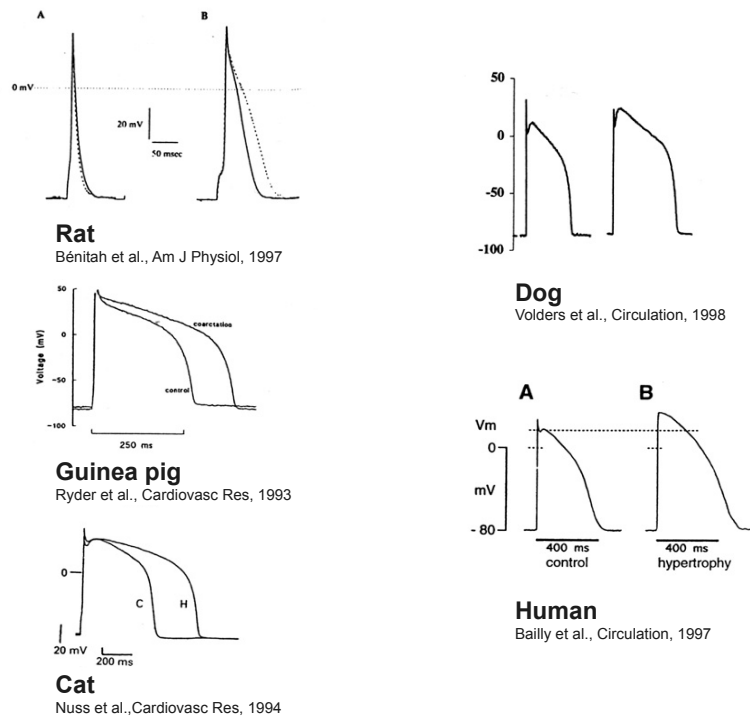


Figure 7. Cardiac action potentials in several animal species.

For each animal species, action potentials are depicted from control and hypertrophied conditions.

Therefore, to answer our research objectives, we require an animal species with electrophysiological characteristics similar as humans. Because those of the canine heart are the most comparable to human anatomy compared with other species such as rabbit, rats, mice, cats or pigs.

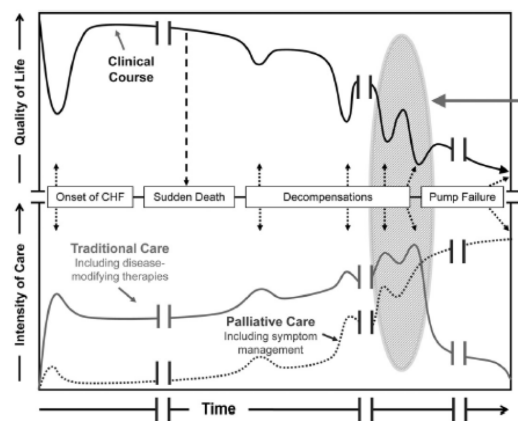


Figure 8. Clinical course of heart failure in patients

Moreover, the CAVB dog model (with or without RVA pacing) will be chosen, a model by which our department has extensive experience and collected over the years a large dataset to compare new experiments with. The incidence of TdP in the presence of ventricular remodelling and dofetilide is reproducible.

In addition, the CAVB dog model is a model of compensated hypertrophy, not of decompensated heart failure. As seen in figure 8, SCD in patients occurs predominantly in the compensated phase after an event (e.g. myocardial infarction). The CAVB dog model, in contrast to a heart failure model, represents the vulnerable patient who is at risk of arrhythmias. Therefore the CAVB model is the ideal model for assessment of new proarrhythmic markers.

Furthermore, the CAVB dog model allows serial testing decreasing the number of animals necessary for this research project.

Finally, the size of the dog heart allows the use of catheters and pacemaker leads, which are developed for human purposes and are easily available.

Animal experiments will be performed in adult mongrel dogs purchased from Marshall, USA. At the end of the terminal experiment, remodeled cardiomyocytes will be isolated from CAVB dogs for cellular investigations including functional and electrophysiological experiments: measurement of cardiac ion currents and action potentials in isolated cells as well as spontaneous electrical activity in multicellular preparations. These experiments can **only** be performed within the same day of cellular isolation for two main reasons. The first one is that over time, when put in culture for example, these adult cardiomyocytes do not exhibit the same electrophysiological and functional properties as when freshly isolated: the amplitude of the cardiac ion currents measured decreases in time and the kinetic characteristics (opening and closing) of the ion channels are altered. As a result, the morphology of the cardiac action potential is changed and no longer physiologically relevant. Because we intend to correlate findings between animal and cellular experiments, we therefore need freshly isolated adult cardiomyocytes displaying physiological features.

