



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 10800 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="1"> <tr> <td>Naam instelling of organisatie</td> <td>Universiteit Utrecht</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td>[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>3 0 2 7 5 9 2 4</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]	KvK-nummer	3 0 2 7 5 9 2 4									
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. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table border="1"> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Bolognalaan 50</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td>12007</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>3501AA Utrecht</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL27INGB0000425267</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>Universiteit Utrecht</td> </tr> </table>	Straat en huisnummer	Bolognalaan 50	Postbus	12007	Postcode en plaats	3501AA Utrecht	IBAN	NL27INGB0000425267	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht					
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.	<table border="1"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]	
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie	[REDACTED]																
Afdeling	[REDACTED]																
Telefoonnummer	[REDACTED]																
E-mailadres	[REDACTED]																
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td>[REDACTED]</td> <td></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]	
(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 | 0 1 _ 0 6 _ 2 0 1 6 |
| Einddatum | 0 1 _ 0 6 _ 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Vaccinatie studie tegen coronavirussen in de kat
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Vaccinatie studies bij de kat
- 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 € 1.187,00 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
- 2 x bijlage beschrijving dierproeven

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

Datum

Handtekening

Utrecht
 15-01-2016



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.

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

Vaccinaties vormen een effectieve methode ter bescherming tegen infectieziekten bij mens en dier. Van alle medisch handelen is vaccinatie veruit de meest (kosten-) effectieve, levens- en lijdensbesparende ingreep. Zo worden virusinfecties al decennialang bestreden door vaccins welke gebaseerd zijn op verzwakte of geïnactiveerde viruspreparaten, de zgn. klassieke vaccins. Door de technologische ontwikkelingen en de voortschrijdende inzichten in de immunologie en in de werkzaamheid van vaccins en adjuvantia zijn gedurende de laatste decennia vele nieuwe vormen van vaccins, adjuvantia en applicatiemethoden ontwikkeld waardoor de effectiviteit van de bescherming, de veiligheid (m.n. de bijwerkingen) en de beschikbaarheid van vaccins sterk zijn toegenomen.

Coronavirussen veroorzaken bij de kat naast enterale infecties (veroorzaakt door feline enterale coronavirus: FECV) ook een ernstige fataal verlopende systemische infectie genaamd Feline infectieuze peritonitis (FIP, veroorzaakt door FIPV). Verschillende experimentele vaccins zijn ontwikkeld maar deze geven geen of onvoldoende bescherming. Tegen FIPV is ooit een vaccin op de markt gebracht; het gebruik daarvan werd echter door de veterinaire beroepsverenigingen ontmoedigd wegens onvoldoende bewezen werkzaamheid in het veld en is in Nederland niet meer geregistreerd (Pedersen et al., 2014).

Enkele van de experimentele vaccins induceerden juist een versneld en ernstiger ziektebeeld (vaccin-induced enhancement of disease). Onderzoek aan de ontwikkeling van nieuwe en/of verbeterde vaccins en vaccinatiemethoden zal derhalve nog lang een belangrijke noodzaak blijven.

De te ontwikkelen vaccins hebben tot doel het opwekken van een solide immuniteit ter voorkoming of vermindering van de ernst en aard van klinische verschijnselen na een infectie. Daarnaast zal door het voorkómen van de infectie of reductie van virusvermeerdering het risico op transmissie worden verkleind. In dit experimentele stadium van vaccinontwikkeling kan het effect op klinische verschijnselen na een challenge infectie als belangrijkste uitleesparameter worden gezien. Echter het ontbreken of verminderen van klinische verschijnselen in de geïmmuniseerde dieren is het directe gevolg van de remming van de virusvermeerdering door de geïnduceerde immuunrespons. Voor het bepalen en begrijpen van de effectiviteit van vaccinatie strategieën zijn daarom niet alleen de klinische verschijnselen, maar ook andere parameters relevant, zoals de inductie van humorale en cellulaire immuniteit en het effect op de virusload in verschillende monsters (bloed, se- en excreta). In de immunisatie proeven, die voorafgaan aan de vaccinatie/challenge proeven zoals beschreven in de onderzoeksstrategie (3.4.1) wordt de inductie van de immuunrespons als een voorspellende waarde gezien voor de effectiviteit van het vaccin. De effectiviteit van het vaccin wordt vervolgens getest in een vaccinatie/challenge experiment."

We zullen ons richten op levend geattenuerde virusvaccins alsmede op geïnactiveerde en/of subunit vaccins. De levend geattenuerde vaccins zullen o.a. op

een gerichte manier gemaakt worden met behulp van reverse genetics [redacted]; Li et al., 2013). We streven hierbij naar virussen die wel een beschermende immuunrespons opwekken, maar die de dieren niet ziek maken. Voor de geïnactiveerde/subunit vaccins zullen we ons voor feline coronavirus (FCOV) richten op de inductie van mucosale immuniteit omdat we verwachten dat vaccin-induced enhancement of disease, die voor andere vaccins geobserveerd is, hiermee voorkomen kan worden. Voor FCOV vaccins zullen we ons bovendien niet alleen richten op bescherming tegen de dodelijke systemische variant FIPV maar ook richten op de bescherming tegen (relatief onschuldige) enterale stammen (FECV). Het FIPV ontstaat namelijk door mutaties in het FECV in de met FECV geïnfecteerde kat. Dieren worden dan ook niet besmet met de dodelijke variant, maar met de enterale stam [redacted]. Vanuit de enterale stam ontwikkelt zich een virulente FIP stam in de kat zelf. Aangezien FIPV ontstaat uit FECV, verwachten we dat bescherming tegen FECV indirect ook zal beschermen tegen FIPV. De subunit vaccins zullen uit verschillende vormen van recombinante eiwitten bestaan. [redacted]

Gezien de ethische en kostenaspecten van dergelijke studies wil de afdeling zich hierbij in principe steeds verzekeren van de interesse van vaccinbedrijven om de te ontwikkelen vaccins bij gebleken succes ook daadwerkelijk te doen registreren en in de praktijk toe te passen. Niet zelden wordt de afdeling vanwege haar expertise zelf door een vaccinbedrijf benaderd. Door deze betrokkenheid van de vaccinindustrie kan het onderzoek mede profiteren van de praktijkervaring en deskundigheid bij de bedrijven.

Referenties

1. [redacted]
2. [redacted]
3. [redacted]
4. Pedersen NC. An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. Vet J. 2014 Aug;201(2):123-32.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- d) 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?
- e) In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

De algemene doelstelling van het project is de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde vaccins en vaccinatiemethoden ter bescherming tegen coronavirus infecties in de kat.

Ons laboratorium heeft gedurende tientallen jaren van onderzoek aan vaccins grote ervaring en expertise op dit terrein opgebouwd. Het heeft zich daarbij vooral gespecialiseerd in het maken van nieuwe vormen van verzwakte levende virussen en van recombinante virale antigenen, in het uittesten daarvan in combinatie met bestaande of nieuwe adjuvantia en in het toedienen van de preparaten via bekende of nieuwe applicatieroutes.

Op grond van onze ervaring met betrekking tot de ontwikkeling van verzwakte levende virussen en recombinant virale antigenen waarop dit project voortborduurde, en onze samenwerking met partners uit het bedrijfsleven, ID-Lelystad, alsmede academia in binnen- en buitenland, denken we dat de haalbaarheid van het project groot is.

3.3 Belang

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

Goede vaccins bieden de meest effectieve bescherming tegen infecties. Met het ontwikkelen en naar de markt brengen van dergelijke vaccins is derhalve een groot gezondheids- en dus maatschappelijk belang gediend. Het onderzoek aan vaccinontwikkeling en vaccinverbetering dient bovendien ook een wetenschappelijk doel, aangezien de verworven inzichten sterk bijdragen aan onze kennis over infectieziekten en immunologie en over de pathogenese van infecties.

Over het specifieke belang van vaccins tegen de in dit project bedoelde virussen is in bovenstaande al het een en ander opgemerkt. Hieraan kan nog het volgende worden toegevoegd. De meest gevreesde virusinfectie bij katten is feline infectieuze peritonitis (FIP), veroorzaakt door het coronavirus FIPV. De infectie is lethaal en er bestaat geen enkele behandeling tegen noch een effectief commercieel vaccin, ondanks veel inspanningen. Infecties met FCoV zijn endemisch binnen de kattenpopulatie en binnen groepen katten is meestal 80-90% seropositief. Van de FCoV geïnfecteerde katten ontwikkelt ruwweg 5% de letale FIP infectie. Door onderzoek [REDACTED] is recentelijk vast komen te staan dat FIPV ontstaat door mutatie van een ander kattencoronavirus, het feline enteric coronavirus FECV [REDACTED]. Onze ontdekking vormde de basis voor een diagnostische test, door IDEXX op de markt gebracht, waarmee FIP in katten kan worden vastgesteld. Momenteel impliceert dit resultaat het advies aan de eigenaar om de kat in te laten slapen. De nieuwe inzichten bieden nu echter nieuwe aanvullende ideeën voor vaccinontwikkeling, welke niet alleen meer gericht zijn op FIPV maar ook op het voorkomen van infectie door de bron: FECV [REDACTED]. De resultaten verkregen met de vaccinatie studies met feline coronavirussen zal ook bijdragen aan onze kennis met betrekking tot vaccinontwikkeling aan andere coronavirussen. Bijvoorbeeld, een virus waar recent meer aandacht voor bestaat is het coronavirus van het varken, het porcine epidemische diarreevirus (PEDV) waarvoor ook nog geen effectief vaccin is ontwikkeld.

1. [REDACTED]

2. [REDACTED]

3.4 Onderzoeksstrategie

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

In de algemene opzet van het project kunnen in principe 3 stadia worden onderscheiden: in vitro onderzoek, immunisatiestudies en vaccinatie/challenge studies.

In vitro onderzoek

Voordat de vaccinkandidaten in de immunisatiestudies getest worden, worden ze uitgebreid geanalyseerd in vitro. Dit betreft met name onderzoek naar de antigeniciteit van de vaccinkandidaten (aanwezigheid van de juiste epitopen). Dit wordt onderzocht met behulp van ELISA, maar ook met biolayer interferometry. De levend verzwakte virussen worden uitgebreid in vitro getest op hun groeicapaciteiten, bv door het maken van one-step en multi-step groeicurves. Alleen vaccinkandidaten met een juist antigeniciteitsprofiel worden op hun immunogeniciteit onderzocht.

Immunisatiestudies

In het eerste stadium van de dierproeven worden de in het laboratorium bereide vaccinkandidaten (geïnactiveerde virussen, recombinante eiwitten of peptiden) onderzocht op hun immunologische werkzaamheid (immunogeniciteit) in modeldieren tenzij deze gegevens reeds beschikbaar zijn uit eerdere experimenten of literatuur. Vaccins dienen immers wel de bedoelde immuniteit (doorgaans antilichamen, soms cellulaire immuniteit) te induceren. Daartoe worden de vaccins, al dan niet opgenomen in een adjuvans, toegediend aan het dier door inspuiting (b.v. intramusculair, intradermaal of intra peritoneaal) of door bv orale, intranasale of rectale, of inhalatie-toediening, waarna een aantal effectiviteitsparameters wordt gemonitord b.v. door afname en analyse van lichaamsmonsters zoals feces, bloed of speeksel. Effecten op de gezondheid (veiligheid vaccin preparaat) worden ook in het modeldier meegenomen zoals bijv weging en temperatuurbepaling van de dieren

Vaccins gebaseerd op gedode virussen, (recombinante) eiwitten of peptiden worden doorgaans opgenomen in een adjuvans om het immuunsysteem te prikkelen. Herhaalde toediening is doorgaans noodzakelijk om de immuniteit voldoende te stimuleren. Aangezien adjuvantia van invloed zijn op de immunogeniciteit van de antigenen zullen verschillende adjuvantia onderzocht worden. Hierbij kan gedacht worden aan bv water-in-olie adjuvantia, AIOH, en ISCOM Matrix M (intramusculaire vaccinatie) en bacterial-like particles (mucosale vaccinatie). Welke vaccin-adjuvans combinaties getest zullen worden, is o.a. afhankelijk van ervaringen uit eerdere vaccinatie experimenten en gegevens uit de literatuur en zullen in een later stadium per dierproef bepaald worden. Er zal een standaard hoeveelheid van de verschillende antigenen worden toegediend die gebaseerd is op onze ervaringen en op de literatuur.

Het gebruik van muizen voor het testen van verschillende vaccin-adjuvans combinaties heeft verschillende voordelen zoals,

1. Grote toolbox muis maakt het mogelijk om immunoresponsen goed te analyseren.
2. Proeven kunnen snel worden uitgevoerd (tijdsbesparing)
3. Financiële redenen
4. Het gebruik van inbred dieren zal leiden tot een lager proefdiergebruik.

Voor een beperkt aantal vaccins willen we uitgebreid serologisch onderzoek doen om te kijken in hoeverre de geïnduceerde antilichamen kruisreageren met verschillende virusstammen (breedte immunerespons). Omdat muizen voor dit doel niet voldoende bloed hebben zullen we de immunisaties uitvoeren in konijnen. Muis en konijn zijn geaccepteerde modeldieren voor het testen van vaccins bedoeld voor andere zoogdieren.

Vaccinatie/challengestudies

Als potentiële vaccinkandidaten zijn geselecteerd o.a. op basis van positieve immunisatiestudies (dwz. de bedoelde immunoparameters zoals antilichamen, en/of CTL's etc. worden zonder onacceptabele bijwerkingen geïnduceerd), wordt in het tweede stadium de daadwerkelijke bescherming van de dieren getest door een zgn. challenge infectie met het virus waartegen bescherming wordt beoogd. Hiertoe dient een zgn. challenge-model te worden gebruikt om het beschermende effect van de voorafgaande vaccinatie vast te kunnen stellen. Voor de felene coronavirussen FIPV en FECV zijn deze challenge-systemen (en de betreffende virus-stocks) al beschikbaar. De bescherming door de vaccinatie wordt bepaald door verschillende klinische verschijnselen te monitoren. Tevens worden virologische parameters, met name de uitscheiding van het challengevirus vastgesteld in speeksel en/of feces. Afhankelijk van de infectie in

kwestie worden de dieren na enkele dagen of weken geëuthanaseerd, met dien verstande dat dieren die niet beschermd zijn en ziek worden voortijdig worden geëuthanaseerd op grond van de voor de betreffende infectie vooraf vastgestelde humane eindpunten.

De levende vaccins bestaan uit replicerende virussen die op allerlei manieren kunnen zijn verzwakt. Waar het hierbij om gaat is dat het virus zijn ziekteverwekkend vermogen (vrijwel) geheel moet zijn verloren maar nog wel voldoende immuniteit kan induceren. Wat hierbij als "voldoende" kan worden beschouwd is soms af te leiden uit de waarde van bepaalde parameters (b.v. neutraliserende antilichaam titers), maar dient uiteindelijk proefondervindelijk in een challenge experiment te worden vastgesteld. De veiligheid van specifieke levende katten coronavirus vaccins kan alleen in het doeldier worden onderzocht hetgeen een onderdeel is van de vaccinatie/challenge studies.

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

De onderzoeksstrategie als hierboven beschreven (3.4.1), wordt vertaald in hoofdlijnen, hier in het kort weergegeven.

Voor alle vaccinatieproeven geldt in principe de volgende opzet: immunisatie(s) en daaropvolgend gezondheidsmonitoring van de dieren, waarna bescherming wordt getest door challenge-infectie en gezondheidsmonitoring. Aan het eind van de proef, of zoveel eerder als ethisch noodzakelijk is, worden de dieren geëuthanaseerd. Voor katten met een FECV challenge zal euthanasie niet altijd noodzakelijk zijn.

De volgende onderdelen waarvoor dierproeven zijn vereist kunnen worden onderscheiden:

1. Testen van verschillende antigeen-adjuvans combinaties in de muis (immunisatieproef)
Immunogeniciteit van verschillende (recombinant) viruseiwitten of geïnactiveerde virussen in aanwezigheid van verschillende adjuvantia wordt getest. Screening op antilichamen in bloed en mucosae. Tevens monitoring op eventuele bijwerkingen
2. Testen van geselecteerde antigeen-adjuvans combinaties in het konijn (immunisatie proef)
Dit wordt uitgevoerd indien er meer serum nodig is voor uitgebreide serologie
3. Testen van bescherming tegen FCOV in de kat (vaccinatie-challenge experimenten in doeldier)
Immunisatie met geselecteerde kandidaat vaccins waarna monitoring op bijwerkingen en analyse van de immunrespons (systemisch en/of mucosaal). Na immunisatie wordt een challenge infectie uitgevoerd en het verloop van de infectie gemonitord

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.

Na uitgebreide in vitro analyse (o.a. op antigeniciteit) zullen geselecteerde vaccinkandidaten getest worden op hun immunogeniciteit voor zover deze gegevens nog ontbreken. Deze proeven zullen met name gebeuren in de modeldieren muis en, als er grotere hoeveelheden serum nodig zijn voor uitgebreide analyses, mogelijk ook in konijn. De gegevens uit de in vitro analyse en eventueel aanvullende immunisatiestudies zullen leiden tot een selectie van vaccinkandidaten (goede inductie van immunrespons [hoogte en breedte] en weinig bijwerkingen). Indien potentiële kandidaten zijn vastgesteld (go/no go beslissing) worden deze vervolgens in challenge experimenten in de kat getest. De beschreven samenhang en volgorde van de immunisaties, de monitoring en de daaropvolgende challenge infectie zijn logisch en vormen de standaardprocedure voor dit soort studies.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Immunisatie van modeldieren (muis, konijn)
2	Vaccinatie-challenge experimenten met FCOV
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10800				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Universiteit Utrecht				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Immunisatie van modeldieren (muis, konijn)</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Immunisatie van modeldieren (muis, konijn)
Volgnummer	Type dierproef					
1	Immunisatie van modeldieren (muis, konijn)					

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.

Vaccinkandidaten zullen eerst in vitro worden geanalyseerd (o.a. antigeniciteit). Geselecteerde vaccinkandidaten zullen of direct in het doeldier of eerst in modeldieren (muis, konijn) getest worden voordat deze in de doeldier kat zullen worden toegepast. Het doel van de immunisatie-experimenten in modeldieren is dan het vaststellen van de beste antigenen (recombinant eiwitten, geïnactiveerde vaccins), wijze van presentatie, de beste combinatie met adjuvantia en mogelijke bijwerkingen (veiligheid). Op dit moment is er nog geen definitieve keuze voor de te gebruiken adjuvantia gemaakt. Voorbeelden van adjuvantia die wel zijn voorzien zijn: water in olie, AIOH, Iscom Matrix M en bacterium-like particles (BLPs). De keuze van de adjuvantia zal in een later stadium gebeuren en worden gebaseerd op ervaringen uit eerder vaccinatieexperimenten en recente literatuurgegevens. Onder immunisaties wordt hier

verstaan de toediening, eenmalig of meerdere opeenvolgende malen, van een voor de betreffende virusinfectie relevant middel of middelen op een voor het doel passende wijze en via een voor het doel passende route. Immers, optimale strategieën voor het induceren van beschermende immuniteit tegen mucosale (b.v. respiratoir of enteraal), systemische of orgaaninfecties kunnen sterk verschillen.

De primaire uitkomstparameters zijn de immunologische effecten (m.n. de inductie van specifieke systemische en/of mucosale antilichamen) en daarnaast eventuele gezondheidseffecten c.q. bijwerkingen van de toedieningen (eetlust, koorts, locale reacties etc.).

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 eerder genoemde middelen, vaak gecombineerd met adjuvantia, hierna verder "vaccins" genoemd, kunnen op verschillende manieren worden toegediend, zoals door injectie b.v. in de spier, intradermaal of subcutaan, door inbrengen in de neus en/of mond.

De te immuniseren dieren zullen gerandomiseerd verdeeld worden over verschillende groepen, zodat verschillende vaccinkandidaten en adjuvantia met elkaar vergeleken kunnen worden. In elk experiment zullen dieren uit een controlegroep mock-gevaccineerd worden. Eventueel zal een vaccinkandidaat, waarvan de inductie van de immuunresponse bekend is, als positieve controle meegenomen worden.