As a result, these cells cannot be cultured and maintained over time for multiple cellular experiments and only freshly isolated cells are needed for this purpose.

In addition, surplus adult Beagle dogs from another facility will be used. These animals have already undergone experiments and would otherwise have been terminated. These dogs have been used mainly for studies on medications, which will have been fully excreted by the time of arrival. Furthermore, no experiments that will influence the electrical remodeling of the heart have been performed on these dogs. These dogs will be anesthetized and euthanized and they are used solely for the isolation of unremodeled cardiomyocytes for cellular and molecular analyses (no other measurements or interventions are performed). These cells will serve as control for the remodeled cardiomyocytes isolated from CAVB dogs. Control cardiomyocytes are needed for comparison of electrophysiological properties with remodelled cardiomyocytes. To reduce the number of animals, these surplus dogs are reused. For the same reasons mentioned above, isolated cells from these animals can only be used within the day of cellular isolation for electrophysiological investigations.

Based on our throughput capacity and on the average amount of animals used over the past years (around 20 adult mongrel dogs from Marshall each year) we estimate to about 100 animals (from Marshall) for the coming 5 years.

The exact amount of surplus animals cannot be predicted accurately, but we have received an average amount of 8 adult Beagle dogs per year. The number of eight control dogs would be sufficient for comparison with the 20 experimental dogs per year.

Overall, an estimated amount of 140 animals will be used to answer our research objectives for the next 5 coming years.

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.

Animals will undergo a maximum of 6 anesthetized experiments.

The re-use of animals over serial experiment will first greatly reduce the total number of animals required. Second, our research objectives require serial experiments to evaluate the contractile, electrophysiological and structural mechanisms of cardiac remodeling after creation of AV block as well as the reproducibility of TdP arrhythmia.

Finally, it has not been observed in our multiple previous studies using the CAVB dog model that animals experience a higher discomfort related to the serial experiments.

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

Cardiac arrhythmias are the result of complex expression of multiple factors at both cellular and (in vivo) whole-heart levels. Computer modelling is not suitable for this purpose because of its lack mimicking complexity of interaction and activation of ion channels, pumps and transporters. The modulation of their expression and activation by the mechanical activity of the heart (via electro-mechanical feedback systems) is not modelled with the current computer modelling. This is also the case for in vitro (e.g. cell culture) as well as ex-vivo models (Langendorff experiments). Moreover, in vivo experiments integrate the contribution of the autonomic nervous system, a known keyplayer in the occurrence of cardiac arrhythmias. As an example, Langendorff experiment, performed in isolated hearts, is a well scientifically validated technique but still requires the use of animal and does not integrate the autonomic nervous system contribution. To date, computer modelling and cellular models are not suitable and enough developed to totally replace in vivo experiments for the evaluation the efficacy of new anti-arrhythmic drug. Furthermore, these models remain however useful to complement in vivo experiments.

Our research objective evaluating new marker in arrhythmic susceptibility aims to test the relation between post-extrasystolic potentiation and occurrence of arrhythmia. This is not possible to assess in vitro since arrhythmias will require cell-cell connections to begin and propagate. In addition, we are interested in potentiation of contractility of the heart as a whole and the influence of these mechanical properties (e.g. PESP) at organ level on electrophysiology. In addition, computer modelling cannot replace this model, since the exact precise mechanism of ventricular arrhythmias is unknown. The design contains a pacing protocol which could possibly induce ventricular arrhythmia. Therefore this experiment would be unethical to test in patients and to expose these patients to this risk. In addition, an invasive catheter is introduced to correlate PESP of LV dP/dt to non-invasive PESP. This would also expose patients to undesirable risks when this invasive procedure is for research purposes only.

Finally, our third research objective (ventricular remodeling related to altered activation) is to evaluate the cellular electrophysiological changes and mechanisms responsible for the adaptation of the heart to altered ventricular activation. As they are unknown, a computer model cannot replace the animal procedure. A cellular model is also not sufficient, as it is the in vivo cardiac adaptation based on mechanical and electrical activation we are interested in. With a cellular model, we cannot mimic the precise regional forces for instance. RVA pacing is a frequently used treatment modality in human. However, it is unethical to expose patients to a pro-arrhythmic drug several times. Moreover, we need cardiac tissue to obtain insight in the underlying cellular mechanisms associated with the cardiac remodeling which we can't obtain from patients in a sufficient manner.