De dieren worden in groepen gehuisvest, maar dienen wel individueel gevolgd te kunnen worden (b.v. m.b.t. gewicht en serologie). Zij worden hiertoe gemerkt op verschillende manieren, b.v. door kleurtekens aan te brengen maar soms ook door oormerken.

De proeven worden geblindeerd uitgevoerd."

De vaccins zullen meerdere keren (geïnactiveerde vaccins of subunit vaccins) worden toegediend, doorgaans met een tussenpoos van enkele weken. Vaccinaties worden in immuuncompetente dieren uitgevoerd. Eventueel worden de dieren gesedeerd om stress geïnduceerd door vaccintoediening (bv intranasaal) te minimaliseren.

Immunisatieproeven worden doorgaans beëindigd door euthanasie enkele weken na de laatste toediening (totale duur van het experiment 7-12 weken; afhankelijk van het aantal immunisaties).

Onderdeel van de beoogde behandeling van de dieren is de monitoring van de gezondheidsstatus van de dieren (eventuele bijwerkingen antigeen-adjuvans combinatie) en van de immunologische reacties in de dieren. Gezondheid zal in deze proeven naast door observatie (bv gedrag, houding, vacht) vnl. worden gevolgd door bepaling van het lichaamsgewicht (door individuele weging). Voor het volgen van de immunologische reacties zullen vooraf en tijdens de proef lichaamsmonsters worden genomen. Afhankelijk van de aard van de immunisatie betreft het hier monsters als bv bloed, speeksel of feces. De frequentie van afname van deze monsters is doorgaans niet vaker dan eens per week, vaak minder frequent, bv. 2- of 3-wekelijks.

Immunisatieproeven worden doorgaans beëindigd door euthanasie enkele weken na de laatste toediening zodat voldoende van de benodigde monsters (m.n. bloed/serum) voor verder onderzoek verzameld kunnen worden.

Op het eind van het experiment wordt wel gekeken of we voldoende serum hebben voor onze analyses. Als mogelijk wordt bekeken of de dieren voor een ander doel gebruikt kunnen worden of ter beschikking gesteld kunnen worden (b.v. voor onderwijs, ter adoptie). Dit zal dan met name gelden voor de konijnen

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

Doel van de immunisatiestudie is het verkrijgen van inzicht in de immunogeniciteit van de antigeen-adjuvans combinatie

Het minimaal benodigde aantal dieren voor het verkrijgen van een eenduidig resultaat (bepalen van de immunogeniciteit en beste vaccinkandidaat) wordt voorafgaand aan elke immunisatieproef bepaald door middel van een statistische berekening (zogenaamde power analyse). De belangrijkste parameters voor deze analyse zijn het (te verwachte) niveau van de geïnduceerde immuunrespons (bv antilichaam titers [zoals virusneutralisatietiters, of ELISA-titers] of CTL responsen), de variatie daarin en het minimaal gewenste meetbare onderscheid tussen de groepen. Deze parameters worden bepaald door eerder onderzoek dat is uitgevoerd door onze onderzoeksgroep of door gebruik te maken van data in de literatuur. Op basis van ervaringen met eerdere studies zullen niet meer dan 6 dieren per groep nodig zijn.

B. De dieren

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

a. Immuun-competente muizen (8-12 weken, spf, herkomst geregistreerd fokbedrijf) zullen gebruikt worden als modeldier om ze te immuniseren met recombinante viruseiwitten of geïnactiveerde virussen om een immuunrespons te induceren tegen FCoV.

Immunisatie vindt plaats met:

- Verschillende delen van het spike eiwit (geheel spike, S1, S2, NTD en CTD, geïnactiveerd virus) die getest worden met 2 adjuvantia (6 antigenen + 1 controle groep * 2 adjuvantia = 14 groepen van 6 muizen= 84 dieren).
- Verschillende vormen van presentatie (recombinant protein vs 3 verschillende nanoparticles) (4 vormen van presentatie + 1 controle groep* 2 hoeveelheden* 2 selected antigenen= 20 groepen van 6 muizen= 120 dieren).
- Verschillende adjuvantia (en toedieningsroute) (2 selected antigenen/presentatie vormen +1 controle groep*5 adjuvantia* 3 toedieningsroutes= 45 groepen van 6 dieren= 270 dieren).

Totaal: $84+120+270= 474$ muizen

Eerdere experimenten hebben laten zien dat er verschillen kunnen zijn in immuunresponsen tussen mannen en vrouwen (o.a. Karnam G, Rygiel TP, Raaben M, Grinwis GC, Coenjaerts FE, Rensing ME, Rottier PJ, de Haan CA, Meyaard L. CD200 receptor controls sex-specific TLR7 responses to viral infection. PLoS Pathog. 2012;8(5):e1002710.). Om de variatie zo klein mogelijk te houden kiezen we ervoor om de muizenexperimenten met 1 geslacht uit te voeren, waarbij we kiezen voor het vrouwelijk geslacht. Het gebruik van vrouwelijke i.p.v. mannelijke muizen verkleint de kans op vechten tussen muizen (en dus het apart moeten plaatsen van muizen); bovendien zijn onze voorgaande experimenten (waarop we onze berekeningen baseren) ook met vrouwelijke muizen uitgevoerd.

De muis is het meest toegepaste modeldier in de ontwikkeling van vaccins, mede door de beschikbaarheid van een grote toolbox. Het bepalen van immunogeniciteit van recombinante eiwitten/ geïnactiveerde virusvaccins in de muis wordt gezien als een goede afspiegeling van hetgeen als respons is te verwachten in het doeldier, in dit geval de kat. Zo zal het induceren van neutraliserende antilichamen bepaald worden door de structuur van de antigenen en niet door de gastheer en kunnen de antilichamen opgewekt in de muis bijvoorbeeld gebruikt worden om vast te stellen op welke eiwitfragmenten zich de neutraliserende domeinen bevinden. Deze zijn relevant voor de opname in potentiële vaccin kandidaten

b. Immuun-competente (volwassen) konijnen (8-12 weken oud, spf, herkomst geregistreerd fokbedrijf) zullen gebruikt worden voor immunisatiestudies met geselecteerde vaccins, voor als er meer serum nodig is voor uitgebreidere serologie, bv om de aard en breedte van de immuunrespons tegen heterologe virussen te bestuderen. Feline coronavirussen zijn RNA virussen waarbinnen antigene variatie zal voorkomen. Het vaststellen van de immuunrespons tegen

virusvarianten in het veld zal meer inzicht geven in de aard en voorkomen van antigene variatie. Omdat we voor deze proeven niet zozeer geïnteresseerd zijn in kwantitatieve (hoogte van de antilichaam levels) maar meer in kwalitatieve (breedte van de immuunrespons) verschillen denken we aan drie konijnen per groep voldoende te hebben om betrouwbare resultaten te verkrijgen. Immunisatie vindt plaats met:

- recombinante virus eiwitten of geïnactiveerde virussen. naar schatting max. 6 antigen-adjuvans combinaties in groepen van 3; schatting 18 konijnen)

Totaal aantal dieren:

muis: 474

konijn: 18

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.

Vaccinatie is de meest (kosten)effectieve methode ter bestrijding van infecties en ter voorkoming van infectieziekten. Voor het testen van verbeterde of nieuwe vaccins, vaccinformuleringen en vaccinatiemethoden zijn dierproeven onontkoombaar, aangezien er momenteel geen adequate alternatieven voor bestaan. Omdat vervanging dus geen optie is, is het beperken van het aantal benodigde dieren en van het toe te brengen leed het hoogst haalbaar.

De verschillende vaccinkandidaten worden voorafgaand aan de immunisatieproeven uitgebreid in vitro getest (zonder gebruik van proefdieren) op hun correcte vouwing, bioactiviteit en antigeniciteit.

Verder worden muizen en konijnen gebruikt als modeldieren om immunogeniciteit van de potentiële vaccinkandidaten aan te tonen alvorens te testen in het doeldier kat.

Bij deze immunisatieproeven wordt steeds gestuurd op het gebruik van een minimaal aantal dieren voor het verkrijgen van een betrouwbaar resultaat.

Leidend hierbij zijn de gevalideerde assays zoals antilichaamtiteraties, ELISA's en virus-neutralisatietiteraties die [REDACTED] beschikbaar zijn en waarvan de resultaten uit vorige experimenten gebruikt zullen worden voor de berekening van de minimale groeps grootte die nodig is om significante verschillen tussen groepen te kunnen aantonen.

De immunisatieproeven hebben als belangrijk doel om het aantal vaccinkandidaten, formuleringen en vaccinatiemethodes te reduceren, voordat we deze gaan testen in de meer belastende vaccinatie-challenge proeven. Uit de immunisatieproeven zullen die vaccins geselecteerd worden die leiden tot hoge en brede immunoresponsen (gebaseerd op antilichaamtiteraties; hoogte van de respons alsook het vermogen om niet-homologe virusstammen te herkennen zijn beide selectie criteria), zodat alleen de meest kansrijke kandidaten getest worden in de meer belastende vaccinatie-challenge experimenten. Indien gegevens over immunogeniciteit reeds voldoende uit de in vitro studies, uit gegevens uit eerdere studies of gegevens uit de literatuur onderbouwd kan worden, zal een immunisatieproef meestal niet nodig zijn.

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 ervaring leert dat immunisatieproeven over het algemeen niet bijzonder belastend zijn. De dieren kunnen bijvoorbeeld lichte koorts en/of locale reacties a.g.v. de toediening van de vaccins vertonen. Pijnbestrijding kan niet worden toegepast omdat dit de immunoreacties (de belangrijkste uitleesparameter) kan beïnvloeden. De dieren zullen in groepen gehuisvest worden en regelmatig gemonitord worden op gewicht en gedrag. Eventueel worden de dieren gesedeerd om stress geïnduceerd door vaccintoediening (b.v. intranasaal) te minimaliseren.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

NVT

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Te denken valt bijvoorbeeld aan lichte koorts en/of locale reacties a.g.v. de toediening van de vaccins.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Te denken valt bijvoorbeeld aan lichte klinische verschijnselen na vaccinatie tgv onbedoelde bijwerking van een adjuvans. De reactie t.g.v. de immunisatie kan variëren per toedieningsroute en gebruikt adjuvans en is waarschijnlijk belastender bij het toediening van een water-in-oil adjuvans intramusculair.

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

Veel van deze welzijnseffecten hangen samen met dosering; voorkomen of minimaliseren van de effecten kan dus worden nagestreefd door gebruik van geschikte lage doses. Bij onverwacht ernstige klinische verschijnselen zullen individuele dieren d.m.v. euthanasie uit de proef worden genomen.

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.

Omstandigheden waarbij toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is worden bij de immunisatie van modeldieren niet voorzien, maar zij kunnen ook niet geheel worden uitgesloten. Dieren kunnen immers onverwacht reageren op vooraf onschuldig ingeschatte antigeen-adjuvans combinaties. Gedurende de acclimatisatieperiode en tijdens het experiment worden standaard algemene klinische verschijnselen geobserveerd. A.gedrag (o.a. reactie op prikkels,

neurologische storingen)), B. Houding (o.a. opzetten van haren), C.gang/mobiliteit, D.voedingstoestand (lichaamsgewicht, 20% afname is kwalificatie 2, ernstig), E. verzorgingstoestand, F. andere in het oog springende afwijkingen. De score (0= normaal, 1=gering, 2= ernstige afwijking) wordt bijgehouden. Bij een ernstige afwijking dient het dier te worden geethanaseerd. De humane eindpunten zullen per werkprotocol in meer detail beschreven worden.

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

Minder dan 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.

Het ongerief zal kunnen variëren van licht ongerief tot matig ongerief. Dit kan ontstaan bij de volgende handelingen:

- toediening van de vaccins. De beoogde effecten van de vaccins zelf op het welzijn van de dieren wordt als licht, hooguit matig ingeschat (vaccins dienen uiteindelijk hooguit licht ongerief te veroorzaken). Van licht ongerief bij toediening zelf is bijvoorbeeld sprake wanneer oraal of oronasaal of oculair wordt toegediend. Ook de gebruikte adjuvantia kunnen ongerief veroorzaken. Matig wordt het b.v. wanneer dieren worden gevaccineerd door inspuiting (subcutaan, intradermaal, intramusculair, intraperitoneaal) van een water-in-oil adjuvans.
- Afname van monsters voor analyse. Het oraal, rectaal of neus-swappen, het bloedafnemen en het eventuele verdoven veroorzaken doorgaans stress en licht ongerief. Omdat er nog geen keuze voor de te gebruiken adjuvantia is gemaakt, is het niet goed mogelijk om een indicatieve procentuele onderverdeling van het ongerief aan te geven. De verwachting is echter dat de meeste dieren (schatting 80% licht ongerief zullen ervaren).

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 meeste dieren worden aan het eind van de proef gedood voor het verzamelen van bloed, omdat ze niet verder geschikt zijn voor andere experimenten en omdat ze de proefdierfaciliteit dienen te verlaten.

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="Vaccinatie-challenge experimenten met FCOV"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Het doel van de immunisatie-challenge experimenten is het testen van bescherming van de kat tegen infectie met FCOV (enterale FCOV en/of Feline infectieuze peritonitisvirus) na voorafgaande immunisatie. Hiertoe worden dieren allereerst gevaccineerd met een vooraf bepaalde vaccinkandidaat zoals beschreven in de corresponderende Bijlage Beschrijving Dierproeven onder Volgnummer 1, getiteld "Immunisatie van modeldieren" en vervolgens geïnfecteerd met het virus waartegen werd gevaccineerd. De primaire uitkomstparameters zijn de beoogde afwezigheid c.q. vermindering van klinische infectieverschijnselen en de afwezigheid c.q. vermindering van virusvermeerdering in de gevaccineerde t.o.v. ongevaccineerde dieren. Voor het testen van vaccin-gemedieerde bescherming is dit de standaardmethode en bestaan daarvoor momenteel voor feline coronavirussen geen in vitro alternatieven.

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.

Vaccinatie-challenge studie FCOV.

Dit betreft studies met zowel enterale FCOV stammen (FCEV) als met FIP inducerende stammen (FIPV)

De dieren zullen na immunisatie met geselecteerde vaccinkandidaten geïnfecteerd worden met het virus waartegen ze geïmmuniseerd werden (challenge). Voor challenge infectie met FCEV en FIPV zijn reeds goed gedefinieerde challenge virusstock aanwezig. Voorafgaand aan het experiment zullen de dieren random verdeeld worden in verschillende groepen. Controlegroepen zullen mock-gevaccineerd worden of alleen het adjuvans ontvangen.

De vaccins kunnen op verschillende manieren worden toegediend, zoals door injectie b.v. in de spier, intradermaal of subcutaan, door inbrengen in de neus en/of mond.

De vaccins kunnen eenmalig of meerdere keren worden toegediend. In het laatste geval kunnen, doorgaans met een tussenpoos van enkele weken, steeds dezelfde vaccins/vaccinuleringen worden gebruikt of verschillende vaccins of formuleringen ("prime-boost vaccinaties"). Vaccinaties worden in immuuncompetente dieren uitgevoerd. Ter controle worden dieren mock gevaccineerd met PBS (controle levend-verzwakte vaccins) of adjuvans (controle dode vaccins, subunit vaccins).

Enkele weken na de laatste vaccinatie zullen de dieren gechallengeed worden. Deze challenge infectie wordt i.h.a. uitgevoerd via de natuurlijke route, dwz oro/nasaal in het geval van FeCV. Omdat het FIP virus zich in de natuur ontwikkelt vanuit een vermeerderend FCEV in de darm wordt voor FIP soms gekozen voor een andere route, namelijk intra-peritoneaal.

Een standaard vaccinatie-challenge experiment zal bestaan uit een primaire immunisatie op dag 0 gevolgd door enkele boosterimmunisaties (1-3) met een interval van 2-3 weken en een challenge infectie 3 weken na de laatste immunisatie. Na de challenge worden de dieren meerdere weken (6-8) vervolgd om de verschillende parameters (klinisch, virologisch, immunologisch) te bepalen en de effectiviteit van de vaccinatie vast te kunnen stellen.

Voorafgaand aan vaccinatie/challenge experimenten in katten zullen er transponders in de dieren geplaatst worden, zodat de temperatuur van de katten eenvoudig afgelezen kan worden.

Gedurende de hele proef zal de gezondheidsstatus van de dieren en zullen de immunologische reacties in de dieren gemonitord worden. Gezondheid zal in deze proeven naast door observatie en eventueel klinisch onderzoek vnl. worden gevolgd door bepaling van het lichaamsgewicht (door individuele weging) en lichaamstemperatuur(transponder). Voor het volgen van de immunologische reacties zullen vooraf en tijdens de proef lichaamsmonsters worden genomen. Afhankelijk van de aard van de immunisatie/challenge betreft het hier monsters als bv bloed, speeksel, of feces. De frequentie van afname van deze monsters is doorgaans niet vaker dan eens per week, vaak minder frequent, bv. 2- of 3-wekelijks. Dergelijke monsters zullen eveneens gebruikt kunnen worden voor het monitoren van infectieus vaccin of challenge virus.

De dieren worden in groepen gehuisvest. De experimenten worden geblindeerd uitgevoerd.

Op het eind van het experiment worden de dieren geëuthanaseerd indien de benodigde monsters (m.n. bloed/serum/weefsel) voor verder onderzoek

verzameld dienen te worden. Euthanasie gebeurt in ieder geval indien de challenge een FIP inducerende stam betreft. Indien weefselmonsters niet noodzakelijk zijn na challenge met een enterale FCOV stam, kunnen dieren eventueel voor andere doeleinden (onderwijs, adoptie) worden aangeboden.

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

In een beschermingsproef worden één of meer (potentiële) vaccins getest in groepen van dieren welke daarna gechallengeed worden met een FCOV infectie. De minimale omvang van een proef is 2 groepen, wanneer 1 vaccin wordt geëvalueerd t.o.v. 1 mock-gevaccineerde controle, maar meestal zullen meerdere vaccinkandidaten c.q. -formuleringen tegelijkertijd getest worden.

Het benodigde aantal dieren per groep nodig voor het verkrijgen van een eenduidig resultaat is afhankelijk van het doel van de betreffende proef en van de variatie in de kritische uitleesparameters. In een simpel format gaat het om het testen van de reductie van ziekteverschijnselen of van challenge virus replicatie-niveau's/uitscheiding voor 1 vaccin. In meer complexe situaties gaat het b.v. om het vergelijken van de effectiviteit van bescherming door verschillende vaccinkandidaten, toegediend met verschillende adjuvantia en/of via verschillende methoden. In alle gevallen gaat het om vergelijking van resultaten tussen groepen dieren en zullen de groepsgroottes worden bepaald door de mate van de te onderscheiden effecten. Daarbij zullen statistische berekeningen de basis vormen van de te kiezen groepsgrootte, gebaseerd op de aard van de relevante beschermingsparameter(s), de verwachte variatie daarin binnen de groepen en het minimaal gewenste meetbare onderscheid tussen groepen.

De ervaring met eerdere studies leert dat een groepsgrootte van 5-6 katten meestal voldoende is om significante verschillen tussen groepen te detecteren.

B. De dieren

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

Voorzien wordt dat de volgende vaccinatie-challenge experimenten zullen worden uitgevoerd :

Vaccinatie/challenge experimenten in katten (herkomst geregistreerde fok, 3-4 maanden) tegen FCoV (FECV en/of FIPV) . Schatting: max 4 vaccinstudies met 4 verschillende groepen (3 vaccingroepen en 1 controle). Dit betekent max $4 \times 4 \times 6 = 96$ katten.

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.

Hergebruik van dieren is na challenge met FIPV niet mogelijk gezien de aard van de infectie (virulent coronavirus). Infectie met het FECV verloopt in de meeste katten subklinisch tot mild en veroorzaakt een persisterende infectie in katten (zie onze referentie Vogel et al., 2010). Overwogen zal worden de controledieren uit deze aanvraag (niet gevaccineerd, wel challenge-geïnfecteerd met FECV) te hergebruiken voor therapeutische behandeling van de persisterende FECV infectie. Recent zijn daarvoor enkele kandidaat-therapeutica succesvol in vitro getest.

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.