Reduction

As mentioned above, reduction of the amount of animals will be achieved through the re-use of animals for several experiments. Moreover, several research objectives can be addressed within the same experiment and within the same animal. As an example, within a protocol evaluating a drug's anti-arrhythmic effect, a dofetilide experiment (susceptibility test) has to be performed in the first CAVB experiment. In this experiment, new markers of arrhythmic susceptibility can be measured at the same time. As a result, 2 research objectives can be addressed in 1 animal.

Altogether, the combination of re-use of animals and the investigation of research objectives within one single experiment greatly reduces the total amount of animals necessary.

See also Figure 5.

Refinement

An acclimatization period of 2 weeks will expire before the conduction of the first experiment. Sedative premedication as well as analgesics and antibiotics will be respectively administered before and after experiment, to maximally reduce any stress, discomfort or risk of infection. Experiments will be performed under general anesthesia during which a heating mattress and saline solution administration will be provided during each anesthetized experiments to prevent occurrence of hypothermia and fluid depletion. An interval of 2 weeks will be kept between 2 consecutive experiments to allow animals to recover. Furthermore, animals will be daily visited and pampered by animal caretakers and at least once

a week by a member of our department (Article 9 or technician). Unless impossible, animals will be pair-housed for social interaction and cages will be enriched with toys. Animals will have daily access to the outdoor backyard of the animal facility.

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

As mentioned before, an acclimatization period of 2 weeks will expire before the conduction of the first experiment. Sedative premedication as well as analgesics and antibiotics will be respectively administered before and after experiment, to maximally reduce any stress, discomfort or risk of infection. Experiments will be performed under general anesthesia during which a heating mattress and saline solution administration will be provided during each anesthetized experiments to prevent occurrence of hypothermia and fluid depletion. An interval of 2 weeks will be kept between 2 consecutive experiments to allow animals to recover. Furthermore, animals will be daily visited and pampered by animal caretakers and at least once a week by a member of our department (Article 9 or technician). Unless impossible, animals will be pair-housed for social interaction and cages will be enriched with toys. Animals will have daily access to the outdoor backyard of the animal facility.

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Animals will be first premedicated, including analgesic (methadone), antibiotic (ampicilin) and sedative treatments to minimise stress before induction of anesthesia. Experiments will be performed under general anesthesia. Postoperative care will be provided including antibiotic (ampicillin) and analgesic (buprenorphine) treatments.

In case of infection associated with fever, proper antibiotic care will be provided with antipyretic drug.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Other adverse effects that may occur include heart failure (see below Humane endpoints) which incidence is expected to be very low (<5%), and infection, despite systemic (intravenously before and intramuscularly after experiment,) and local (around body of pacemaker and the pacing lead) administration of antibiotics.

Explain why these effects may emerge.

Ablation of the AV node results in bradycardia. In a very few cases, bradycardia can be severe and the contractile function of the heart may not compensate properly the drop of heart rate. As a result, signs of acute heart failure symptoms may be observed in less than 5%.

Infection is another adverse effect that may emerge related to the implantation of the pacemakers and the pacing lead, although being sterile at the time of procedure and concomitant antibiotics.

In animals implanted with a pacemaker and chronically paced, a lead dislocation may happen. This will not result in any additional discomfort. However, the lead will have to be reimplemented as soon as possible.

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

In case of heart failure symptoms, diuretic treatment (furosemide) will be administered

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.

Evaluation of heart failure:

- behavioral changes: defensive/fearful (1), decreased food intake and/or drinking (2)
- signs of heart failure: dyspnea (2), non productive cough(1), weight increase (despite decreased intake) (2), expanded abdomen (2), shivering (2), piloerection and cold skin(2), weak pulse (1), cardiac examination (decreased heart sounds, crackles) (2)

If the calculated score is 3 or more, the decision to euthanize the animal will be taken.

Indicate the likely incidence.

Our extensive experience with the CAVB dog indicates that incidence of heart failure in this model is relatively low (~5%)

Moreover, since this CAVB model displays an enhanced susceptibility to TdP arrhythmias, some animals (less than 5%) may exhibit a sudden cardiac death phenotype by spontaneously developing fatal ventricular fibrillation in the stable.

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').

1. Evaluation of markers of susceptibility for arrhythmia (PESP)

Experiment	Procedure	Degree of discomfort
Sinus rhythm and acute AV block	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Antibiotic (pre and post-operative)	Moderate

conditions	- Sedation (pre-operative)	
	General anesthesia: - induced intravenously - maintained by inhalation	
	Femoral artery and vein catheterization	
	Finapress© non-invasive pressure recording	
	AV node ablation	
	Dofetilide administration (under acute AV block)	
	Pacing protocols (before and after dofetilide)	
Chronic AVB experiments	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Antibiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Moderate
	General anesthesia: - induced intravenously - maintained by inhalation	
	Femoral artery and vein catheterization	
	Finapress© non-invasive pressure recording	
	Dofetilide administration (under acute AV block)	
	Pacing protocols	
Last chronic AVB experiment	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Antibiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Non-recovery
	General anesthesia: - induced intravenously - maintained by inhalation	
	Femoral artery and vein catheterization	
	Finapress© non-invasive pressure recording	
	Dofetilide administration (under acute AV block)	
	Pacing protocols	
	Termination by excision of the heart	

2. Evaluation of novel antiarrhythmic strategies

Experiment	Procedure	Degree of discomfort
Sinus rhythm Electrophysiological effects	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Antibiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Moderate
	General anesthesia: - induced intravenously - maintained by inhalation	
	Femoral artery and vein catheterization	
	Drug administration intravenously	
	AV node ablation	
Chronic AVB experiment: Inducibility and suppressive antiarrhythmic test	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Antibiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Moderate
	General anesthesia: - induced intravenously - maintained by inhalation	
	Femoral artery and vein catheterization	
	- Dofetilide administration intravenously - Antiarrhythmic drug administration	
Chronic AVB	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative)	Moderate

Inducibility and preventive antiarrhythmic test	experiment:	- Anitbiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	
		General anesthesia: - induced intraveinously - maintained by inhalation	
		Femoral artery and vein catheterization	
		- Antiarrhythmic drug administration - Dofetilide administration intraveinously	
Last chronic AVB experiment		General anesthesia: - induced intraveinously - maintained by inhalation	Non-recovery
		Femoral artery and vein catheterization	
		Termination by excision of the heart	

3. Ventricular remodeling related to altered activation

Experiment	Procedure	Degree of discomfort
Sinus rhythm and acute AVB conditions	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Anitbiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Moderate
	General anesthesia: - induced intraveinously - maintained by inhalation	
	- Echocardiography - Cardiac imaging techniques - Pacemaker implantation	
	AV node ablation	
	Dofetilide administration	
Chronic AVB experiments	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Anitbiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Moderate
	General anesthesia: - induced intraveinously - maintained by inhalation	
	- Echocardiography - Cardiac imaging techniques	
	Dofetilide administration	
Last Chronic AVB experiment	Premedication: - Analgesic (pre and post-operative) - Anitbiotic (pre and post-operative) - Sedation (pre-operative)	Non-recovery
	General anesthesia: - induced intraveinously - maintained by inhalation	
	- Echocardiography - Cardiac imaging techniques	
	Dofetilide administration	
	Termination by excision of the heart	

A control ECG will be recorded under awake conditions the day after each anesthetized experiments. The expected severity of this procedure is mild.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

Cellular experiments performed in cardiomyocytes isolated from animals are necessary to answer the research objectives 2. and 3.

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

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

Yes

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : 2016.II.529.002
2. Titel van het project : Torsade de Pointes arrhythmia: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling
3. Titel van de NTS : Ontwikkeling van behandeling van hartritmestoornissen.

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: 05-02-2016
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 17-02-2016 en 16-03-2016
 anderszins behandeld:
 termijnonderbreking(en) van / tot : 19-02-2016 tot 04-03-2016
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 20-04-2016

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: 19-02-2016
- Strekking van vragen:

Algemeen

- De DEC verzoekt u de opmerkingen van de IvD te verwerken in uw aanvraag. Graag aandacht voor de controledieren aantallen onderbouwing.

Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: Volgens de DEC lopen de verschillende doelstellingen uiteen, waardoor de DEC twijfels heeft of er sprake is van een toetsbare eenheid. De DEC adviseert u dan ook om voor wat betreft het onderwerp veiligheid (het testen van geneesmiddelen op inductie van hartritmestoornissen) een aparte aanvraag (eerste project) in te dienen. Bovendien adviseert de DEC u in het tweede project de samenhang tussen de verschillende doelstellingen duidelijker te beschrijven. In het kader van ons advies moet voor het veiligheidsproject ook het 3e vakje onder 2.1. aangekruist worden.
- 3.1 Achtergrond: De DEC verzoekt u te beginnen met het beschrijven van de pathogenese van de patiënten en vervolgens het diermodel te beschrijven en aan te tonen dat dit model een goed equivalent is voor de bevindingen bij de patiënten.

- Datum antwoord: 04-03-2016

Strekking van de antwoorden:

- Het project is herschreven op basis van de adviezen van de DEC.