Vaccinatie is de meest (kosten)effectieve methode ter bestrijding van infecties en ter voorkoming van infectieziekten. Voor het testen van verbeterde of nieuwe vaccins, vaccinformuleringen en vaccinatiemethoden tegen FCOV is voor het bepalen van effectiviteit een challengeproef onontkoombaar, aangezien er momenteel geen adequate alternatieven voor bestaan. Omdat vervanging dus geen optie is, is het beperken van het aantal benodigde dieren en van het toe te brengen leed het hoogst haalbaar. Dit wordt nagestreefd op een aantal manieren. Een ervan is het beperken van het aantal challenge proeven (oplopend tot ernstig ongerief) door het reduceren van het aantal vaccinkandidaten, vaccinformuleringen en vaccinatiemethoden, wat kan worden bereikt d.m.v. de voorafgaande, minder belastende immunisatieproeven in modeldieren. Evenals bij deze immunisatieproeven wordt bij de beschermingsproeven steeds gestuurd op het gebruik van een minimaal aantal dieren voor het verkrijgen van een betrouwbaar resultaat door middel van een power analyse. Een belangrijke randvoorwaarde hierbij zijn de reeds vooraf gevalideerde uitleesparameters.

Daarnaast wordt ernaar gestreefd om verschillende vaccins tegelijkertijd naast elkaar te testen zodat er minder controlegroepen nodig zijn.

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.

Gedurende de acclimatisatieperiode voorafgaande aan het experiment zullen de katten worden gewend aan de omgeving en verzorgers/onderzoekers. Deze acclimatisatie en socialisatieperiode zal ook de handelingen die gedurende het experiment uitgevoerd dienen te worden vergemakkelijken. Daarnaast is aandacht voor socialisatie een voorwaarde voor de katten die afhankelijk van het type experiment na afloop ter adoptie aangeboden kunnen worden. Als nodig zullen de dieren gedurende de vaccinatie, inoculatie en monsternamen kortdurend gesedeerd worden. Pijnbestrijding zal niet worden toegepast omdat dit kan interfereren met de immunrespons. De noodzaak tot pijnbestrijding is ook niet te verwachten. De dieren zullen na challenge dagelijks gevolgd worden om eventueel optredend ongerief door ziekteverschijnselen tgv de challenge infectie goed te monitoren en onnodig leiden zoveel mogelijk te 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.

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.

Dieren worden mogelijk kortdurend gesedeerd tijdens de vaccinatie, inoculatie en indien nodig voor monsternamen (m.n. bloedafname). Pijnbestrijding is echter niet mogelijk omdat dat mogelijk interfereert met de immuunrespons. Uitzondering hierop vormt het inbrengen van de transponder bij de katten. De dieren zullen hiervoor kort gesedeerd worden en als nodig (na overleg met dierenarts) tijdelijk pijnstilling krijgen.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De dieren kunnen ongerief ondervinden van het toedienen van het vaccin en/of het challenge virus. Dieren kunnen ziek worden als gevolg van de challenge infectie. Challenge met FECV geeft geen of hooguit lichte verschijnselen bestaande uit milde diarree. Challenge met FIP leidt tot een systemische infectie met koorts.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Infectie met virus

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

Maatregelen, met uitzondering van goed monitoren van de gezondheidstatus van de dieren, niet mogelijk; euthanasie zodra humaan eindpunt bereikt wordt

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.

Hier dient onderscheid te worden gemaakt tussen een infectie met FECV en FIPV. Na challenge infectie met FECV is het bereiken van humane eindpunten op basis van de challenge niet te verwachten. Infectie met FIPV geeft meer systemische verschijnselen die invloed kunnen hebben op het algemeen welzijn van het dier.

Criteria die gehanteerd zullen worden zijn lichaamsgewicht, ernstige gedragsafwijkingen (neurologische storingen, lichaamshouding, lethargie), recidiverend koorts, en niet/minder eten en drinken. De humane eindpunten zullen per experiment in het werkprotocol gedefinieerd worden.

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

Uitgaande van 2 vaccinstudies met FECV (geen human eindpunt bereikt) en 2 studies met FIPV (ong 40% humaan eindpunt bereikt) is de inschatting dat voor de aanvraag van de gehele studie maximaal 20% van de dieren het humane eindpunt zal bereiken.

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 verwachting is dat de helft van de katten zal worden gebruikt in een vaccinatie-challenge experiment met FIPV en de andere helft met FECV.

Voor challenge infectie met FECV.

Het ongerief als gevolg van de immunisatie wordt geschat op licht. Ongerief als gevolg van monstername (m.n. bloed) licht tot matig (indien sedatie nodig is) en ongerief door de challenge infectie licht. (subklinisch of geringe diarree, geen algemene systemische verschijnselen). De ervaring met bloedafname bij katten uit eerdere experimenten laat zien dat de meeste katten goed zijn te prikken zonder sedatie. Aanname is dat gemiddeld 20% van de katten eventueel een sedatie nodig heeft en dus matig ongerief zal ervaren. 80% licht ongerief

Voor challenge infectie met FIPV

Het ongerief zal kunnen variëren van licht tot ernstig. Het ongerief als gevolg van de immunisatie wordt geschat op licht. Het ongerief als gevolg van monstername (m.n. bloed) als licht tot matig (indien sedatie nodig is). Het ongerief als gevolg van de infectie kan variëren van licht (beschermd door vaccinatie), matig (tot eind van de studie gedeeltelijk beschermd en geringe algemene systemische verschijnselen) tot ernstig (niet beschermd door vaccinatie en euthanasie op grond van bereiken humane eindpunten). Ongerief wordt op de tweede plaats veroorzaakt door de monitoring activiteiten. Het oraal, rectaal of neus-swappen veroorzaken doorgaans stress maar licht ongerief.

Van de FIPV challenge groep zal naar schatting meer dan de helft beschermd zijn door de vaccinatie. Dit betekent dat we verwachten dat ongeveer 40% licht, 20-30% matig (sedatie en/of gedeeltelijk beschermd) en 30-40% ernstig ongerief (controlegroepen en niet beschermde dieren) zal ondergaan.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

De meeste dieren dienen aan het eind van de proef gedood te worden voor het verzamelen van organen en bloed. Daarnaast zijn de dieren niet verder geschikt voor andere experimenten en dienen ze de proefdierfaciliteit te verlaten. Als het niet nodig is om de dieren te doden voor het verzamelen van bloed/serum en organen wordt er per experiment bekeken of de dieren voor andere doeleinden (onderwijs/adoptie) ter beschikking gesteld kunnen worden. Dit is met name het geval indien de challenge wordt uitgevoerd met een FECV stam. Omdat FeCV endemisch voorkomt in de kattenpopulatie is adoptie dan ook een optie

In een enkel geval zal hergebruik van de dieren worden overwogen als hierboven beschreven onder C.

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 : 2016.II.811.011
2. Titel van het project : Ontwikkeling van vaccins tegen coronavirus infecties in de kat
3. Titel van de NTS : Vaccinatiestudie tegen coronavirussen in de kat

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: 09-03-2016
- aanvraag compleet:
- in vergadering besproken: 16-03-2016
- anderszins behandeld:
- termijnonderbreking(en) van / tot : 18-03-2016 tot
- 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: 18-03-2016
- Strekking van de vragen:

Niet Technische Samenvatting

- 3.1 Beschrijving doelstellingen: De DEC verzoekt u de tekst tussen haakjes te verwijderen.

Bijlage 1

- B. De dieren: De DEC adviseert u een brug te maken voor de translatie van de muis naar de kat en daarbij duidelijk te beschrijven waarom de bevindingen in de muis relevant zijn voor de kat. Is bijvoorbeeld de immunogeniciteit in de muis vergelijkbaar met die van de kat?
- K. Classificatie van ongerief: U spreekt over neus-en. Dit woord klopt niet, graag aanpassen naar de correcte term.

Bijlage 2

- K. Classificatie van ongerief: De DEC verzoekt u het woord gering overal aan te passen naar licht.
- Datum antwoord: 24-03-2016
- Strekking van de antwoorden:

Niet Technische Samenvatting

- 3.1. De tekst tussen haakjes is verwijderd.

Bijlage 1

- B. De dieren: De suggestie is verwerkt in de toegevoegde laatste alinea onder B onder a).
- K. Classificatie van ongerief: 'Neus-en' is aangepast en veranderd in 'neus-swappen'.

Bijlage 2

- K. Classificatie van ongerief: Het woord 'gering' is aangepast naar 'licht'.
- 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. Vanwege betrokkenheid bij het voorliggende project is – met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid – het betreffende DEC-lid niet betrokken bij de advisering.

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. Het wordt ingeschat als een reëel belang. Infecties met coronavirussen zijn endemisch binnen de Nederlandse kattenpopulatie. De coronavirussen kunnen naast enterale infecties ook een ernstig fataal verlopende systemische infectie genaamd Feline Infectieuze Peritonitis (FIP) veroorzaken. Tot op heden heeft men nog geen vaccins kunnen ontwikkelen die voldoende bescherming bieden tegen deze infecties . Daarom wil de aanvrager met behulp van de voorliggende projectaanvraag bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe en verbeterde vaccins en vaccinatiemethoden ter bescherming tegen coronavirusinfecties in de kat. De kennis die verkregen wordt met dit project zal in de toekomst ook kunnen bijdragen aan de vaccinontwikkeling ter voorkoming van coronavirusinfecties bij andere diersoorten.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Het project is opgebouwd uit een tweetal logisch op elkaar volgende fasen. In de eerste fase worden immunisatiestudies in muizen en konijnen uitgevoerd met veelbelovende vaccinkandidaten die geselecteerd zijn uit *in vitro* studies (welke geen onderdeel zijn van deze projectaanvraag) (bijlage 1). De vaccinkandidaten die de bedoelde immuunparameters zonder ongewenste bijwerkingen induceren worden in de tweede fase gebruikt voor challengestudies in katten (bijlage 2). Met deze experimenten kan de werkzaamheid en veiligheid van de vaccinkandidaten vastgesteld worden. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.

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

- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 Niet-menselijke primaten (10e)
 Dieren in/uit het wild (10f)
 Gefokt voor dierproeven (11)

- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Huisvesting en verzorging
- Locatie: instelling vergunninghouder (10g)

De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. Mogelijk worden niet-gevaccineerde katten met een geïnduceerde persisterende FECV-infectie in de toekomst ingezet voor *in vivo* onderzoek waarin therapeutica getest worden die in *in vitro* onderzoek veelbelovende resultaten opleverden.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het cumulatief ongerief in bijlage 1 is voor 80% van de dieren licht en voor 20% van de dieren matig. Dit ongerief is het gevolg van de immunisatie (licht of matig ongerief, afhankelijk van de immunisatieroute en het adjuvans) en de monsternamen (licht ongerief). In bijlage 2 wordt voor de bepaling van het ongerief onderscheid gemaakt tussen de twee coronavirusinfecties die geïnduceerd worden. Van de katten waarbij een enterale infectie geïnduceerd wordt zal naar schatting 80% licht ongerief ervaren en 20% matig ongerief. Dit ongerief wordt veroorzaakt door de immunisatie (licht ongerief), de challenge (licht ongerief) en de monsternamen (licht of matig ongerief, afhankelijk van of sedatie noodzakelijk is). Van de katten waarbij FIP geïnduceerd wordt zal naar schatting maximaal 40% van de dieren ernstig ongerief ervaren, maximaal 30% matig ongerief en 30% licht ongerief. Dit ongerief is het gevolg van de immunisatie (licht ongerief), monsternamen (licht of matig ongerief, afhankelijk van of sedatie noodzakelijk is) en challenge (licht tot ernstig ongerief, afhankelijk van de werkzaamheid van het vaccin).
In bijlage 1 houdt men rekening met een uitval van maximaal 5% ten gevolge van onverwachte bijwerkingen van antigeen-adjuvans combinaties. In bijlage 2 houdt men rekening met een uitval van maximaal 20%, omdat katten met een geïnduceerde FIP ernstig ongerief kunnen ondervinden – en zodoende het humane eindpunt bereiken – wanneer het te testen vaccin niet werkzaam blijkt te zijn.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. De processen die betrokken zijn bij de inductie van immuniteit en het optreden van eventuele bijwerkingen zijn dusdanig complex, dat deze niet voldoende betrouwbaar in *in vitro* of *in silico* na te bootsen zijn. Om de doelstelling van dit project te kunnen behalen zijn *in vivo* experimenten noodzakelijk.
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. Eerst worden experimenten uitgevoerd in modeldieren (in muizen en konijnen), zodat de meest immunogene en veilige vaccinkandidaten geselecteerd kunnen worden voor de vervolggexperimenten in het doeldier (de kat). Door het gebruik van inbred modeldieren is de variatie tussen dieren kleiner,

waardoor het mogelijk is om het aantal dieren per groep dat nodig is om verschillen tussen groepen te kunnen detecteren te reduceren.

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 veel ervaring met vergelijkbare experimenten en de te verrichten experimentele handelingen. Vaccinkandidaten worden eerst uitgebreid *in vitro* getest voordat ze worden ingezet in de immunisatieproeven. Uit de immunisatieproeven zullen vaccins geselecteerd worden die positieve resultaten opleverden (dat wil zeggen een adequate immuunrespons induceren zonder teveel bijwerkingen te veroorzaken), zodat alleen de meest kansrijke vaccins worden ingezet in de meer belastende challengeproeven. Wanneer de challengeproeven uitwijzen dat een vaccin onvoldoende bescherming biedt, dan worden de betreffende dieren tijdig geëuthanaseerd op grond van vooraf nauwkeurig gedefinieerde humane eindpunten. Eerdere experimenten hebben uitgewezen dat de immuunrespons tussen mannelijke en vrouwelijke muizen kan verschillen. Om deze ongewenste variatie te voorkomen worden de immunisatieproeven alleen in vrouwelijke muizen uitgevoerd. Dit heeft als voordeel dat de dieren in groepen gehuisvest kunnen worden en dat gegevens uit voorgaande experimenten gebruikt kunnen worden voor de powerberekeningen. Voor een aantal experimenten zullen konijnen ingezet worden, omdat de af te nemen hoeveelheid serum groter is dan bij muizen en uitgebreidere serologie mogelijk maakt.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

Op grond van de onder C genoemde overweging is de DEC van mening dat het belang van de doelstelling – het ontwikkelen van nieuwe en verbeterde vaccins en vaccinatiemethoden ter bescherming tegen coronavirusinfecties in katten – reëel is. Alle DEC-leden zijn van mening dat het voorliggende project in haar huidige vorm beschouwd kan worden als een toetsbare eenheid. De oorspronkelijke versie van het project werd destijds door een van de DEC-leden (en door de CCD) niet beschouwd als een toetsbare eenheid, omdat het belang te abstract was (het voorkomen van verschillende ziekten bij verschillende dieren en de mens) en het te verwachten ongerief variabel (variërend van licht tot ernstig). In het voorliggende project is het belang van de doelstelling wel helder, aangezien het betrekking heeft op één virus dat in één diersoort verschillende aandoeningen kan veroorzaken. Het ongerief dat de dieren tijdens de challengeproeven zullen ervaren is op voorhand lastig in te schatten en zal – net als in de oorspronkelijke versie van het project – variëren van licht tot ernstig ongerief. Een dergelijke onzekerheid is inherent aan challengeproeven en vormde daarom voor de DEC geen belemmering bij de ethische afweging. De DEC is van mening dat voor de juiste onderzoeksstrategie gekozen is, en dat de beschreven experimenten noodzakelijk zijn voor het bereiken van de doelstelling. De DEC is ervan overtuigd dat bij de dierproeven adequaat invulling gegeven zal worden aan de vereisten op het gebied van

vervanging, vermindering en verfijning. De DEC is unaniem van mening dat de doelstelling opweegt tegen het ongerief dat de dieren zullen ondervinden, en dat het gebruik van proefdieren voor dit project 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
AVD108002016509

Bijlagen

2

Datum 6 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 6 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD108002016509. 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
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]

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: 1 juni 2021
Titel project: Vaccinatiestudie tegen coronavirussen in de kat
Titel niet-technische samenvatting: Vaccinatiestudies bij de kat
Naam DEC: DEC Utrecht
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.187,-
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:

5 april 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC
Instantie voor Dierenwelzijn
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
AVD108002016509
Bijlagen
2

Datum 6 april 2016
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 6 april 2016
Vervaldatum: 6 mei 2016
Factuurnummer: 16700509
Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD108002016509	€ 1.187,00

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 19 mei 2016 14:29
Aan: 'Info-zbo'
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: besluit aanvraag AVD108002016509

Categorieën: Dossier: [REDACTED]

Beste [REDACTED]
Hartelijk dank voor deze mail.
Wat betreft de immunisatie in modeldieren zouden we een maximaal aantal van drie (3) immunisaties willen opnemen in het protocol. Dit ook op basis van ervaringen met immunisaties met virale eiwitten.

Graag hoor ik van u of dit zo voldoende informatie is en of ik zelf nog aanpassingen dien te maken in het projectvoorstel.

Met vriendelijke groet

[REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED] Utrecht
The Netherlands
Email: [REDACTED]
Tel: [REDACTED]

From: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Sent: dinsdag 17 mei 2016 13:39
To: [REDACTED]
Cc: [REDACTED]
Subject: besluit aanvraag AVD108002016509

Geachte [REDACTED]

U heeft bij de CCD een aanvraag tot projectvergunning ingediend. Het betreft het project: "vaccinatie studie tegen coronavirussen in de kat" met aanvraagnummer AVD108002016509. Uw aanvraag is besproken in de vergadering en de CCD heeft het voornemen uw aanvraag te vergunnen. Wij willen echter op 1 punt verduidelijking aan u vragen: in bijlage 3.4.4.1 Immunisatie in modeldieren (muis, konijn) beschrijft u dat de dieren wanneer nodig meerdere keren geïmmuniseerd worden. Kunt u een maximaal aantal voor de immunisaties aangeven?

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!)

**Centrale Commissie Dierproeven**

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

Postbus 12007
3501AA 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
AVD108002016509

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 20 mei 2016

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 6 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Vaccinatie studie tegen coronavirussen in de kat" met aanvraagnummer AVD108002016509. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 17 mei 2016 hebben wij u een vraag gesteld over het aantal immunisaties in bijlage 3.4.4.1. Op 19 mei 2016 heeft u geantwoord dat het aantal immunisaties maximaal 3 zal zijn. Dit antwoord is toegevoegd aan het dossier en betrokken bij de beoordeling.

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 voorwaarden betreffende artikel 10, lid 1 sub a. van de wet worden gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Vaccinatie studie tegen coronavirussen in de kat" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 juni 2016 tot 1 juni 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage. Voor dit project is een beoordeling achteraf vereist vanwege de ongerief classificatie Ernstig.

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.

Datum

20 mei 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD108002016509

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. Aanvullend worden twee algemene voorwaarden gesteld. Dit om te voldoen aan datgene wat voortkomt uit artikel 10a. van de wet.

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.

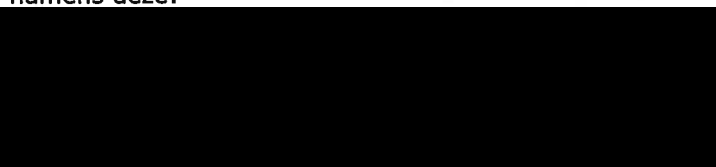
Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel 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: Universiteit Utrecht
Adres: Postbus 12007
Postcode en woonplaats: 3501AA Utrecht
Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 juni 2016 tot 1 juni 2021, voor het project "Vaccinatiestudie tegen coronavirussen in de kat" met aanvraagnummer AVD108002016509, 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 6 april 2016
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 6 april 2016;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 6 april 2016;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie dd 31 maart 2016, ontvangen op 6 april 2016;
 - d. Aanvullingen op uw aanvraag ontvangen op 19 mei 2016.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
Immunisatie van modeldieren (muis, konijn)	Muizen (<i>Mus musculus</i>)	474	20% Matig 80% Licht
Immunisatie van modeldieren (muis, konijn)	Konijnen (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	18	20% Matig 80% Licht
Vaccinatie-challenge experimenten met FCOV	Katten (<i>Felis catus</i>)	96	20 % Ernstig 25 % Matig 55% Licht

Voorwaarden

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

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk juni 2022 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

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

Datum

20 mei 2016

Onze referentieAanvraagnummer
AVD108002016509

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 van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

Verzorging

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

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

Einde van een dierproef

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

Datum

20 mei 2016

Onze referentieAanvraagnummer
AVD108002016509

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.

Levensloopdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloopdossier bijgehouden worden.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: donderdag 26 mei 2016 14:13
Aan: dec-utrecht@umcutrecht.nl
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD108002016509

Geachte DEC Utrecht,

Op 06-04-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Vaccinatiestudie tegen coronavirussen in de kat' met aanvraagnummer AVD108002016509.

De CCD heeft de aanvrager gevraagd voor het aantal immunisaties in bijlage 3.4.4.1 een maximum aantal aan te geven. De aanvrager heeft geantwoord dat dit maximaal 3 immunisaties zullen zijn. Dit antwoord is toegevoegd aan het dossier.

De CCD heeft besloten uw advies te volgen en de aanvraag te vergunnen. Aanvullend hieraan zijn de twee algemene voorwaarden die volgen uit artikel 10 van de wet verbonden aan de vergunning. Daarnaast is voor dit project een beoordeling achteraf vereist vanwege de ongerief classificatie Ernstig.

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

Inventaris Wob-verzoek W16-19S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016510								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x	x		x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x	x		x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x	x		x	
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3				x	x		x	
7	Bijlage beschrijving dierproeven 4				x	x		x	
8	Flow-chart				x	x		x	
9	Addendum			x					
10	DEC-advies				x	x	x	x	
11	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
12	Advies CCD		x						x
13	Beschikking en vergunning				x		x	x	
14	Mail terugkoppeling DEC 26-5-2016				x		x	x	

ARD 114002016510



12 APR. 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	11400
		<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	VU medisch centrum Amsterdam
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	
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	De Boelelaan 117
		Postbus	
		Postcode en plaats	1081HV Amsterdam
		IBAN	
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" 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 | 0 1 _ 0 6 _ 2 0 1 6 |
| Einddatum | 0 1 _ 0 6 _ 2 0 2 1 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluatie van de biodistributie, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drugs") tegen kanker
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Evaluatie van de verdeling, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drugs" genoemd)
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--|
| Naam DEC | DEC VU-VUmc |
| Postadres |  Amsterdam |
| E-mailadres |  |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1584 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
- 7 bijlagen

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	6-4-2016
Handtekening	[Redacted]



Format Projectvoorstel dierproeven

1. Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
2. Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
3. Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
4. 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
- 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.

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

opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

De aanvraag betreft de "*in vivo*" (binnen het lichaam) karakterisering van nieuwe medicijnen, die kandidaat zijn om voor het eerst in kankerpatiënten getest te gaan worden. De ontwikkeling van nieuwe kandidaatmedicijnen kent verschillende selectieprocedures, zoals onderzoek met weefselbiopten en/of "*in vitro*" (in een kweekfles) met gekweekte cellen. Zo is bekend op welke cruciale moleculaire processen van de ziekte het medicijn aangrijpt. Dit vooronderzoek vindt plaats in onderzoekscentra (universiteit of zelfstandige centra zoals het [REDACTED], academisch medische ziekenhuizen of binnen de farmaceutische industrie). Echter, dan is nog niet bekend hoe een medicijn zich in het lichaam gedraagt, of het daar op de juiste manier op de ziekte aangrijpt en of het veilig is. Voordat dergelijke medicijnen bij patiënten toegediend kunnen worden, zullen de medicijnen eerst getest worden op hun werkingsmechanisme ("proof of principle"), optimale toediening, veiligheid en effectiviteit in proefdiermodellen.

Een grote beperking bij de huidige medicijnontwikkeling is dat men na toediening aan dier of mens geen idee heeft waar het medicijn in het lichaam blijft en wat het daar doet. Men kan hooguit bloed afnemen en zien of het medicijn nog in het bloed aanwezig is. Daarnaast is na langere tijd waar te nemen of er bijwerkingen ontstaan en of het medicijn eventueel de ziekte terugdringt. Maar heel veel vragen kunnen niet beantwoord worden, bijv. of het medicijn selectief in de tumor ophoopt, of het eventueel ook in gezonde organen ophoopt en daar mogelijk bijwerkingen veroorzaakt, of het medicijn in het lichaam stabiel blijft, hoe het eventueel afgebroken wordt, wat de optimale dosis van het medicijn is, hoe het medicijn zich gedraagt in combinatie met andere medicijnen, of het medicijn op de plaats van de tumor werkzaam is, of het gedrag van het medicijn bij ieder dier of mens met dezelfde tumor hetzelfde is, en bij wie het medicijn het beste toegepast kan worden. Omdat deze vragen tot voor kort niet effectief beantwoord konden worden, was het gevolg dat er zeer veel proefdieren en mensen in studies gingen (duizenden) voordat een medicijn geregistreerd kon worden en beschikbaar kwam voor routinebehandeling van patiënten.

De praktijk leert dat ruim 50% van de medicijnen niet verder ontwikkeld wordt omdat ze geen goede ophoping in de tumor laten zien. Dit percentage ligt bij ons lager omdat veel van de medicijnen die wij testen vooraf zeer uitgebreid door de farmaceutische industrie *in vitro* getest zijn. Soms kan ophoping verbeterd worden door het medicijn chemisch aan te passen. Vervolgens kan de ontwikkeling van de overgebleven geneesmiddelen voortijdig gestaakt worden omdat ze te toxisch blijken of niet effectief genoeg. Uiteindelijk zal zo'n 30-40% doorgaan naar de kliniek. De kans dat ze daar succesvol worden is in ons geval groter dan gemiddeld omdat wij de belangrijkste karakteristieken van het medicijn in proefdieren met de relevante ziekte vooraf nauwkeurig vaststellen. Op dit moment bereikt slechts 10% van de medicijnen die in klinische studies getest wordt uiteindelijk de eindstreep, d.w.z. registratie waardoor ze routinematig bij patiënten gebruikt mogen worden. Door onze gerichtere en stringentere selectie in proefdiermodellen, denken we dat dit percentage uiteindelijk omhoog kan gaan naar 20-30%. Immers, medicijnen met een suboptimaal *in vivo* gedrag zullen vroegtijdig afvallen, zelfs al bij de eerste evaluaties in proefdieren.

VUmc is bezig om dit proces te verbeteren. Dit gebeurt door medicijnen te voorzien van een radioactief of fluorescent label (hierdoor ontstaan zgn. "tracers") waardoor de plaats van het medicijn eenvoudig in het lichaam is terug te vinden. Bovendien kan nauwkeurig vastgesteld worden hoeveel van het medicijn in de tumor en gezonde organen ophoopt. Deze techniek is zowel voor proefdieren als voor mensen/patiënten te gebruiken. Het vaststellen van de verdeling van een medicijn *in vivo* wordt het vaststellen van de "biodistributie" genoemd. Heel veel van de eerder genoemde vragen kunnen nu effectiever beantwoord worden. Bovendien zijn er uiteindelijk minder proefdieren/mensen in studies nodig en is de kans dat een medicijn onoordeelkundig gebruikt wordt en tot onacceptabele bijwerkingen leidt

veel kleiner. Het onderzoek behelst dus het vervangen van de oude manier van medicijnontwikkeling voor een efficiëntere nieuwe manier, die tot vermindering en verfijning van proefdiergebruik leidt.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

4. 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?
5. In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het uiteindelijke doel van ons onderzoek is om op een efficiënte manier betere medicijnen te krijgen voor de behandeling van kanker. Door medicijnen licht radioactief of fluorescerend te maken kan het gedrag van een medicijn in het lichaam nauwkeurig worden vast gesteld waardoor het mogelijk wordt in een vroeg stadium kansrijke van kansarme medicijnen te onderscheiden. Haalbaarheid: de studies naar betere en snellere medicijnontwikkeling doorlopen de volgende fasen:

Het labelen van medicijnen met radioactiviteit of fluorescente stoffen gebeurt volgens zgn. "Good Manufacturing Practice" (GMP) in speciale laboratoria waar de medicijnen steriel blijven en ook het personeel optimaal beschermd is. Het koppelen van radioactiviteit of fluorescente stoffen moet "inert" gebeuren, zodat het *in vivo* gedrag en de werking van het medicijn er niet door verandert. Dit wordt met een reeks van *ex vivo* kwaliteitstesten ("Quality Control", QC) gecontroleerd en *in vivo* met behulp van beeldvormende technieken (volgende paragraaf [REDACTED]). [REDACTED]

De afdeling [REDACTED] heeft een unieke positie in de wereld voor wat betreft het nauwkeurig karakteriseren van vooral nieuwe medicijnen in het lichaam van dieren en mensen. Zoals beschreven worden de medicijnen licht radioactief (of fluorescerend) gemaakt zodat de opname van het medicijn in de tumor en in de verschillende gezonde organen nauwkeurig gekwantificeerd kan worden, [REDACTED]

[REDACTED] Binnen [REDACTED] Zeer veel grote internationale farmaceutische bedrijven en midden- en kleinbedrijven op het gebied van geneesmiddelenontwikkeling, en andere kennisinstellingen zoals [REDACTED] en [REDACTED], komen met hun vraagstellingen bij [REDACTED], omdat bij [REDACTED] specifieke expertise aanwezig is om deze vraagstellingen doeltreffend, en met gebruik van zo min mogelijk proefdieren, te beantwoorden. Gegevens verkregen bij proefdieren moeten daarbij optimaal relevant zijn bij het inschatten of het medicijn ook bij patiënten kansrijk zal zijn. [REDACTED]

3.3 Belang

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

Door de altijd voortschrijdende wetenschappelijke kennis ontstaat er een steeds beter inzicht in de moleculaire achtergrond van ziekten. De ontrafeling van de structuur van het menselijk DNA eind vorig millennium heeft daar sterk toe bijgedragen. Dit heeft geleid tot nieuwe mogelijkheden om diagnostica en therapeutica te ontwikkelen die zeer selectief in de tumor ophopen en daar hun diagnostische of therapeutische functie hebben. Voor anti-kankermiddelen betreft dit laatste het zeer selectief vernietigen van tumorcellen of het tot stilstand brengen, terugdringen of genezen van de ziekte. Dergelijke middelen worden daarom ook wel "targeted drugs" genoemd.

Ondanks deze wetenschappelijke vooruitgang is de vooruitgang in de behandeling van patiënten met kanker niet zo spectaculair, en heeft de translatie naar een effectieve klinische toepassing dus nog onvoldoende plaatsgevonden. Zoals uit onderstaande tabel blijkt hebben kankerpatiënten maar 25% kans op baat van behandeling met medicijnen en de jaarlijkse omzet aan medicijnen is ongeveer 800 miljard Euro met een *gemiddelde* effectiviteit van ca. 40%.

Er zijn verschillende redenen waarom de effectiviteit van medicijnen zo laag is; niet iedere patiënt met ogenschijnlijk dezelfde ziekte reageert hetzelfde op een medicijn. Inmiddels weten we dat bepaalde ziekten, bijv. borstkanker, weer uit subgroepen van ziekten bestaan, die ieder weer anders op medicijnen reageren. Daarnaast zien we nu, doordat we medicijnen met imaging in het lichaam af kunnen beelden, dat dezelfde medicijnen zich bij verschillende patiënten anders gedragen (verschillende farmacokinetiek). Dit heeft er toe geleid dat farmaceutische bedrijven op zoek zijn gegaan naar medicijnen die effectief zijn bij **subgroepen** van patiënten. Voor medicijnontwikkeling betekent dit dat het gebruik van goed gekarakteriseerde relevante ziektemodellen en een nauwkeurige bepaling van wat medicijnen daadwerkelijk in het zieke lichaam doen, onontbeerlijk is. Onze translationele aanpak (zie 3.4) is daar volledig op gericht.

De nieuwe generatie medicijnen is duur. Als voorbeeld: een behandeling met het medicijn "bevacizumab" voor de behandeling van dikke darm kanker kost zo'n 80.000 €/jaar. De gemiddelde levensverlenging is 2 maanden. Sommige patiënten hebben 2 jaar levensverlenging, maar een groot gedeelte van de patiënten heeft helemaal geen baat bij behandeling (en soms wel de bijwerkingen). De ontwikkeling van medicijnen specifiek voor kleine subgroepen patiënten betekent dat de medicijnen mogelijk nog duurder zullen worden. Mogelijk zo duur dat ze daardoor niet langer beschikbaar blijven voor de meeste patiënten. Daarom zal medicijnontwikkeling/testen efficiënter moeten. Onze aanpak, waarbij we met behulp van imaging in een vroegtijdig stadium kansrijke van kansarme medicijnen kunnen onderscheiden, is daarvoor een belangrijke mogelijkheid.

CURRENT INEFFECTIVENESS (%) OF DRUGS MEANS PHARMA NEEDS NEW STRATEGIES

	%
Depression	38
Asthma	40
Cardiac Arrhythmias	40
Diabetes	43
Migraine	48
Arthritis	50
Osteoporosis	52
Alzheimer's	70
Cancer	75

Zie ook dit recent artikel:



PHARMA WILL GO FROM BLOCKBUSTERS FOR HUGE GROUPS TO MORE EFFECTIVE MEDICINES FOR SUBGROUPS AND/OR FOR ONE PATIENT

Of nieuwe anti-kankermedicijnen inderdaad zeer selectief zijn kan alleen maar goed *in vivo* vastgesteld worden door de biodistributie in proefdieren met de specifieke tumor nauwkeurig te bepalen. Gebruik van proefdiermodellen, die het type tumor zoals die bij de mens voorkomt zo goed mogelijk representeren, is in dat stadium van medicijnontwikkeling belangrijk omdat hiermee het beste de situatie van een patiënt nagebootst wordt: vergelijkbare weefsel-architectuur van de tumor en het normaal weefsel, bloedvoorziening, afweersysteem, realistische farmacokinetiek en afbraak van medicijnen, en de gradiënt van voeding- en afvalstoffen. Bovendien is bekend dat voor de selectie van nieuwe medicijnen *in vitro* resultaten beperkte voorspellende waarde hebben voor de situatie in de patiënt. Obductie van groepen dieren [REDACTED] heeft hier veel meer waarde. Op deze manier kan ook nagegaan worden bij welke dosering een medicijn het beste in de tumor komt. Pas als deze karakteristieken vastgesteld zijn is het zinvol om naar de veiligheid en de effectiviteit van het medicijn te gaan kijken. Deze aanpak leidt tot het unieke resultaat dat:

- (1) Op een zeer efficiënte manier, met gebruik van zo weinig mogelijk proefdieren, kunnen de meest effectieve medicijnen geselecteerd worden. Efficiëntere selectie van kansrijke medicijnen is nodig omdat hiermee de prijs van "dure medicijnen" naar beneden gebracht kan worden, waardoor meer patiënten toegang zullen krijgen tot de medicijnen.
- (2) Exact dezelfde aanpak kan gevolgd worden voor patiënten. Ook hier geldt een efficiëntere ontwikkeling van medicijnen met minder patiënten. Daarnaast biedt het gebruik van gelabelde medicijnen de mogelijkheid om patiënten te selecteren die de meeste kans hebben op baat van de therapie: "therapie op maat". Alleen patiënten met goede opname van het medicijn in de tumor hebben kans op baat van de therapie. Indien dit niet het geval is kan beter ingezet worden op een andere therapie.
- (3) Doordat bij deze aanpak het *in vivo* gedrag van een nieuw medicijn nauwkeurig vastgelegd wordt, kan vroegtijdig vastgesteld worden of bepaalde eigenschappen van een medicijn eerst verbeterd moeten worden, alvorens verdere *in vivo* therapiestudies plaatsvinden.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

(1) alleen medicijnen die in eerder onderzoek *in vitro* in celculturen een bepaalde **tumor-selectieve werking** hebben laten zien zullen in proefdieren geëvalueerd worden. Dit vooronderzoek vindt plaats in onderzoekscentra (universiteit of zelfstandige centra zoals [REDACTED], academisch medische ziekenhuizen of binnen de farmaceutische industrie). Vervolgens wordt het preklinisch onderzoek met *gelabelde* medicijnen bij ons uitgevoerd in proefdieren. Proefdierstudies zijn zeer belangrijk in het vooronderzoek om een medicijn later klinisch te evalueren, omdat alleen proefdiermodellen op een juiste manier rekening houden met de complexiteit van de ziekte en inzicht geven in de toxische bijwerkingen op normale organen; (2) daartoe zullen er **proefdiertumormodellen** opgezet en in stand gehouden moeten worden, die de humane ziekte zo goed mogelijk representeren, waarna de medicijnen getest kunnen worden. Zoals in muizen waar stukjes van een menselijke tumor geïmplanterd zijn. Na uitgroei van de tumor kan de tumor verwijderd worden, in stukjes gesneden en kunnen de stukjes gebruikt worden voor implantatie bij een nieuwe groep muizen. Zo wordt een menselijke tumorlijn in proefdieren "in stand gehouden" en voor experimenten gereed gemaakt; (3) vervolgens zal in de hierboven beschreven tumormodellen *in vivo* vastgesteld worden of het (gelabelde) medicijn **selectief** en in **voldoende mate** in de tumor ophoopt. Hierbij wordt het medicijn in verschillende doseringen aan het proefdier toegediend waarna op verschillende tijdstippen na injectie de distributie van

het medicijn in het proefdier wordt bepaald. Als het medicijn niet selectief en/of onvoldoende ophoopt in de tumor, en er ook geen aangrijpingspunt is om de eigenschappen van het medicijn te verbeteren, dan zal de verdere ontwikkeling van het medicijn **gestaakt** worden; (4) van medicijnen die wel ziekte selectiviteit vertonen zal bepaald worden of ze veilig zijn bij een bepaalde dosis of hoeveel van het medicijn gegeven kan worden zonder dat er onacceptabele toxiciteit ontstaat (bepaling van de Maximaal Tolerabele Dosis = MTD). Het gaat hierbij dus om het vaststellen van de **veiligheid** van het medicijn, zodat er bij effectiviteitsstudies geen onnodig lijden van dieren ontstaat. Mocht het medicijn te toxisch blijken dan zal er ook **geen** verdere ontwikkeling plaats vinden; (5) Vervolgens wordt de **effectiviteit** van het medicijn vastgesteld, eventueel ten opzichte van bestaande geneesmiddelen, of in combinatie met andere geneesmiddelen. Dit gebeurt in dieren met een tumor. Mocht het nieuwe medicijn geen meerwaarde hebben t.o.v. bestaande medicijnen, dan zal de ontwikkeling van het medicijn **gestaakt** worden. Bij tekenen van onacceptabele toxiciteit, zal er ook **geen** verdere ontwikkeling plaats vinden.

Tot slot kunnen met het gelabelde medicijn nog diverse andere klinische toepassingen nagegaan worden, bijv.: (i) of hiermee de tumor(en) vroegtijdig gedetecteerd kunnen worden, (ii) of de dosering geoptimaliseerd kan worden, eventueel in combinatie therapie, en (iii) of de response van de behandeling vastgesteld kan worden.

Mocht een medicijn het hele traject met succes doorlopen, dan zullen er eerst gedetailleerde toxicologische studies uitgevoerd moeten worden voordat het medicijn bij patiënten gebruikt mag worden. Dergelijke tox. studies maken geen onderdeel uit van deze aanvraag.

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

Hoofdlijn:

Opzetten van voor de humane ziekte relevante **proefdiermodellen** in muis of rat waarin medicijnen met een **tumor-selectieve werking** kunnen worden onderzocht. Dit onderdeel omvat het opzetten van *in vivo* tumorlijnen vanuit gekweekte tumorcellen (in bijlagen aangeduid met **A1**) of tumorweefselstukjes (**A2**), en het gereed maken van de proefdieren met de betreffende tumorlijnen voor studies met geneesmiddelen (zie hierna).