- 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 doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. In ontwikkelde landen zijn cardiovasculaire aandoeningen de grootste oorzaak van morbiditeit en mortaliteit, ondanks de beschikbare therapeutische mogelijkheden. Ongeveer de helft van de cardiovasculaire sterfte wordt veroorzaakt door ritmestoornissen. Wanneer er sprake is van een hartziekte/falen, zal het hart door de verhoogde stress die het ondervindt proberen zich aan te passen, zodat het zijn normale knijpfunctie kan behouden (remodelling). Deze aanpassingen maken het hart gevoelig voor ritmestoornissen. Een van de ritmestoornissen die kan ontstaan is de Torsade de Pointes (TdP) ritmestoornis. Wanneer deze ritmestoornis niet wordt beëindigd treedt ventriculaire fibrillatie op met de plotselinge dood als gevolg. De therapeutische toepassingen om ventriculaire fibrillatie te behandelen zijn beperkt. Een groot deel van de beschikbare medicatie die ritmestoornissen tegengaat geeft negatieve bijwerkingen op hartfunctie en elektrische geleiding, twee aspecten die al aangetast zijn tijdens hartfalen. De ontwikkeling van nieuwe en veilige therapeutische toepassingen om hartritmestoornissen tegen te gaan is van substantieel belang, omdat deze de morbiditeit en mortaliteit in patiënten die lijden aan cardiovasculaire aandoeningen terug kunnen dringen. Dit project onderzoekt parameters die de risico's voor ritmestoornissen voorspellen (doelstelling 1), nieuwe behandelingen om ritmestoornissen tegen te gaan (doelstelling 2) en de relatie tussen remodelling en aangepaste activatie van het ventrikel (doelstelling 3).

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De fysiologie van elektrische signaalgeleiding in het hart verschilt per diersoort. De elektrofysiologie van de hond komt het meest overeen met de humane situatie en wordt daarom veelvuldig gebruikt in onderzoek naar ventrikel remodelling en geassocieerde ritmestoornissen van het ventrikel. In het chronische atrioventriculaire blok (CAVB) model wordt de atrioventriculaire knoop verwijderd waardoor bradycardie optreedt. Chronische bradycardie in de hond leidt tot een remodelling van het hart welke vergelijkbaar is met remodelling die typerend is voor hartfalen bij de mens. Honden zijn na remodelling gevoelig voor het ontwikkelen van ritmestoornissen (TdP) wanneer zij worden blootgesteld aan dofetilide. Het CAVB model zal gebruikt worden om de drie verschillende – maar met elkaar samenhangende – doelstellingen te bereiken. Voor de eerste doelstelling zullen niet-invasief en invasief gemeten parameters worden onderzocht om het risico op ritmestoornissen te bepalen. Het onderzoeken van medicatie om hartritmestoornissen tegen te gaan (tweede onderzoeksdoel) zal plaatsvinden in honden die TdP ritmestoornissen vertonen. Om de relatie tussen remodelling en aangepaste activatie van het ventrikel te bepalen zal een serie experimenten in dezelfde hond worden uitgevoerd waarbij controle ritme en acute en chronische atrioventriculaire blok worden gerelateerd aan het ontstaan van ritmestoornissen door blootstelling aan dofetilide. De hartfunctie van de hond zal worden gecorreleerd aan de fase van remodelling. Een samenvattende omschrijving van de verschillende experimenten per doelstelling is weergegeven in tabel 1 (sectie 3.4.2). De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager

over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen 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)
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Elke hond zal voor maximaal 6 experimenten worden ingezet. Het cumulatieve ongerief dat elk van de honden zal ondervinden in de verschillende experimenten wordt ingeschat als matig. Verwacht wordt dat ongeveer 5% van de honden het humane eindpunten zal bereiken door het ontwikkelen van hartfalen, en minder dan 5% plotselinge sterft ten gevolg van fatale ventrikel fibrillaties.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. Complexe interacties op cel en orgaanniveau spelen een grote rol tijdens hartritmestoornissen. *In vitro* (celkweek), *ex vivo* (Langendorff opstelling) of computermodellen kunnen *in vivo* experimenten ondersteunen, maar zijn niet geavanceerd genoeg om *in vivo* experimenten te vervangen, mede door de interactie met het centrale zenuwstelsel. Voor het onderzoek naar nieuwe markers betrokken bij de gevoeligheid voor ritmestoornissen vraagt om cel-cel interactie voor de elektrische geleiding. Daarnaast zijn de mechanismen achter de elektrofysiologische veranderingen en de ventrikel remodelling nog niet duidelijk waardoor het niet mogelijk is dit te onderzoeken met een computermodel.
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. Met behulp van gegevens uit eerder uitgevoerde vergelijkbare experimenten zal voorafgaand aan de experimenten het benodigde aantal dieren middels een poweranalyse bepaald worden. Het onderzoek is zo opgezet dat honden in verschillende opeenvolgende experimenten kunnen worden ingezet, en dat per experiment en binnen één hond meerdere onderzoeksvragen kunnen worden onderzocht. Door deze opzet zijn aanzienlijk minder honden nodig dan wanneer elke onderzoeksvraag per hond in een apart experiment onderzocht zou worden.

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De onderzoeksgroep heeft uitgebreide ervaring met het CAVB hondenmodel en het beoordelen van de effecten van medicijnen op ritmestoornissen. Om stress en ongemak zoveel mogelijk te beperken worden adequate en op de experimentele handelingen afgestemde analgesie- en anesthesieprotocollen toegepast. Om het risico op infectie tot een minimum te beperken worden antibiotica verstrekt. Door de honden tijdens een experiment onder anesthesie op een warmtemat te leggen en een fysiologische zoutoplossing toe te dienen worden onderkoeling en uitdroging voorkomen. Tussen twee experimenten krijgen de honden twee weken de tijd om te herstellen. Gedurende deze periode worden gezondheid en welzijn van de honden nauwlettend gemonitord.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De DEC oordeelt unaniem dat de doelstellingen van het project het voorgestelde gebruik van honden rechtvaardigt. De huidige medicijnen tegen hartritmestoornissen kunnen hartritmestoornissen niet goed voorkomen. Daarnaast kan deze medicatie als bijwerking juist hartritmestoornissen opwekken. De DEC is van mening dat dit voorgestelde onderzoek naar nieuwe parameters om het risico op hartritmestoornissen beter te voorspellen en nieuwe behandelingen om ritmestoornissen tegen te gaan van groot belang is voor het ontwikkelen van nieuwe en verbeterde behandelingen van patiënten met hartfalen die het risico lopen hartritmestoornissen te ontwikkelen. Het gebruik van honden is in de ogen van DEC noodzakelijk voor het onderzoek met betrekking tot deze doelstellingen. De mogelijkheden tot vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven zijn onderzocht en optimaal toegepast binnen de onderzoeksstrategie. Daarnaast zijn de humane eindpunten zo bepaald dat de honden onnodig ongerief bespaard blijft. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het belang van de doelstellingen opweegt tegen het matige ongerief dat de honden in dit project zullen ondervinden, en dat het gebruik van de honden ethisch aanvaardbaar is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Dierexperimentencommissie Utrecht



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht



Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie


Aanvraagnummer
AVD115002016531

Bijlagen

2

Datum 29 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 29 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD115002016531. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.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.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11500
Naam instelling of organisatie: UMC Utrecht
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: ██████████
KvK-nummer: 30244197
Postbus: 12007
Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT
IBAN: NL27INGB0000425267
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Universiteit Utrecht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: ██████████
Functie: ████████████████████
Afdeling: ████████████████████████████████████████████████████████████
Telefoonnummer: ██████████
E-mailadres: ████████████████████

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]

Functie: [REDACTED]

Afdeling: [REDACTED]

Telefoonnummer: [REDACTED]

E-mailadres: [REDACTED]

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 juni 2016

Geplande einddatum: 31 mei 2021

Titel project: Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular Remodeling

Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van anti-aritmische therapieën, pro-aritmische screening van medicatie en risicopredictie van hartritmestoornissen

Naam DEC: DEC Utrecht

Postadres DEC: 85500 3508 GA Utrecht

E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 935,-

De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen: DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Utrecht
Datum: 28 april 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC
Postbus 80011
3508 TA UTRECHT


**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD115002016531
Bijlagen
2

Datum 29 april 2016
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur
Factuurdatum: 29 april 2016
Vervaldatum: 29 mei 2016
Factuurnummer: 16700531
Ordernummer: CB. 841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD115002016531	€ 935,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

[Redacted]

Van: [Redacted]
Verzonden: donderdag 26 mei 2016 10:58
Aan: 'info@zbo-ccd.nl'
CC: [Redacted]
Onderwerp: RE: vraag bij AVD115002016531

Geachte [Redacted]

Namens de onderzoeker [Redacted] kan ik u melden dat zowel reuen als teven worden ingezet in het project. (zie emails hieronder).