Met gelabelde medicijnen zullen daarin **biodistributie en [REDACTED] studies** (bijlage 2) plaatsvinden. Daarbij zal in alle gevallen het welzijn van het dier goed in de gaten gehouden worden. Vrijwel alle proefdiertumormodellen worden al lange tijd door ons gebruikt waardoor betrokken medewerkers hier goed oog voor hebben. Bij nieuwe modellen zal de bestaande literatuur en ervaringen van collega's worden meegenomen om de juiste modelkeuze te maken en de betrokkenen medewerkers zullen zich eerst moeten bekwamen.

De **veiligheid/MTD van een medicijn** kan vastgesteld worden in gezonde muizen of ratten. In een gedeelte van de studies **beschreven in bijlage 3 (A1)** wordt gekeken hoeveel het dier van een medicijn kan verdragen na een eenmalige toediening. Dit zijn studies waarbij de **MTD** wordt vastgesteld. In een ander gedeelte van de studies (**A2**) wordt de veiligheid van een medicijn vastgesteld, zonder dat daarbij de MTD opgezocht wordt. Dit laatste kan het geval zijn voorafgaande aan studies waarbij de effectiviteit van het nieuwe medicijn vergeleken wordt met die van een bestaand soortgelijk medicijn (benchmark effectiviteitsstudies), of als bekend is dat het medicijn een optimale werking heeft bij een dosis lager dan de MTD.

De **effectiviteit van een medicijn** (bijlage 4) zal altijd vastgesteld worden in muizen of ratten die de tumoren dragen. Hoe beter het ziektebeloop vergelijkbaar is met dat bij de mens, hoe relevanter de waarnemingen worden, en hoe groter de kans zal zijn dat een medicijn dat effectief is in proefdieren ook effectief zal blijken te zijn in de mens.

Type studies:

Alleen medicijnen die *in vitro* een **tumor-selectieve werking** hebben getoond komen in aanmerking voor evaluatie in **proefdiertumormodellen**, zoals anti-kanker middelen waarvan

aangetoond is dat ze zeer effectief en selectief menselijke tumorcellijnen in celkweek kunnen doden). We zullen dan dezelfde cellijnen ook gebruiken om tumorgroei te induceren bij muis of rat. Daarbij kunnen menselijke tumorcellen of stukjes menselijke tumor subcutaan in de flank van het proefdier worden ingebracht, of in het orgaan waar de tumor normaal ontstaat (zgn. orthotopische modellen: bijv. pancreascarcinoomcellen die in de pancreas van de muis ingebracht worden of blaaskankercellen die in de blaaswand kunnen groeien). Omdat het vaak menselijke tumorcellen zijn, die i.h.a. moeilijk groeien in normale muizen, wordt gebruik gemaakt van muizen met een beperkte afweer, zoals naakte-, SCID- of NSG-muizen. Dit voorbeeld is relevant voor het testen van medicijnen, omdat het aangrijpingspunt / target van deze medicijnen van menselijke herkomst is (zoals een receptor die er voor zorgt dat kanker blijft groeien en pas als het medicijn de receptor blokkeert zal de tumorgroei stoppen). Een muis of rat heeft vaak een soortgelijke receptor, ook in normale organen, maar kan net iets anders zijn waardoor het medicijn daar geen / minder invloed op heeft. Dit kan tot gevolg hebben dat de resultaten bij dieren met een menselijke tumor een te rooskleurig beeld geven van de klinische potentie van het medicijn: het geeft wel een goed beeld van de anti-tumorwerking, maar de bijwerkingen worden onderschat. Daarom worden bij dit soort studies ook proefdieren (bijna altijd muizen) gebruikt waarbij het menselijke aangrijpingspunt/target in de organen van het dier tot expressie gebracht wordt: de zgn. genetisch gemodificeerde muizen ("knock-out" en "transgene" muizen).

Het onderzoek richt zich op medicijnen voor het behandelen van kanker (veelal gericht tegen specifieke tumortypen zoals hoofd-hals-, borst-, long-, blaas-, pancreas- prostaat-hersenen-, en colorectalkanker). De dierproeven, inclusief imaging procedures, zullen volgens "Standard Operating Procedures" (SOPs) uitgevoerd worden. Dit zal leiden tot uniformiteit in de gebruikte technieken, dierhandelingen, registraties, verfijning, vermindering ongerief (niet alleen door deskundigheid - die alle medewerkers behoren te hebben - maar vooral door de deskundigheid van de betrokken medewerkers gezien hun uitgebreide ervaring met biotechniek, anesthesiemethoden, pijnbestrijding en het bijhouden van hun vaardigheden) en standaardisatie van studies.

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.

Tumormodellen worden gebruikt omdat die een goed mogelijk voorspellende waarde hebben bij het testen van nieuwe medicijnen en daarvoor worden deze modellen in muis of rat ontwikkeld (type dierproef 1). In de **imaging en ex vivo weefseldistributiestudies** (type dierproef 2) zal worden onderzocht of het gelabelde medicijn goede eigenschappen bezit om selectief in de tumor op te hopen (bijv. hoge selectieve opname in de tumor en een goede verblijftijd/retentie in de tumor). De opname zal dosis en tijdafhankelijk zijn en kan uitgedrukt worden als percentage van de geïnjecteerde hoeveelheid medicijn die per gram (%ID/g) weefsel ophoopt. Als deze targeting eigenschappen niet goed zijn is het niet zinvol om de veiligheid en effectiviteit van het medicijn te gaan vaststellen. Als de targeting eigenschappen wel goed zijn, zal eerst een **veilige dosis** voor effectiviteitsstudies vastgesteld worden. Dit kan de MTD zijn (type dierproef 3). Daarbij wordt in eerste instantie gekeken naar effecten op globale kenmerken van het dier, zoals uiterlijke kenmerken, gewicht en gedrag. Pas als hier door het medicijn veranderingen ontstaan, zal op orgaanniveau gekeken gaan worden naar afwijkingen/toxiciteit. Als het medicijn onacceptabele toxiciteit geeft, dan zullen geen effectiviteitstudies plaatsvinden. Tot slot wordt gekeken of het medicijn bij veilige dosering inderdaad **effectief** is in proefdieren een tumor (type dierproef 4). De effectiviteit wordt bepaald door te kijken naar remming van de tumorgroei en/of de tumoren kleiner worden. Als het medicijn onvoldoende effectief blijkt zal het medicijn niet voor klinische studies in aanmerking kunnen komen.

- Picture Flowchart-

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Tumormodellen
2	Imaging en <i>ex vivo</i> weefseldistributiestudies
3	Veiligheid/MTD studies
4	Effectiviteitsstudies
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11400	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	VU medisch centrum , Amsterdam	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	Tumormodellen

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Het onderzoek richt zich op medicijnen voor het behandelen van kanker (veelal gericht tegen specifieke tumortypen zoals hoofd-hals-, borst-, long-, blaas-, pancreas- prostaat- hersenen-, en colorectalkanker). Dit onderdeel beschrijft de handelingen die nodig zijn voor het opzetten van *in vivo* tumorlijnen vanuit gekweekte tumorcellen (hieronder aangeduid met **A1**) of tumorweefselstukjes (**A2**).

Alleen anti-kankermedicijnen die in eerder onderzoek *in vitro* in celculturen een bepaalde tumor-selectieve werking hebben laten zien zullen in proefdieren geëvalueerd worden. Dit vooronderzoek vindt plaats in onderzoekscentra (universiteit of zelfstandige centra zoals het [redacted], academisch medische ziekenhuizen of binnen de farmaceutische industrie). De genoemde anti-kanker middelen zijn gericht op het zeer effectief en selectief doden van tumorcellijnen. We proberen dan dezelfde cellijnen ook te gebruiken om tumorgroei te induceren bij proefdieren. Hieraan voorafgaand wordt de tumorcellijn nauwkeurig gekarakteriseerd, om er zeker van te zijn dat deze tijdens *in vitro* groei onveranderd is gebleven. Het is onderzoek met snelle ontwikkelingen waarbij planning van proefdierstudies efficiënt moet gebeuren. Hiervoor worden tumorlijnen van vrijwel alle tumortypen gebruikt, maar in het bijzonder hoofd-hals-, borst-, long-, blaas, pancreas, prostaat, hersenen en colorectalkanker. Het s.c. xenograftmodel in vooral naakte muizen (maar ook toegepast in naakte ratten) is een wereldwijd veel gebruikt model voor deze studies. In toenemende mate wordt ook gebruik gemaakt van orthotopische modellen d.w.z. dat de tumorlijnen worden geplaatst in het zelfde orgaan van de muis of rat waar de tumorlijn van afkomstig is (zie A1). Daarnaast worden s.c. xenograftlijnen van humane oorsprong vaak tussen de verschillende experimenten in door

transplantatie in stand gehouden (zie A2)

Omdat het inderdaad vaak menselijke tumorcellen zijn die i.h.a. moeilijk groeien in normale muizen, wordt veelal gebruik gemaakt van muizen met een beperkte afweer, zoals naakte-, SCID- of NSG-muizen. Dit voorbeeld is relevant voor het testen van medicijnen, omdat het aangrijpingspunt/target van menselijke herkomst is, zoals bijv. een receptor die er voor zorgt dat de tumor blijft groeien, en pas als het medicijn de receptor blokkeert zal de tumorgroei stoppen. Het proefdier zelf heeft vaak een soortgelijke receptor, ook in normale organen, maar net iets anders waardoor het medicijn daar geen invloed op heeft. Daardoor kan zo'n studie in dit type muis een te rooskleurig beeld geven van de klinische potentie van het medicijn: het geeft wel een goed beeld van het effect van het medicijn op de tumor, maar de bijwerkingen worden onderschat. Een andere aanpak is dat proefdieren worden gebruikt waarbij het menselijke aangrijpingspunt/target ook in normale organen van het dier tot expressie gebracht wordt, zgn. genetisch gemodificeerde muizen zoals "knock-out" en "transgene" muizen of syngeneic tumormodellen zoals in het geval van blaaskankermodel waar zowel tumor als normale weefsels van muizen oorsprong zijn.

A.1. Gekweekte tumorcellen (o.a. humane oorsprong: borst-, hoofd-hals-, long-, pancreas, hersenen en colorectalkanker; murine oorsprong: blaaskanker) worden zonder verdoving s.c. in beide flanken, of onder verdoving orthotopisch direct in het doelorgaan, van muis of rat ingespoten. De tumor take rate en groeisnelheid kan variëren afhankelijk van de gebruikte cellijn. Het minimale aantal dieren zal 3 per tumorlijn zijn. Uit ervaring en/of uit de beschikbare literatuur is i.h.a. af te leiden wat de 'tumor take rate' en groeisnelheid zal zijn. Dit zal per tumorlijn en per experiment nauwkeurig worden bijgehouden en gerapporteerd aan de IvD. De algemene conditie zal dagelijks worden gecontroleerd, het gewicht van de dieren zal regelmatig worden bepaald, en bij opkomst van s.c. tumoren zal de tumorgrootte worden bepaald m.b.v. calipermetingen in 3 dimensies. De groei en tumorgrootte van orthotopisch tumoren zal met imaging worden bepaald, bijv. door gebruik van een bioreporter die in de cellen tot expressie wordt gebracht en bioluminescentie. Door regelmatige controle, en door onze algemene ervaring met dit model, kan voortijdig voorkomen worden dat het ongerief voor de dieren matig of ernstig wordt.

A.2. Tumorweefselstukjes implanteren in de naakte-, SCID-, NSG-muis of naakte rat: bij gebruik van tumorfragmenten worden de weefselstukjes onder anesthesie in een aantal dieren s.c. in beide flanken geïmplaneerd. Deze procedure is bedoeld om de tumorlijn tussen de verschillende experimenten te handhaven d.m.v. extra passages. Eventueel overblijvend tumormateriaal kan worden gebruikt voor microscopische analyse, of voor opslag in N₂. Indien de tumor take rate onbekend is: per tumorlijn 3 dieren in een pilot experiment om de take rate en groeisnelheid te bepalen. Aan de hand van die uitkomst kan het aantal dieren worden berekend voor het betreffende experiment. Het minimale aantal dieren zal 3 per tumorlijn zijn per 3-6 weken (passagetijd en aantal benodigde tumorweefselstukjes). In de praktijk zijn er meestal niet meer dan 6 tumorlijnen tegelijk in gebruik. Als er geen uitzicht is dat een bepaalde lijn gedurende de komende 3 maanden gebruikt gaat worden voor experimenten zal de tumorlijn worden gestopt. Bij een bekende tumor take rate van > 80% en een bekende groeisnelheid kan het experiment direct worden ingezet. De algemene conditie van de dieren zal dagelijks worden gecontroleerd, het gewicht van de dieren zal regelmatig worden bepaald en de bij opkomst van s.c. tumoren zal de tumorgrootte worden bepaald m.b.v. calipermetingen in 3 dimensies. Door regelmatige controle, en door onze algemene ervaring met dit model, kan voortijdig voorkomen worden dat het ongerief voor de dieren matig of ernstig wordt.

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 *in vivo* modellen bieden zeer belangrijke voordelen boven *in vitro*-systemen: weefselarchitectuur, doorbloeding, realistische farmacokinetiek, de gradiënt van voedings- en afvalstoffen. Er is beschreven dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten in de tumormodellen en in patiënten. Bovendien is bekend dat *in vitro* resultaten beperkte

voorspellende waarden hebben voor de situatie bij de patiënt. De meeste nieuwe anti-kankermedicijnen die tegenwoordig ontwikkeld worden zijn bedoeld om de tumor selectief te targeten, om de tumor bij de wortels aan te pakken. Vandaar dat een realistische farmacokinetiek, doorbloeding en weefsel-architectuur onontbeerlijk zijn

Algemeen: na binnenkomst worden dieren groepsgewijs gehuisvest en gedurende een periode van tenminste 1 week gehanteerd voor acclimatisatie. Dieren worden dagelijks geobserveerd en na inzet experiment, 2x per week gewogen. Indien nodig worden individuele dieren geïdentificeerd m.b.v. oorknipjes of markering op de staart. S.c. tumorgroei wordt 2x per week gemeten met behulp van een schuifmaat. Orthotopische tumorgroei wordt 2x per week onder verdoving bepaald m.b.v. ()

A1. eenmalig s.c. inspuiten tumorcellen zonder verdoving bij muis of rat. Bij injectie tumorcellen op de plaats van het betreffende orgaan (orthotopische tumormodellen) zal het dier eerst onder verdoving worden gebracht en waar nodig adequate pijnstilling worden toegepast. Dit zijn tumormodellen in de pancreas, intraperitoneaal of in de hersenen. Bij tumoren in het brein worden de tumorcellen m.b.v. een stereotactisch frame, Hamiltonspuit en naald en de breinatlas in het gewenste deel van de hersenen gebracht.

Wat betreft het orthotopische blaaskankermodel wordt via een kleine canule de tumorceloplossing in de blaas gebracht ()

A2. Bij elk dier (i.h.a. naakte-, SCID-, NSG-muis of naakte rat) worden onder verdoving twee, kleine tumorweefselstukjes s.c. geïmplantéerd door het maken van een klein sneetje in de huid en het inbrengen van de stukjes tumor m.b.v. een pincet. Ook zonder hechting groeien de sneetjes binnen enkele dagen dicht. Wanneer de tumoren ongeveer 500 mm³ zijn zal de tumorlijn doorgezet worden naar 3 volgende dieren. De donormuizen zullen worden gedood door middel van cervicale dislocatie onder anesthesie. In het geval van primair patiënten tumormateriaal wordt een identieke procedure gevolgd.

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

Voor elk experiment zal in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) een Power analyse worden uitgevoerd om het aantal dieren tot een minimum te beperken. Doordat de tumormodellen al jaren gebruikt worden en er grote ervaring is met de verschillende type experimenten waarbij de dieren ingezet worden, is ook een nauwkeurige inschatting voor het aantal benodigde dieren per experiment mogelijk. Voor het vaststellen van verschillen in tumor- en weefselopname / controle en artritis knieën wordt de Student's t-test voor ongepaarde data gebruikt zoals in eerdere onderzoeken met vergelijkbare experimenten is gebruikt en gepubliceerd.

B. De dieren

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

Voor de experimenten worden jong volwassen muizen en ratten gebruikt (wildtype, immuundeficiënte, GGO) allen afkomstig van geregistreerde fokbedrijven. Tot nu toe werden vrijwel alleen vrouwelijke dieren gebruikt, maar er is nooit vastgesteld of het geslacht van de dieren invloed heeft op de uitkomst van experimenten. Vandaar dat in het vervolg zowel vrouwelijke als mannelijke dieren gebruikt zullen gaan worden, behalve als er aanwijzingen zijn dat het geslacht wel uit maakt.

() Het is niet eenvoudig om een schatting voor de toekomst te geven maar op basis van de afgelopen 5 jaar en de toenemende vraag vanuit farma bedrijven

kunnen we een reële inschatting maken.

A1: Opzetten tumormodellen vanuit ingespoten cellen: 3 muizen per cellijn (=3)

A2: Opzetten en in stand houden tumormodellen vanuit tumorweefselstukjes: iedere cellijn, 4x transplanteren per jaar in 3 muizen (= 12)

Hieronder vermelde getallen betreft uitsluitend het aantal dieren dat nodig is voor het opzetten en in stand houden van proefdiermodellen. Het aantal tumordragende dieren waarbij de medicijnen vervolgens op effectiviteit zullen worden bestudeerd worden in die betreffende bijlage genoemd.

Aantal dieren:	aantal cellijnen	per jaar	per 5 jaar
Naakte muizen (s.c.+orthotopisch)	A1: n = 10	30	150
	A2: n = 6	72	360
SCID / NSG muizen	A1: n = 5	15	75
	A2: n = 4	48	240
GGO muizen	A1: n = 5	15	75
	A2: n = 3	36	180
Normale muizen	A1: n = 2	6	30
Naakte ratten	A1: n = 4	12	60
	A2: n = 2	24	120

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

De *in vivo* modellen bieden zeer belangrijke voordelen boven *in vitro*-systemen: weefselarchitectuur, doorbloeding, realistische farmacokinetiek, de gradiënt van voedings- en afvalstoffen. Er is beschreven dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten in de tumormodellen en in patiënten. Bovendien is bekend dat *in vitro* resultaten beperkte voorspellende waarden hebben voor de situatie bij de patiënt. De meeste nieuwe anti-kankermedicijnen die tegenwoordig ontwikkeld worden zijn bedoeld om de tumor selectief te targeten, om de tumor bij de wortels aan te pakken. Vandaar dat een realistische farmacokinetiek, doorbloeding en weefselarchitectuur onontbeerlijk zijn. Medicijnen die in proefdieren getest worden, hebben al een uitgebreide *in vitro* selectie achter de rug, en zijn daarom zeer reële kandidaten voor evaluatie in patiënten. Voor ieder medicijn afzonderlijk zal in de betreffende protocollen deze afweging opnieuw gemaakt worden. Daarnaast bestaan er geen *in vitro* modellen waarin de interactie tussen tumorcellen en de omgeving van de ontstane tumor *in vivo* en de effecten van de te bestuderen stoffen, inclusief de farmacokinetiek / farmacodynamiek kan worden bestudeerd. Kennis over deze kinetiek is noodzakelijk voor de toepassing van tracers in andere experimentele onderzoeken (als voorbeeld: de folaatreceptor komt verhoogd tot expressie in bepaalde vormen van kanker maar ook in andere ziekten, zodat

die voor kankeronderzoek ontwikkelde tracer, ook in andere ziekten kan worden gebruikt).

Vermindering

A1, A2: Er zal zoveel mogelijk worden geprobeerd om het tumormodel vanuit gekweekte tumorcellen te starten waarvan de take rate en groeisnelheid bekend zijn.

Voor de implantatiemethode is het alternatief om zodra een xenograftlijn voor dierproeven nodig is, de lijn vanuit opslag (vloeibare stikstof) opnieuw op te starten. Het duurt dan echter voor de meeste tumormodellen een aantal passages in muizen (en dus diverse muizen) voordat de xenograftlijn stabiel genoeg is voor experimenten. Bij een periode langer dan 3 maanden tussen geplande experimenten wordt de xenograftlijn gestopt.

De opzet van de studies vermindert ook proefdieren, daar 1) vooraf, uitgebreide *in vitro* analyses van de te onderzoeken medicijnen worden uitgevoerd, 2) m.b.v. ██████████ imaging longitudinale studies met dezelfde dieren gedaan kunnen worden. Dit vermindert dieren t.o.v. *ex vivo* onderzoek van tumoren, omdat daar op ieder tijdstip dieren geofferd moeten worden

Verfijning

De dieren zullen dagelijks goed geobserveerd worden (gedrag, beweging, eten en drinken, zichtbare afwijkingen aan huid, ogen, oren, ontlasting) en humane eindpunten worden gehanteerd om onnodig lijden te voorkomen.

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.

Acclimatisatie na binnenkomst dieren met dagelijkse observatie op mogelijke afwijkingen en regelmatig hanteren door ervaren dierversorgers. Lawaai-gerelateerde stress zal tot een minimum zijn beperkt door de speciale, rustige, gecontroleerde (temperatuur en vochtigheid) huisvesting. De dieren zullen gezamenlijk worden gehuisvest. Om de leefomstandigheden te optimaliseren wordt, afgezien van muziek in de ruimte, de gebruikelijke bedding en houtkrullen ook rode kunststof- en kartonnen huisjes, houten blokjes en papieren handdoekjes toegevoegd. Pijnbestrijding zal waar nodig worden toegepast. Het gebruik van inhalatie-anesthesie leidt tot een snelle narcose en gaat gepaard met een beperkte vorm van analgesie, waardoor er sprake is van weinig ongerief. De dieren ontwaken snel, en lopen binnen 10 minuten weer in hun kooi rond. De neveneffecten van isofluraan op het fysiologisch systeem zijn in vergelijking met andere anesthetica beperkt. Tenslotte is er veel ervaring opgebouwd met isofluraan en is alle apparatuur voorhanden. Risico op complicaties zijn minimaal door de deskundigheid en uitgebreide ervaring bij de betrokken medewerkers. Het risico op bacteriële contaminatie of andere complicaties is zeer gering omdat de immuun-gecompromitteerde dieren in steriele filtertop kooien ██████████ worden gehuisvest, die alleen via een sluis te bereiken is. Hier worden de dieren bij een juiste temperatuur en vochtigheid gehuisvest. Het hanteren van de dieren in filtertopkooien zal in deze gecontroleerde ruimte plaatsvinden. De kans op pijn, lijden of angst wordt door deze maatregelen tot een minimum beperkt. Doordat de tumormodellen al jarenlang gebruikt worden, en door de grote ervaring van personeel dat de dieren dagelijks controleert, is de kans op matig tot ernstig ongerief vrijwel nihil. Indien pijnbestrijding nodig is zal dit worden toegepast in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD).

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.

Voor alle beschreven modellen wordt allereerst in de literatuur nagegaan of identieke proeven zijn uitgevoerd. Door onze specifieke expertise wordt onze afdeling vaak om advies gevraagd en/of samenwerkingsprojecten opgezet zowel met andere researchinstellingen met academia en farma. ██████████

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

1 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.

A1, A2: Er zal in lichte mate ongerief optreden is de ervaring van de laatste jaren met deze modellen, en de kans op matig of ernstig ongerief is vrijwel nihil. Mocht de tumorgroei op een bepaalde locatie onverwacht wel pijn veroorzaken, dan wordt het dier of direct geëuthanaseerd of er wordt in overleg met de IvD pijnstilling bepaald en toegepast.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

A1, A2: Geen tot licht (zie ook onder punt H.).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het ziektemodel zelf kan de oorzaak zijn

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

Allereerst zal in de literatuur en bij collega's worden nagegaan of schadelijke effecten te verwachten zijn, en welke die zijn, zodat daarop kan worden geanticipeerd. Daarnaast worden de dieren in optimale omstandigheden gehuisvest en na start van de studie dagelijks en individueel geobserveerd op mogelijke afwijkingen en regelmatig gehanteerd door ervaren diervverzorgers. Bij tekenen van lijden of ander mogelijk ongerief, wordt adequate pijnbestrijding toegepast in

overleg met de IvD (zie ook onder H) of het dier direct geëuthanaseerd (onder anesthesie).

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.

De humane eindpunten beschreven in de "Code of Practice Dierproeven in Kankeronderzoek" (P. de Greeve, Inspectie W&V en <http://www.ivd-utrecht.nl/nl/wet-regels-en-richtlijnen/codes-of-practice/>) en in het "OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 19; Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation, pg 1-19" zullen te allen tijde worden toegepast. Dit houdt in dat het eindpunt nooit spontane sterfte van het dier mag zijn en nooit gewacht mag worden met euthanaseren tot het dier in stervende toestand verkeert. Vanaf aankomst en start behandeling wordt elk dier dagelijks geobserveerd op algehele conditie en gedrag, temperatuur, de inname van water en voedsel, gewichtsverlies, zichtbare infecties, gastro-intestinale afwijkingen (zoals diarree), oogproblemen, tremors en mogelijke circulatie-, ademhalings-, gedrag- en voortbewegingsproblemen. Geconstateerde afwijkingen worden genoteerd in het welzijnsdagboek en bij pijn of anderszins afwijkingen in bovengenoemde parameters (gewichtsverlies van max. 15% in 1-2 dagen en t.o.v. start behandeling, geen inname water/voedsel, zichtbare infecties, diarree, plasproblemen, tremors, afwijkingen in ogen, gedrag, temperatuur (te meten aan lichaamsuiteinden), circulatie, ademhaling, voortbeweging wordt het dier onder anesthesie getermineerd. Mochten zich onverwachte, onverklaarbare verschijnselen voordoen, zal een patholoog worden ingeschakeld om de weefsels van het dier nader te onderzoeken om de oorzaak proberen te achterhalen.

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

A1, A2: de verwachting is dat er alleen licht ongerief zal optreden en dat de kans op matig of ernstig ongerief vrijwel nihil is.

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.

A1, A2: de verwachting is dat er alleen licht ongerief zal optreden en dat de kans op matig of ernstig ongerief nihil is. **(zie ook het Addendum "Ongerieftabel")**.

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.

Ja, omdat de tumoren te groot zouden kunnen worden en ook de weefsels en tumoren *ex vivo* nader zullen worden onderzocht.

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

onoordeelkundig gebruikt wordt en tot onacceptabele bijwerkingen leidt veel kleiner. Als de biodistributie/imaging studies laten zien dat het medicijn niet selectief in de tumor ophoopt, en/of in hoge mate in normale organen ophoopt, kan verdere ontwikkeling van het medicijn gestaakt worden. Doordat, zoals hierboven beschreven, [REDACTED]

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

Proefdieren met tumoren zoals beschreven in bijlage Type dierproef volgnummer 1 **“Tumormodellen”** ontvangen onder verdoving een tracerdosis (voor imaging zijn slechts zeer lage, niet toxische doses nodig) van het gemerkte medicijn intraveneus of intraperitoneaal in een volume van $\leq 200 \mu\text{l}$ in het geval van muizen en $\leq 500 \mu\text{l}$ in het geval van ratten. De proefdieren kunnen vervolgens onder verdoving 1 of meerdere [REDACTED] van maximaal 1 uur ondergaan [REDACTED] en/of gebruikt worden om *ex vivo* weefseldistributie van het gemerkte medicijn te bepalen. Voor dit laatste worden op verschillende tijdstippen na injectie de dieren verdoofd, getermineerd en worden bloed en organen uitgenomen waarna de opname van het medicijn in de verschillende weefsels kan worden uitgedrukt als percentage van de geïnjecteerde dosis per gram weefsel (%ID/g).

In het algemeen ondergaan de dieren die een snel klarend medicijn ontvangen slechts 1 scan direct na injectie. Grotere medicijnen zoals monoclonale antilichamen hebben een verblijftijd in het lichaam van dagen tot weken en dan worden er per proefdier 2-4 scans gemaakt met een tussenpose van 1 of meerdere dagen.

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

Voor elk experiment zal in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) een Power analyse worden uitgevoerd om het aantal dieren tot een minimum te beperken. Doordat de tumormodellen al jaren gebruikt worden, en er grote ervaring is met de verschillende type experimenten waarbij de dieren ingezet worden, is ook een nauwkeurige inschatting voor het aantal benodigde dieren per experiment mogelijk. Voor het vaststellen van verschillen in tumor- en weefselopname / controle wordt de Student's t-test voor ongepaarde data gebruikt zoals in eerdere onderzoeken met vergelijkbare experimenten is gebruikt en gepubliceerd.

B. De dieren

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

De *in vivo* tumormodellen bieden zeer belangrijke voordelen boven *in vitro*-systemen: weefselarchitectuur, doorbloeding, realistische farmacokinetiek, de gradiënt van voedings- en afvalstoffen. Er is beschreven dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten in de tumormodellen en in patiënten. Bovendien is bekend dat *in vitro* resultaten beperkte voorspellende waarden hebben voor de situatie bij de patiënt. De meeste nieuwe medicijnen die tegenwoordig ontwikkeld worden zijn bedoeld om de tumor selectief te targeten om de tumor bij de wortels aan te pakken. Vandaar dat een realistische farmacokinetiek, doorbloeding en weefselarchitectuur onontbeerlijk zijn. Medicijnen die in proefdieren getest worden, hebben al een uitgebreide *in vitro* selectie achter de rug, en zijn daarom zeer reële kandidaten voor evaluatie in patiënten.

Voor de experimenten worden jong volwassen muizen en ratten gebruikt (wildtype, immuundeficiënte, GGO) allen afkomstig van geregistreerde fokbedrijven. Tot nu toe werden vrijwel alleen vrouwelijke dieren gebruikt, maar er is nooit vastgesteld of het geslacht van de

dieren invloed heeft op de uitkomst van experimenten. Vandaar dat in het vervolg zowel vrouwelijke als mannelijke dieren gebruikt zullen gaan worden, behalve als er aanwijzingen zijn dat het geslacht wel uit maakt.

1: Biodistributie studies muizen: Om een goed beeld te krijgen van de biodistributie van een geneesmiddel, en de dosisafhankelijkheid daarvan, wordt het geneesmiddel gemiddeld bij 3 doses getest, op 3 tijdstippen, met 5 dieren per tijdstip (= 45). Voor studies met naakte ratten en standaard muizen is de grootte van de studies 50% (= 22)

2: ■■■ studies muizen: per geneesmiddel gemiddeld 3 doses, 3 dieren per tijdstip (= 9). Voor ratten studies is grootte studie 50% (= 4)

Het aantal studies is gebaseerd op het aantal studies in het verleden en de trend van toename gedurende de afgelopen jaren.

Aantal dieren:	aantal medicijnen	per jaar	per 5 jaar
Naakte muizen (s.c. + orthotopisch)	1: n = 6	270	1350
	2: n = 6	54	270
SCID/NSG muizen	1: n = 3	135	675
	2: n = 3	27	135
GGO muizen	1: n = 2	90	450
	2: n = 2	18	90
Normale muizen	1: n = 1	22	110
	2: n = 1	9	45
Naakte ratten	1: n = 4	88	440
	2: n = 4	16	80

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:

De *in vivo* modellen bieden zeer belangrijke voordelen boven *in vitro*-systemen: weefselarchitectuur, doorbloeding, realistische farmacokinetiek, de gradiënt van voedings- en afvalstoffen. Er is beschreven dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten in de tumormodellen en in patiënten. Bovendien is bekend dat *in vitro* resultaten beperkte voorspellende waarden hebben voor de situatie bij de patiënt. De meeste nieuwe anti-kankermedicijnen die tegenwoordig ontwikkeld worden zijn bedoeld om de tumor selectief te targeten, om de tumor bij de wortels aan te pakken. Vandaar dat een realistische farmacokinetiek, doorbloeding en weefselarchitectuur onontbeerlijk zijn. Medicijnen die in proefdieren getest worden, hebben al een uitgebreide *in vitro* selectie achter de rug, en zijn daarom zeer reële kandidaten voor evaluatie in patiënten. Voor ieder medicijn afzonderlijk zal in de betreffende protocollen deze afweging opnieuw gemaakt worden. Daarnaast bestaan er geen *in vitro* modellen waarin de interactie tussen tumorcellen en de omgeving van de ontstane tumor

in vivo en de effecten van de te bestuderen stoffen, inclusief de farmacokinetiek / farmacodynamiek kan worden bestudeerd. Kennis over deze kinetiek is noodzakelijk voor de toepassing van tracers in andere experimentele onderzoeken [REDACTED]

Vermindering

In het geval van tumor-dragende dieren zal zoveel mogelijk worden gewerkt met tumorcellijnen waarvan bekend is wat de take rate en de tumorgroei is. Dit scheelt dieren. De opzet van de studies vermindert ook proefdieren, daar 1) vooraf, uitgebreide *in vitro* analyses van de te onderzoeken medicijnen worden uitgevoerd, 2) m.b.v. van [REDACTED] studies met dezelfde dieren gedaan kunnen worden. Dit vermindert dieren t.o.v. *ex vivo* onderzoek van tumoren, omdat daar op ieder tijdstip dieren geofferd moeten worden.

Verfijning

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.

Acclimatisatie na binnenkomst dieren met dagelijkse observatie op mogelijke afwijkingen en regelmatig hanteren door ervaren diervverzorgers. Lawaai-gerelateerde stress zal tot een minimum zijn beperkt door de speciale, rustige, gecontroleerde (temperatuur en vochtigheid) huisvesting. De dieren zullen gezamenlijk worden gehuisvest. Om de leefomstandigheden te optimaliseren wordt, afgezien van muziek in de ruimte, de gebruikelijke bedding en houtkrullen ook rode kunststof- en kartonnen huisjes, houten blokjes en papieren handdoekjes toegevoegd. Pijnbestrijding zal waar nodig worden toegepast. Het gebruik van inhalatie-anesthesie leidt tot een snelle narcose en gaat gepaard met een beperkte vorm van analgesie, waardoor er sprake is van weinig ongerief. De dieren ontwaken snel, en lopen binnen 10 minuten weer in hun kooi rond. De neveneffecten van isofluraan op het fysiologisch systeem zijn in vergelijking met andere anesthetica beperkt. Tenslotte is er veel ervaring opgebouwd met isofluraan en is alle apparatuur voorhanden. Risico op complicaties zijn minimaal door de deskundigheid en uitgebreide ervaring bij de betrokken medewerkers. Het risico op bacteriële contaminatie of andere complicaties is zeer gering omdat de immuun-gecompromitteerde dieren in steriele filtertop kooien [REDACTED] worden gehuisvest, die alleen via een sluis te bereiken is. Hier worden de dieren bij een juiste temperatuur en vochtigheid gehuisvest. Het hanteren van de dieren in filtertopkooien zal in deze gecontroleerde ruimte plaatsvinden. Bij tekenen van lijden wordt het dier geëuthanaseerd (onder anesthesie). De kans op pijn, lijden of angst wordt door deze maatregelen tot een minimum beperkt. Doordat de tumormodellen al jarenlang gebruikt worden, en door de grote ervaring van personeel dat de dieren dagelijks controleert, is de kans op matig tot ernstig ongerief vrijwel nihil. Indien pijnbestrijding nodig is zal dit worden toegepast in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD).

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.

Voor alle beschreven modellen wordt allereerst in de literatuur nagegaan of identieke proeven zijn uitgevoerd. Door onze specifieke expertise wordt onze afdeling vaak om advies gevraagd en/of samenwerkingsprojecten opgezet zowel met andere researchinstututen met academia en farma. [REDACTED]

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.

Er zal in lichte mate ongerief optreden is de ervaring van de laatste jaren met deze modellen, en de kans op matig of ernstig ongerief is vrijwel nihil. Mocht de tumorgroei op een bepaalde locatie onverwacht wel pijn veroorzaken, dan wordt het dier of direct geëuthanaseerd of er wordt in overleg met de IvD pijnstilling bepaald en toegepast.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen tot licht (zie ook onder punt H)

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het ziektemodel zelf kan de oorzaak zijn

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

Allereerst zal in de literatuur en bij collega's worden nagegaan of schadelijke effecten zijn te verwachten en welke die zijn zodat daarop kan worden geanticipeerd. Daarnaast worden de dieren in optimale omstandigheden gehuisvest en na start van de studie dagelijks en individueel geobserveerd op mogelijke afwijkingen en regelmatig gehanteerd door ervaren dierverzorgers. Bij tekenen van lijden of ander mogelijk ongerief, wordt adequate pijnbestrijding toegepast in

overleg met de IvD (zie ook onder H) of het dier direct geëuthanaseerd (onder anesthesie).

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.

De humane eindpunten beschreven in de "Code of Practice Dierproeven in Kankeronderzoek" (P. de Greeve, Inspectie W&V en <http://www.ivd-utrecht.nl/nl/wet-regels-en-richtlijnen/codes-of-practice/>) en in het "OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 19; Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation, pg 1-19" zullen te allen tijde worden toegepast. Dit houdt in dat het eindpunt nooit spontane sterfte van het dier mag zijn en nooit gewacht mag worden met euthanaseren tot het dier in stervende toestand verkeert. Vanaf aankomst en start behandeling wordt elk dier dagelijks geobserveerd op algehele conditie en gedrag, temperatuur, de inname van water en voedsel, gewichtsverlies, zichtbare infecties, gastro-intestinale afwijkingen (zoals diarree), oogproblemen, tremors en mogelijke circulatie-, ademhalings-, gedrag- en voortbewegingsproblemen. Geconstateerde afwijkingen worden genoteerd in het welzijnsdagboek en bij pijn of anderszins afwijkingen in bovengenoemde parameters (gewichtsverlies van max. 15% in 1-2 dagen en t.o.v. start behandeling, geen inname water/voedsel, zichtbare infecties, diarree, plasproblemen, tremors, afwijkingen in ogen, gedrag, temperatuur (te meten aan lichaamsuiteinden), circulatie, ademhaling, voortbeweging wordt het dier onder anesthesie getermineerd. Mochten zich onverwachte, onverklaarbare verschijnselen voordoen, zal een patholoog worden ingeschakeld om de weefsels van het dier nader te onderzoeken om de oorzaak proberen te achterhalen.

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

de verwachting is dat er alleen licht ongerief zal optreden en dat de kans op matig of ernstig ongerief vrijwel nihil is.

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 verwachting is dat er alleen licht ongerief zal optreden en dat de kans op matig of ernstig ongerief nihil is (zie ook het Addendum "Ongerietafel").

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.

Ja, indien de normale weefsels en tumoren *ex vivo* nader zullen worden onderzocht

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

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

1 Algemene gegevens

- | 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | 11400 | | | | |
|------------|--|--|------------|----------------|---|------------------------|
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | VU medisch centrum, Amsterdam | | | | |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in. | <table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Volgnummer</th> <th style="text-align: left;">Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">3</td> <td style="padding: 2px;">Veiligheid/MTD studies</td> </tr> </tbody> </table> | Volgnummer | Type dierproef | 3 | Veiligheid/MTD studies |
| Volgnummer | Type dierproef | | | | | |
| 3 | Veiligheid/MTD studies | | | | | |

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.

Alleen medicijnen die *in vitro* een ziekte-selectieve werking hebben getoond komen in aanmerking voor evaluatie in proefdieren. Als deze targetting eigenschappen niet goed zijn is het niet zinvol om de veiligheid en effectiviteit van het medicijn in proefdieren te gaan vaststellen. Als de targetting eigenschappen *in vivo* in proefdieren goed zijn, en het medicijn selectief in de ziekte op blijkt te hopen (bijlage **Volgnummer 2**), dan is dat veelbelovend voor eventuele toepassing bij patiënten. Echter voordat het medicijn in mensen kan worden bestudeerd, zijn studies naar veiligheid en effectiviteit in proefdieren noodzakelijk. De hier bedoelde veiligheidstudies zijn niet bedoeld ter vervanging van gedetailleerde toxicologische studies, maar als studies om onnodig lijden van dieren in effectiviteitsstudies te voorkomen. In een gedeelte van de studies (**A1**) wordt gekeken hoeveel het dier van een medicijn kan verdragen na een eenmalige toediening. Dit zijn studies waarbij de maximaal tolereerbare dosis (MTD) wordt vastgesteld. In een ander gedeelte van de studies (**A2**) wordt de veiligheid van een medicijn vastgesteld, zonder dat daarbij de MTD opgezocht wordt. Dit laatste kan het geval zijn voorafgaande aan studies waarbij de effectiviteit van het nieuwe medicijn vergeleken wordt met die van een bestaand soortgelijk medicijn (benchmark effectiviteitsstudies), of als bekend is dat het medicijn een optimale werking heeft bij een dosis lager dan de MTD.

In MTD studies wordt de maximaal tolereerbare dosis bepaald die veilig kan worden gegeven zonder dat er onacceptabele toxiciteit plaats vindt, waarna middels extrapolatie de start dosis voor de mens kan worden bepaald. In deze studie wordt veiligheid (en hieraan gerelateerd, onacceptabele toxiciteit) in eerste instantie bepaald door te kijken naar globale kenmerken van het dier, zoals lichaamsgewicht, uiterlijke kenmerken zoals afwijkend gedrag (lethargie, huidafwijkingen, loopproblemen, ademhalingsproblemen) en conform de algemene richtlijnen

voor ongerief (referentie Lasa, NC3Rs, Guidance on dose level selection, www.lasa.co.uk). Pas als hier door het medicijn veranderingen ontstaan, zal op orgaanniveau gekeken gaan worden naar afwijkingen/weefsel toxiciteit. Als het medicijn niet veilig blijkt, dan zullen geen verdere effectiviteitstudies plaatsvinden (bijlage **volgnummer 4**).

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.

Een veiligheids/MTD studie houdt in dat groepen van 5 gezonde dieren worden behandeld met 1 dosis (**A2**) of een een oplopende dosis van het te onderzoeken medicijn (**A1**). De dosis medicijn (uitgedrukt als aantal mg per kg lichaamsgewicht) en de toedieningsroute (intraveneus, intraperitoneaal, oraal, subcutaan) varieert per medicijn.

Net zoals MTD studies in mensen worden uitgevoerd, wordt per groep dieren 1 dosis getest (eenmalige toediening). Indien met de aanvangsdosis bij geen enkel dier van die groep toxiciteit gevonden wordt (zie ook het "OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 19; Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation, pg 1-19"), zal de volgende groep dieren worden behandeld met een eenmalige injectie van een hogere dosis, enzovoort. Zodra in 1 of meerdere dieren in een groep toxische effecten, gepaard gaande met ongerief voor de dieren, wordt gevonden zal deze groep met die dosis moeten worden herhaald om uit te sluiten dat dit een toevallige bevinding is; een extra groep dieren wordt eenmalig behandeld met die zelfde dosis en indien de eerdere bevindingen worden bevestigd, betekent dit dat de MTD is bereikt en de maximale dosis bekend is: het dosis niveau onder de dosis waarbij toxische effecten waargenomen werden. Deze opzet is conform de literatuur en conform de opzet die wordt toegepast in mensen

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

Voor elk experiment zal in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) een Power analyse worden uitgevoerd om het aantal dieren tot een minimum te beperken. Doordat de tumormodellen al jaren gebruikt worden, en er grote ervaring is met MTD studies, is ook een nauwkeurige inschatting voor het aantal benodigde dieren per experiment mogelijk.

B. De dieren

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

Er wordt gebruik gemaakt van jong volwassen, gezonde muizen of ratten (wildtype, immuundeficiënte, GGO) allen afkomstig van een geregistreerd fokbedrijf. Tot nu toe werden vrijwel alleen vrouwelijke dieren gebruikt, maar er is nooit vastgesteld of het geslacht van de dieren invloed heeft op de uitkomst van experimenten. Vandaar dat in het vervolg zowel vrouwelijke als mannelijke dieren gebruikt zullen gaan worden, behalve als er aanwijzingen zijn dat het geslacht wel uit maakt.

Het aantal dieren per kandidaat-medicijn is 5 in geval van **A2**. Voor **A1** zal dit afhangen van het moment van het bereiken van de MTD. Ook bij **A1** zullen per dosagroep 5 dieren worden gebruikt. MTD studies worden uitgevoerd in normale muizen (of in tumordragende muizen indien dit medicijn later in dit type muis zal worden toegepast om de effectiviteit te testen) en ratten (of in tumordragende ratten indien dit medicijn later in dit type rat zal worden toegepast om de effectiviteit te testen). De aanvangsdosis wordt vastgesteld aan de hand van de eigenschappen van het medicijn en de daarvoor relevante literatuur of op basis van informatie uit [REDACTED]

Per geneesmiddel worden in **A2** experimenten 5 dieren gebruikt (= 5), in **A1** experimenten gemiddeld 5 doses; per dosis 5 dieren (= 25). Het aantal studies is gebaseerd op het aantal studies in het verleden en de trend van toename gedurende de afgelopen jaren.

Aantal dieren:	aantal medicijnen	per jaar	per 5 jaar
Normale muizen	A1 n=2	50	250
	A2 n=2	10	50

Naakte muizen	A1 n=3	75	375
	A2 n=4	20	100
SCID muizen	A1 n=2	50	250
	A2 n=2	10	50
Normale ratten	A1 n=3	75	375
	A2 n=3	15	75

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

Voor ieder medicijn afzonderlijk zal in de betreffende protocollen steeds opnieuw de afweging gemaakt worden. Er bestaan geen *in vitro* modellen waarin de interactie tussen het medicijn en de normale weefsels en de effecten van de te bestuderen stoffen kan worden bestudeerd. Kennis over de veiligheid cq maximaal toe te dienen dosis (om hiermee effectiviteitsstudies te kunnen uitvoeren; **zie bijlage volgnummer 4, Effectiviteitsstudies**), eventuele onverwachte weefselophoping, en de kinetiek in proefdieren die het dichtst bij de mens staan (met vergelijkbare bloedsomloop en uitscheidingsroutes), is noodzakelijk voor de toepassing van het medicijn bij de mens.

Vermindering

De voorselectie van mogelijke medicijnen (zodat alleen medicijnen met een ziekte-selectieve werking in veiligheid/MTD studies zullen worden bestudeerd doordat (1) vooraf, uitgebreide *in vitro* analyses van de te onderzoeken medicijnen en 2) m.b.v. van [REDACTED] imaging longitudinale studies met dezelfde dieren gedaan zijn) bespaart ook dieren. Er zal zoveel mogelijk worden geprobeerd om met zo weinig mogelijk groepen de veiligheid/MTD te bepalen. Dit vermindert het totaal aantal dieren. Voor elk experiment zal in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) een Power analyse worden uitgevoerd om het aantal dieren tot een minimum te beperken.

Verfijning

De dieren zullen dagelijks goed geobserveerd worden (gedrag, beweging, eten en drinken, zichtbare afwijkingen aan huid, ogen, oren, ontlasting) en humane eindpunten worden gehanteerd om onnodig lijden te voorkomen.

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.

Acclimatisatie na binnenkomst dieren met dagelijkse observatie op mogelijke afwijkingen en regelmatig hanteren door ervaren diervverzorgers. Lawaai-gerelateerd stress zal tot een minimum beperkt worden door de speciale, rustige, gecontroleerde (temperatuur en vochtigheid) huisvesting. De dieren zullen gezamenlijk worden gehuisvest. Om de leefomstandigheden te optimaliseren wordt, afgezien van muziek in de ruimte, de gebruikelijke bedding en houtkrullen ook rode kunststof- en kartonnen huisjes, houten blokjes en papieren handdoekjes toegevoegd. Pijnbestrijding zal waar nodig worden toegepast. Het gebruik van inhalatie-anesthesie leidt tot

een snelle narcose en gaat gepaard met een beperkte vorm van analgesie, waardoor er sprake is van weinig ongerief. De dieren ontwaken snel, en lopen binnen 10 minuten weer in hun kooi rond. De neveneffecten van isofluraan op het fysiologisch systeem zijn in vergelijking met andere anesthetica beperkt. Bovendien is er veel ervaring opgebouwd met isofluraan en is alle apparatuur voorhanden. Risico op complicaties zijn minimaal door de deskundigheid en uitgebreide ervaring bij de betrokken medewerkers.

Bij tekenen van lijden door ziekte of ander ernstig ongerief wordt het dier geëuthanaseerd (onder anesthesie). De kans op pijn, lijden of angst wordt door deze maatregelen tot een minimum beperkt.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Voor alle beschreven modellen wordt allereerst in de literatuur nagegaan of identieke proeven zijn uitgevoerd. Door onze specifieke expertise wordt onze afdeling vaak om advies gevraagd en/of samenwerkingsprojecten opgezet zowel met andere researchinstellingen met academia en farma. [REDACTED]

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

Pijn is niet te verwachten maar mocht dit optreden zal in overleg met de IvD worden bepaald of het nodig is om pijnstilling te geven en welk type pijnstilling het beste kan worden toegepast of dat het dier wordt geëuthanaseerd..

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Achtergrond: Theoretisch is het mogelijk dat er acuut ongerief optreedt bij de start van de studie met de aanvangsdosis of als interindividuele variatie optreedt waardoor de bijwerkingen niet direct gecorreleerd zijn met de dosis van het medicijn. Bij **A2** wordt een te gebruiken dosis gekozen waarvan de veiligheid op basis van literatuurgegevens vrijwel zeker is. Doordat bij **A1** verschillende dosisgroepen achtereenvolgens behandeld worden is ongerief, indien dit zou optreden, snel te zien en bij tekenen van lijden wordt het dier geëuthanaseerd (onder anesthesie). Dieren zullen in het begin van de dag behandeld worden zodat eventueel acuut ongerief op tijd gedurende de rest van de dag gesignaleerd wordt. Vervolgens worden alle dieren dagelijks gecontroleerd door personeel dat grote ervaring heeft met de betreffende proefdiermodellen zodat ongerief op tijd gesignaleerd wordt. Daarnaast kan er risico van ongerief zijn bij het naderen van de MTD maar doordat dieren dagelijks gecontroleerd worden kan snel worden ingegrepen. De mate van ongerief zal door deze aanpak vrijwel altijd gering zijn en de kans op matig tot ernstig ongerief zal < 1% zijn. Ten alle tijden moet men voorbereid zijn op algemene malaise, lethargie, minder eten en drinken, gewichtsverlies, gastro-intestinale afwijkingen (zoals diarree), ademhalingsproblemen en voortbewegingsproblemen en hypo-/hyperthermie en alle ander mogelijk afwijkend gedrag.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Dit kan veroorzaakt worden door de therapeutische stof zelf en/of door de dosis van de therapeutische stof

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

Allereerst zal in de literatuur en bij collega's worden nagegaan of schadelijke effecten zijn te verwachten en welke die zijn zodat daarop kan worden geanticipeerd. Voor nieuwe middelen is dit niet mogelijk maar er zal ook in de literatuur en bij collega's worden nagegaan of er informatie beschikbaar is over middelen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme, wat daarvan te verwachten is, en welke maatregelen er zijn beschreven om eventuele schadelijke effecten te voorkomen.

Daarnaast worden de dieren in optimale omstandigheden gehuisvest en na start van de studie dagelijks en individueel geobserveerd op mogelijke afwijkingen en regelmatig gehanteerd door ervaren diervverzorgers.

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.

De humane eindpunten beschreven in het "OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 19; Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation, pg 1-19" worden te allen tijde gehanteerd. Dit houdt in dat het eindpunt nooit spontane sterfte van het dier mag zijn en nooit gewacht mag worden met euthanaseren tot het dier in stervende toestand verkeert. Vanaf aankomst en start behandeling wordt elk dier dagelijks geobserveerd op algehele conditie en gedrag, temperatuur, de inname van water en voedsel, gewichtsverlies, zichtbare infecties, gastro-intestinale afwijkingen (zoals diarree), oogproblemen, tremors en mogelijke circulatie-, ademhalings-, gedrag- en voortbewegingsproblemen. Geconstateerde afwijkingen worden genoteerd in het welzijnsdagboek

en bij pijn of anderszins afwijkingen in bovengenoemde parameters (gewichtsverlies van max. 15% in 1-2 dagen en t.o.v. start behandeling, geen inname water/voedsel, zichtbare infecties, diarree, plasproblemen, tremors, afwijkingen in ogen, gedrag, temperatuur (te meten aan lichaamsuiteinden), circulatie, ademhaling, voortbeweging wordt het dier onder anesthesie getermineerd. Mochten zich onverwachte, onverklaarbare verschijnselen voordoen, zal een patholoog worden ingeschakeld om de weefsels van het dier nader te onderzoeken om de oorzaak proberen te achterhalen.

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

Het risico op matig of ernstig ongerief is bijzonder klein (geschat op 1%) door de maatregelen die getroffen zijn om ongerief vroegtijdig te constateren. **(zie ook het Addendum "Ongerietafel" toegevoegd als bijlage 6).**

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 verwachting is dat er vrijwel alleen licht ongerief zal optreden en dat de kans op matig of ernstig ongerief < 1% zal zijn.

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.

Indien de dieren meer dan het verwachte ongerief zouden kunnen ondervinden worden ze gedood en ook de weefsels moeten *ex vivo* nader worden onderzocht.

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

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

1 Algemene gegevens

- | 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | 11400 | | | | |
|------------|--|--|------------|----------------|---|----------------------|
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | VU medisch centrum , Amsterdam | | | | |
| 1.3 | Vul het volgnummer en het type dierproef in. | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Volgnummer</th> <th style="text-align: left;">Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">4</td> <td style="padding: 2px;">Effectiviteitstudies</td> </tr> </tbody> </table> | Volgnummer | Type dierproef | 4 | Effectiviteitstudies |
| Volgnummer | Type dierproef | | | | | |
| 4 | Effectiviteitstudies | | | | | |

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.

Alleen medicijnen die *in vitro* een tumor-selectieve werking hebben getoond komen in aanmerking voor evaluatie in proefdieren. Het is onderzoek met snelle ontwikkelingen waarbij planning van proefdierstudies efficiënt moet gebeuren. De anti-kanker medicijnen kunnen zeer effectief en selectief bepaalde menselijke tumorcellijnen doden. We proberen dan dezelfde cellijnen ook te gebruiken om tumorgroei te induceren bij proefdieren. Daarbij kunnen menselijke tumorcellen of stukjes menselijke tumor subcutaan in de flank van het proefdier worden ingebracht, of in het orgaan waar de tumor normaal voorkomt. Omdat het inderdaad vaak menselijke tumorcellen zijn die i.h.a. moeilijk groeien in normale muizen, wordt veelal gebruik gemaakt van muizen met een beperkte afweer, zoals naakte-, SCID- of NSG muizen. Dit voorbeeld is relevant voor het testen van medicijnen, omdat het aangrijpingspunt/target van menselijke herkomst is, zoals bijv. een receptor die er voor zorgt dat de tumor blijft groeien, en pas als het medicijn de receptor blokkeert zal de tumorgroei stoppen. Het proefdier zelf heeft vaak een soortgelijke receptor, ook in normale organen, maar net iets anders waardoor het medicijn daar geen invloed op heeft. Daardoor kan een dergelijk studie in dit type muis een te rooskleurig beeld geven van de klinische potentie van het medicijn: het geeft wel een goed beeld van het effect van het medicijn op de tumor, maar de bijwerkingen worden onderschat. Een andere aanpak is dat proefdieren worden gebruikt waarbij het menselijke aangrijpingspunt/target ook in normale organen van het dier tot expressie gebracht wordt, zgn. genetisch gemodificeerde muizen zoals "knock-out" en "transgene" muizen of syngeneic tumormodellen zoals in het geval van blaaskankermodel waar zowel tumor als normale weefsels van muizen oorsprong zijn. Na het doorlopen van de uitgebreide *in vitro* en *in vivo* vooronderzoeken zal het uiteindelijk geselecteerde kandidaat-medicijn op tumor-effectiviteit, inclusief veiligheid, als laatste stap voor

de eerste humane studie, worden onderzocht in een voor de mens relevant proefdier tumormodel in rat of muis. Als de targeting eigenschappen *in vivo* in proefdieren goed zijn, en het medicijn selectief in de ziekte op blijkt te hopen (bijlage **Volnummer 2**), dan is dat veelbelovend voor eventuele toepassing bij patiënten. Echter voordat het medicijn in mensen kan worden bestudeerd, zijn studies naar veiligheid (**Volnummer 3**) en effectiviteit (hierin: **volnummer 4**) in proefdieren noodzakelijk.

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 *in vivo* modellen bieden zeer belangrijke voordelen boven *in vitro*-systemen: weefselarchitectuur, doorbloeding, realistische farmacokinetiek, de gradiënt van voedings- en afvalstoffen. Er is beschreven dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten in de tumormodellen en in patiënten. Bovendien is bekend dat *in vitro* resultaten beperkte voorspellende waarden hebben voor de situatie bij de patiënt. De meeste nieuwe anti-kankermedicijnen die tegenwoordig ontwikkeld worden zijn bedoeld om de tumor selectief te targeten om de tumor bij de wortels aan te pakken. Vandaar dat een realistische farmacokinetiek, doorbloeding en weefsel-architectuur onontbeerlijk zijn.

Tumordragende proefdieren die gebruikt worden in effectiviteitsstudies zijn beschreven in de bijlage Type dierproef volgnummer 1 "**tumormodellen**".

Algemeen: na binnenkomst worden dieren groepsgewijs gehuisvest en gedurende een periode van tenminste 1 week gehanteerd voor acclimatisatie. Dieren worden dagelijks geobserveerd en na inzet experiment 2x per week gewogen. Indien nodig worden individuele dieren geïdentificeerd m.b.v. oorknipjes of markering op de staart. S.c. tumorgroei wordt 2x per week gemeten met behulp van een schuifmaat. Orthotopische tumorgroei wordt 2x per week onder verdoving bepaald m.b.v. ██████████ ██████████

Behandeling: De toediening zal intraveneus, oraal of intraperitoneaal zijn en dit is afhankelijk van het type medicijn en zal in de werkprotocollen uitgebreid worden behandeld.

De frequentie van toediening kan variëren tussen een eenmalige toediening tot herhaalde toediening 1x per week of dagelijks. Toedieningen gebeuren onder anesthesie.

De duur van de behandeling is niet te voorspellen: dit hangt af van het mogelijk optreden van ongerief voor het dier en de effectiviteit van het medicijn (effect op tumorgroei).

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

Voor elk experiment zal in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) een Power analyse worden uitgevoerd om het aantal dieren tot een minimum te beperken. Doordat de tumormodellen al jaren gebruikt worden, en er grote ervaring is met effectiviteitsstudies, is ook een nauwkeurige inschatting voor het aantal benodigde dieren per experiment mogelijk. Voor het vaststellen van verschillen in ziekte omvang/ernst wordt de Student's t-test voor ongepaarde data gebruikt zoals in eerdere onderzoeken met vergelijkbare experimenten is gebruikt en gepubliceerd.

B. De dieren

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

Voor de experimenten worden jong volwassen muizen en ratten gebruikt (wildtype, immuundeficiënte, GGO) afkomstig van geregistreerde fokbedrijven.

De geschatte aantallen zijn gebaseerd op het aantal medicijnen dat afgelopen 10 jaar op deze manier getest werd, benodigde controle groepen, de groepsgrootte, en de verwachte toename van partners die medicijnen op deze nieuwe manier wil laten onderzoeken. Tot nu toe werden vrijwel alleen vrouwelijke dieren gebruikt, maar er is nooit vastgesteld of het geslacht van de dieren invloed heeft op de uitkomst van experimenten. Vandaar dat in het vervolg zowel vrouwelijke als mannelijke dieren gebruikt zullen gaan worden, behalve als er aanwijzingen zijn dat het geslacht wel uit maakt.

Per kandidaat-medicijn zijn gemiddeld 100 dieren in vergelijkende effectiviteitstudies, bij verschillende doseringsschema's en of combinaties (=100). Voor studies met ratten, normale muizen is dat 40% (= 40). Het aantal studies is gebaseerd op het aantal studies in het verleden en de trend van toename gedurende de afgelopen jaren.

Aantal dieren:	aantal medicijnen	per jaar	per 5 jaar
Naakte muizen (s.c. + orthotopisch)	n = 3	300	1500
SCID/NSG muizen	n = 1	100	500
GGO muizen	n = 1	100	500
Normale muizen	n = 1	40	200
Naakte ratten	n = 1	40	200

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

De *in vivo* modellen bieden zeer belangrijke voordelen boven *in vitro*-systemen: weefselarchitectuur, doorbloeding, realistische farmacokinetiek, de gradiënt van voeding- en afvalstoffen. Er is beschreven dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten in de tumormodellen en in patiënten. Bovendien is bekend dat *in vitro* resultaten beperkte voorspellende waarden hebben voor de situatie bij de patiënt. De meeste nieuwe anti-kankermedicijnen die tegenwoordig ontwikkeld worden zijn bedoeld om de tumor selectief te targeten, om de tumor bij de wortels aan te pakken. Vandaar dat een realistische farmacokinetiek, doorbloeding en weefselarchitectuur onontbeerlijk zijn. Medicijnen die in proefdieren getest worden, hebben al een uitgebreide *in vitro* selectie achter de rug, en zijn daarom zeer reële kandidaten voor evaluatie in patiënten. Voor ieder medicijn afzonderlijk zal in de betreffende protocollen deze afweging opnieuw gemaakt worden. Daarnaast bestaan er geen *in vitro* modellen waarin de interactie tussen tumorcellen en de omgeving van de ontstane tumor *in vivo* en de effecten van de te bestuderen stoffen, inclusief de farmacokinetiek / farmacodynamiek kan worden bestudeerd. Kennis over deze kinetiek is noodzakelijk voor de toepassing van tracers in andere experimentele onderzoeken (als voorbeeld, de folaatreceptor komt verhoogd tot expressie in bepaalde vormen van kanker maar ook in andere ziekten, zodat die ontwikkelde tracer ook in die ziekten kan worden gebruikt).

Vermindering

Voor ieder medicijn afzonderlijk zal in de betreffende protocollen steeds opnieuw de afweging gemaakt worden. Er bestaan geen *in vitro* modellen waarin de interactie tussen het medicijn en de normale weefsels en de effecten van de te bestuderen stof kan worden bestudeerd. De effectiviteit van het gekozen medicijn kan alleen worden nagegaan in een muis of rat met de betreffende ziekte. Proefdieren die het dichtst bij de mens staan (met vergelijkbare bloedsomloop en uitscheidingsroutes) zijn noodzakelijk voor de toepassing van het medicijn bij de mens.

De opzet van de voorgestelde studies bespaart ook proefdieren, daar vooraf, uitgebreide *in vitro* analyses van de te onderzoeken medicijnen zijn uitgevoerd; de combinatie van imaging data worden aangevuld met *ex vivo* data (zelfde dieren, (immuno)histologie) zodat een veel betere voorselectie van mogelijke medicijnen kan worden gemaakt om effectiviteit te testen in dieren. Alleen ziekte-selectieve medicijnen die in de voorgaande studies zijn geselecteerd zullen worden getest. Er zal zoveel mogelijk worden geprobeerd om met zo weinig mogelijk groepen dieren de effectiviteit te bepalen. Dit vermindert het totaal aantal dieren. Voor elk experiment zal in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) een Power analyse worden uitgevoerd om het aantal dieren tot een minimum te beperken.

Er zal zoveel mogelijk worden geprobeerd om het tumormodel vanuit gekweekte tumorcellen te starten waarvan de take rate en groeisnelheid bekend is. Dit scheelt dieren.

Verfijning

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.

Acclimatisatie na binnenkomst dieren met dagelijkse observatie op mogelijke afwijkingen en regelmatig hanteren door ervaren dierverzorgers. Lawaai-gerelateerd stress zal tot een minimum zijn beperkt door de speciale, rustige, gecontroleerde (temperatuur en vochtigheid) huisvesting. De dieren zullen gezamenlijk worden gehuisvest. Om de leefomstandigheden te optimaliseren wordt, afgezien van muziek in de ruimte, de gebruikelijke bedding en houtkrullen ook rode kunststof- en kartonnen huisjes, houten blokjes en papieren handdoekjes toegevoegd. Pijnbestrijding zal waar nodig worden toegepast. Het gebruik van inhalatie-anesthesie leidt tot een snelle narcose en gaat gepaard met een beperkte vorm van analgesie, waardoor er sprake is van weinig ongerief. De dieren ontwaken snel, en lopen binnen 10 minuten weer in hun kooi rond. De neveneffecten van isofluraan op het fysiologisch systeem zijn in vergelijking met andere anesthetica beperkt. Bovendien is er veel ervaring opgebouwd met isofluraan en is alle apparatuur voorhanden. Risico op complicaties zijn minimaal door de deskundigheid en uitgebreide ervaring bij de betrokken medewerkers. Het risico op bacteriële contaminatie of andere complicaties is zeer gering omdat in geval van immuun-gecompromitteerde dieren deze worden gehuisvest in filtertop bakken. de ruimte is via een sluis bereikbaar. Hier worden de dieren bij een juiste temperatuur en vochtigheid gehuisvest. Het hanteren van de dieren in filtertopkooien zal in een steriele omgeving plaatsvinden. Bij tekenen van lijden door ziekte of ander ongerief wordt het dier geëuthanaseerd (onder anesthesie). De kans op pijn, lijden of angst wordt door deze maatregelen tot een minimum beperkt. Doordat de tumormodellen al jarenlang gebruikt worden, en door de grote ervaring van personeel dat de dieren dagelijks controleert, is de kans op matig tot ernstig ongerief vrijwel nihil. Indien pijnbestrijding nodig is zal dit worden toegepast in overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD).

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.

Voor alle beschreven modellen wordt allereerst in de literatuur nagegaan of identieke proeven zijn uitgevoerd. Door onze specifieke expertise wordt onze afdeling vaak om advies gevraagd en/of samenwerkingsprojecten opgezet zowel met andere researchinstellingen met academia en farma.

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.

Er zal in lichte mate ongerief optreden is de ervaring van de laatste jaren met deze modellen en de kans op matig of ernstig ongerief is vrijwel nihil. Mocht de tumorgroei op een bepaalde locatie onverwacht wel pijn veroorzaken, dan wordt het dier of direct geëuthanaseerd of er wordt in overleg met de IvD pijnstilling bepaald en toegepast.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen tot licht (zie ook onder punt H.).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Het ziektemodel zelf kan de oorzaak zijn of veroorzaakt door de therapeutische stof zelf en/of door de dosis van de therapeutische stof.

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

Allereerst zal in de literatuur en bij collega's worden nagegaan of schadelijke effecten zijn te verwachten en welke die zijn zodat daarop kan worden geanticipeerd. Daarnaast worden de dieren in optimale omstandigheden gehuisvest en na start van de studie dagelijks en individueel geobserveerd op mogelijke afwijkingen en regelmatig gehanteerd door ervaren diervverzorgers. Bij tekenen van lijden of ander mogelijk ongerief, wordt adequate pijnbestrijding toegepast in overleg met de IvD (zie ook onder H) of het dier direct geëuthanaseerd (onder anesthesie).

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.

De humane eindpunten beschreven in de "Code of Practice Dierproeven in Kankeronderzoek" (P. de Greeve, Inspectie W&V en <http://www.ivd-utrecht.nl/nl/wet-regels-en-richtlijnen/codes-of-practice/>) en in het "OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, No. 19; Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation, pg 1-19" zullen te allen tijde worden gehanteerd. Dit houdt in dat het eindpunt nooit spontane sterfte van het dier mag zijn en nooit gewacht mag worden met euthanaseren tot het dier in stervende toestand verkeert. Vanaf aankomst en start behandeling wordt elk dier dagelijks geobserveerd op algehele conditie en gedrag, temperatuur, de inname van water en voedsel, gewichtsverlies, zichtbare infecties, gastro-intestinale afwijkingen (zoals diarree), oogproblemen, tremors en mogelijke circulatie-, ademhalings-, gedrag- en voortbewegingsproblemen. Geconstateerde afwijkingen worden genoteerd in het welzijnsdagboek en bij pijn of anderszins afwijkingen in bovengenoemde parameters (gewichtsverlies van max. 15% in 1-2 dagen en t.o.v. start behandeling, geen inname water/voedsel, zichtbare infecties, diarree, plasproblemen, tremors, afwijkingen in ogen, gedrag, temperatuur (te meten aan lichaamsuiteinden), circulatie, ademhaling, voortbeweging wordt het dier onder anesthesie getermineerd. Mochten zich onverwachte, onverklaarbare verschijnselen voordoen, zal een patholoog worden ingeschakeld om de weefsels van het dier nader te onderzoeken om de oorzaak proberen te achterhalen.

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

De verwachting is dat er alleen licht ongerief zal optreden. Het risico op matig of ernstig ongerief is vrijwel nihil (de behandeling met bijv. antilichamen en antilichaamconstructen geeft, ook in patiënten, erg weinig toxiciteit). Daarnaast worden voorafgaande aan effectiviteitsstudies veiligheid/MTD studies uitgevoerd (**Volgnummer 3**). Bovendien wordt de mate van mogelijke toxiciteit nauwkeurig gedocumenteerd en indien deze schatting te hoog of te laag blijkt, kan dit in toekomstige aanvragen worden bijgesteld.

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.

A1, A2: de verwachting is dat er alleen licht ongerief zal optreden, en dat de kans op matig of ernstig ongerief nihil is (zie ook hierboven onder punt J) (**zie ook het Addendum "Ongerieftabel"**).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

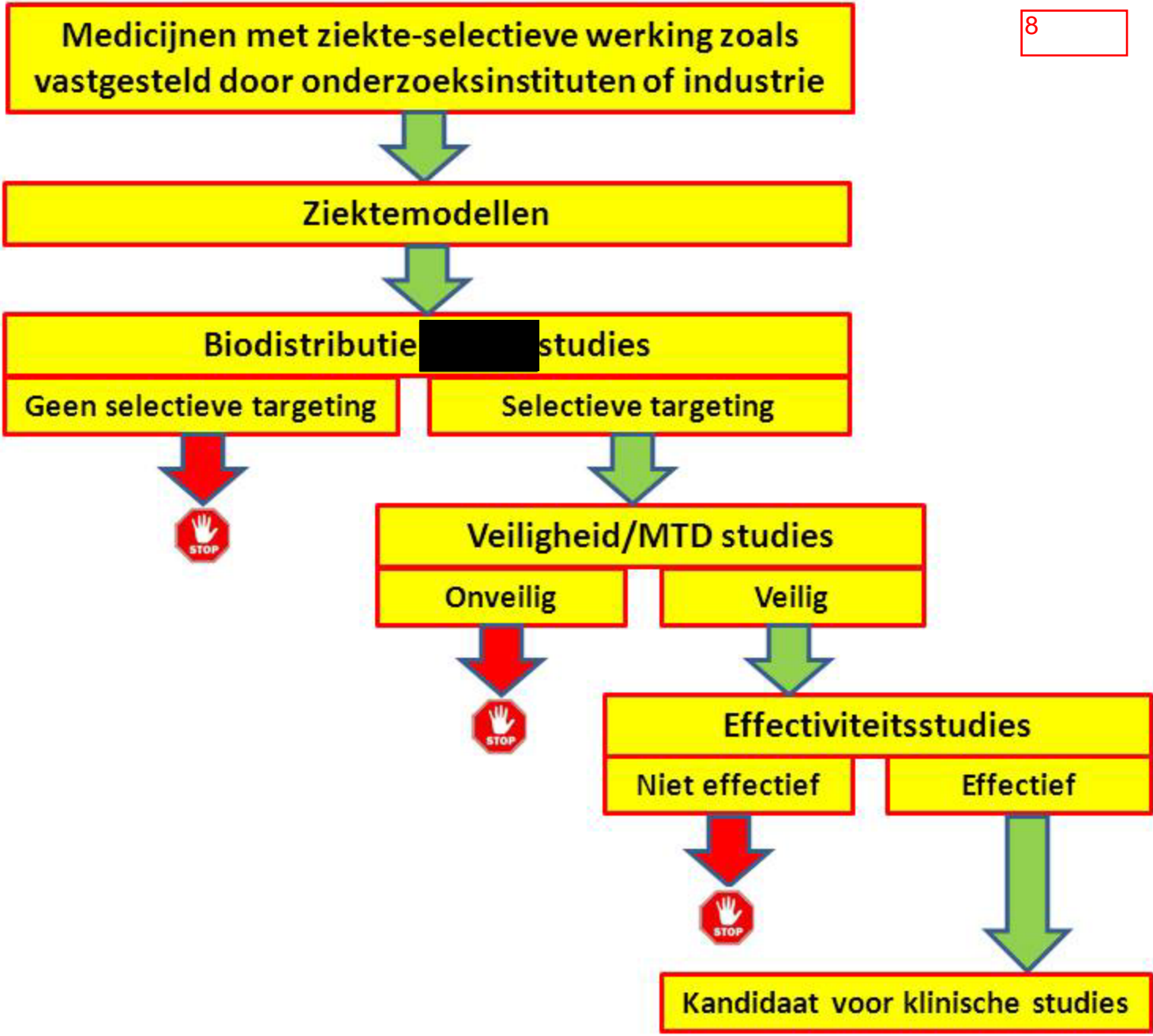
Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Ja, omdat de tumoren te groot zouden kunnen worden en ook de weefsels en tumoren *ex vivo* nader zullen worden onderzocht.

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



Addendum Ongerieftabel

Overzicht aantal dieren per dierproef met bijbehorend ongerief.

Onderdeel / dierproef	Diersoort	Aantal dieren*	Mate van ongerief
Volgnummer 1 (Tumormodellen)	muis	1110	licht (100%)
	rat	180	licht (100%)
Volgnummer 2 (Imaging en ex vivo weefseldistributiestudies)	muis	3125	licht (100%)
	rat	520	licht (100%)
Volgnummer 3 (Veiligheid/MTD studies)	muis	1064 11	licht (99%) matig of ernstig (1%)
	rat	446 4	licht (99%) matig of ernstig (1%)
Volgnummer 4 (Effectiviteitstudies)	muis	2700	licht (100%)
	rat	200	licht (100%)
Totaal aantal dieren gehele project in 5 jaar	muis	7999	licht
	muis	11	matig of ernstig
	rat	1346	licht
	rat	4	matig of ernstig

*Totaal aantal dieren voor de looptijd van het project van 5 jaar

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:

2. Titel van het project: *Evaluatie van de biodistributie, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drugs") tegen kanker in muizen of ratten met tumoren,*

3. Titel van de NTS: *Evaluatie van de verdeling, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drugs" genoemd)*

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning*
- wijziging van vergunning met nummer

5. Contactgegevens DEC:

- naam DEC: *Vrije Universiteit / VU medisch centrum*
- telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
- mailadres contactpersoon: [REDACTED]

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

- ontvangen door DEC: *22-02-2016*
- aanvraag compleet: *22-02-2016*
- in vergadering besproken: *08-03-2016*
- anderszins behandeld: *n.v.t.*
- termijnonderbreking(en) van / tot: *n.v.t.*
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: *n.v.t.*
- aanpassing aanvraag: *n.v.t.*
- advies aan CCD: *07-04-2016*

7. Eventueel horen van aanvrager: *n.v.t.*

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: *15-03-2016*
- Strekking: *enkele tekstuele fouten, de tekst onder verfijning klopt bij bijlage 1 niet.*
- Datum antwoord: *01-04-2016*
- Strekking van de antwoorden: *De gevraagde aanpassingen zijn doorgevoerd.*

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): *n.v.t.*

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. *Het project is vergunning plichtig, het omvat dierproeven in de zin der wet.*
2. *De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.*
3. *De DEC is competent om over deze projectvergunningaanvraag te adviseren. De benodigde expertise op dit wetenschappelijk terrein is aanwezig binnen de DEC.*
4. *Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: n.v.t. (geen van de DEC-leden is 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 - translationeel onderzoek - is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.*

Het doel van het onderzoek is om het gedrag van medicijnen tegen kanker in het lichaam nauwkeurig te volgen, [REDACTED], om zo in een vroeg stadium kansrijke van kansarme medicijnen te onderscheiden.

Het uiteindelijke doel van het onderzoek is om op een efficiënte manier nieuwe medicijnen te selecteren voor de behandeling van kanker.

3. *De doelstelling van het project is begrijpelijk omschreven. De DEC onderschrijft de belangen van de doelstelling van het project, te weten:*

Het wetenschappelijke belang: het verkrijgen van inzicht in de kenmerken, de verspreiding en de effectiviteit van kandidaat-medicijnen tegen kanker die worden ontwikkeld met het oog op latere toepassing bij mensen. [REDACTED]

Het maatschappelijke belang: het testen van de bruikbaarheid, de veiligheid en de werkzaamheid van nieuwe kandidaatmedicijnen. Het gaat hierbij om middelen die gebruikt kunnen worden voor diagnostiek en behandeling van kanker. Het uiteindelijke belang is het op een efficiënte manier selecteren en testen van nieuwe effectieve en betaalbare

medicijnen ter behandeling van kanker.

De effectiviteit van bestaande medicijnen voor diagnostiek en behandeling van kanker is ontoereikend. Er is dringend behoefte aan effectievere (qua werking meer selectieve en goedkopere) middelen. Het onderzoek in dit project richt zich op het onderscheiden van kansrijke en kansarme medicijnen [REDACTED]

[REDACTED] Het proefdieronderzoek vormt de opmaat tot klinische toepassingen, waarbij behandelingen op maat kunnen worden toegepast door de middelen te selecteren die bij patiënten de grootste kans op effectiviteit bieden.

- 4. Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise, middelen en voorzieningen om de projectdoelstelling met de beschreven experimentele strategie en aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren.*

De onderzoeksgroep heeft aantoonbaar veel ervaring met de in dit project te gebruiken methoden en technieken, en beschikt over de benodigde infrastructuur en voorzieningen.

[REDACTED] Binnen de instelling is veel deskundigheid aanwezig op het gebied van medicijnontwikkeling. De onderzoeksgroep werkt samen met deskundigen op het gebied van andere voor het project relevante disciplines [REDACTED] en heeft veel contacten met (inter)nationale bedrijven en instellingen op het gebied van geneesmiddelenontwikkeling. De DEC acht de aangevraagde vergunningstermijn van 5 jaar reëel, omdat niet te verwachten valt dat reeds binnen die termijn definitief voorzien zal zijn in optimale behandelingen voor alle kanker aandoeningen en patiëntenpopulaties.

- 5. Alle dieren worden gefokt voor het gebruik in dierproeven, er is geen sprake van afwijkende huisvesting en/of hergebruik. Er is geen sprake van bedreigde diersoorten, niet-menselijke primaten, zwerfdieren en/of dieren in/uit het wild. De toegepaste methoden voor anesthesie/euthanasie zijn conform de Richtlijn.*
- 6. Naar de mening van de DEC hebben de indieners het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het verwachte ongerief is voor een groot deel van de dieren licht, tijdens de onderdelen tumormodellen (TD 1), imaging en weefseldistributie (TD 2) en de effectiviteitsstudies (TD 4). Het kan echter niet worden uitgesloten dat bij het onderdeel veiligheid en MTD studies (TD 3), waarbij licht ongerief wordt verwacht, door onvoorziene omstandigheden in enkele gevallen een hogere mate van ongerief (matig of ernstig) zal optreden. De aanvrager heeft op basis van eerdere ervaringen met dit type dierproeven een schatting gepresenteerd in welk deel van de proeven dit zou kunnen gebeuren, en raamt deze kans op nihil (<1%).*

7. *Het project is in overeenstemming met de vereisten ten aanzien van de **vervanging** van dierproeven. Het gebruik van proefdierlijke methoden of minder complexe diersoorten in het kader van de doelstelling van het project is volgens de DEC niet mogelijk.*

Bij de selectie van te testen middelen wordt gebruikt gemaakt van een gefaseerde opzet. Voorafgaand aan de dierproeven vindt uitgebreid in vitro onderzoek plaats met eerder verzameld weefselmateriaal, patiëntmateriaal en gekweekte cellijnen. De uitkomsten worden geëvalueerd, zodat alleen voor de kansrijke middelen tot uitvoering van dierexperimenten wordt besloten. Ook tijdens de verdere evaluatie van de middelen in het kader van het project wordt steeds beoordeeld of een middel over de gewenste eigenschappen beschikt, voordat een volgende fase in het onderzoek wordt gestart.

Het gebruik van proefdieren is in dit stadium van medicijnontwikkeling noodzakelijk, omdat alleen op deze wijze de verdeling