Met vriendelijke groet,

[Redacted]

[Redacted] | [Redacted] | [Redacted] | [Redacted] | [Redacted] | [Redacted]
[Redacted] Utrecht
[Redacted] | [Redacted] | [Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Van: [Redacted]
Verzonden: donderdag 26 mei 2016 10:04
Aan: [Redacted]
CC: [Redacted]
Onderwerp: Re: vraag bij AVD115002016531

Dear [Redacted]

We will indeed use both genders (male and female dogs) for our project.

Kind regards,

[Redacted]

[Redacted]
[Redacted]
University Medical Center Utrecht
[Redacted]
The Netherlands
Tel: [Redacted]
Fax: [Redacted]

E-mail: [redacted]

On 23 May 2016, at 16:44, [redacted] wrote:

Dear [redacted]

To be sure I send this email also in English to you and [redacted]
The CCD has an additional question:

“Uit uw aanvraag wordt niet duidelijk of u zowel reuen als teven inzet voor uw project. Kunt u dit nog verduidelijken?”

“From your application is not clear or you use both males and females in your your project. Can you clarify?”

Can you send your reply to me?

Then I will forward your reply to the CCD.

Kind regards,

[redacted]

[redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted] | [redacted]
[redacted] Utrecht
[redacted] | [redacted] | [redacted]
[redacted] [redacted]
<image003.png>

Van: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Verzonden: maandag 23 mei 2016 16:09
Aan: [redacted]
Onderwerp: vraag bij AVD115002016531

Geachte [redacted], Leden van IvD Utrecht,

Bij de behandeling van uw aanvraag tot project vergunning hebben wij nog een vraag. Het betreft uw project “Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling” met aanvraagnummer AVD115002016531. Uit uw aanvraag wordt niet duidelijk of u zowel reuen als teven inzet voor uw project. Kunt u dit nog verduidelijken?

Met vriendelijke groet, [redacted]

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....
T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

De informatie opgenomen in dit bericht kan vertrouwelijk zijn en is uitsluitend bestemd voor de geadresseerde. Indien u dit bericht onterecht ontvangt, wordt u verzocht de inhoud niet te gebruiken en de afzender direct te informeren door het bericht te retourneren. Het Universitair Medisch Centrum Utrecht is een publiekrechtelijke rechtspersoon in de zin van de W.H.W. (Wet Hoger Onderwijs en Wetenschappelijk Onderzoek) en staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel voor Midden-Nederland onder nr. 30244197.

Denk s.v.p aan het milieu voor u deze e-mail afdrukt.

This message may contain confidential information and is intended exclusively for the addressee. If you receive this message unintentionally, please do not use the contents but notify the sender immediately by return e-mail. University Medical Center Utrecht is a legal person by public law and is registered at the Chamber of Commerce for Midden-Nederland under no. 30244197.

Please consider the environment before printing this e-mail.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UMC Utrecht

t.a.v. Instantie voor Dierenwelzijn
Postbus 12007
3501 AA Utrecht

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD115002016531

Uw referentie

Bijlagen

1

Datum 8 juni 2016

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 29 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular Remodeling" met aanvraagnummer AVD115002016531. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 23 mei 2016 hebben wij u gevraagd of u beide geslachten inzet in uw project. Op 26 mei 2016 heeft u de vraag beantwoord: u zet beide geslachten in voor uw project. Dit is toegevoegd aan het dossier en meegewogen in de besluitvorming.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1sub a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular Remodeling" starten. De vergunning wordt afgegeven van 8 juni 2016 tot en met 31 mei 2021. De startdatum wijkt af van uw aanvraag omdat deze in het verleden ligt.

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloopdossier bijgehouden worden.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 20 april 2016. 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. Dit advies van de commissie, nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden twee aanvullende voorwaarden gesteld. Het DEC-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.

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

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in de 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.centralecommissiedierproeven.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: UMC Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en woonplaats: 3501 AA Utrecht
Deelnemersnummer: 11500

deze projectvergunning voor het tijdvak 8 juni 2016 tot en met 31 mei 2021, voor het project "Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular Remodeling" met aanvraagnummer AVD115002016531, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 29 april 2016
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 29 april 2016;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 29 april 2016
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie dd 20 april 2016, ontvangen op 29 april 2016;
 - d. De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 26 mei 2016.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling	Honden (Canis familiaris) / mongrel dogs, Marshall USA	100	Matig	
Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular remodeling	Honden (Canis familiaris) / beagles	40	Licht	Honden surplus voor het verzamelen van verse cardiomyocyten

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

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning.

Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

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.

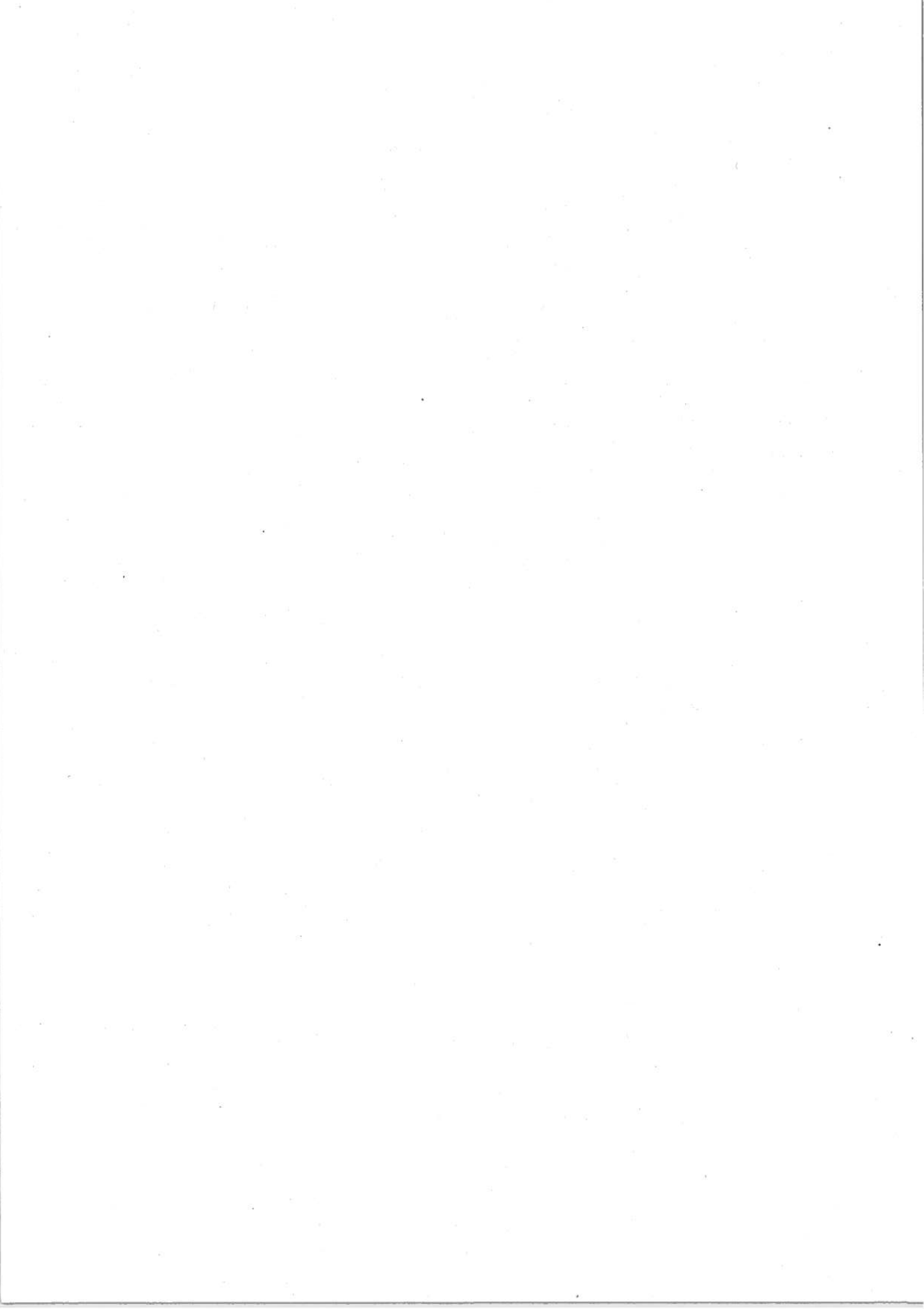
Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

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.

Levensloofdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloofdossier bijgehouden worden.





Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: donderdag 16 juni 2016 12:38
Aan: 
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD115002016531

Geachte DEC Utrecht,

Op 29-04-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Torsade de Pointes arrhythmias: proarrhythmogenesis, antiarrhythmic strategies and ventricular Remodeling' met aanvraagnummer AVD115002016531.

Wij hebben de onderzoeker gevraagd of beide geslachten dieren worden ingezet.

De CCD heeft besloten uw advies te volgen en deze aanvraag te vergunnen. De aanvrager is van dit besluit op de hoogte gesteld.

Aan de vergunning zijn twee algemene voorwaarden verbonden.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

.....
T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl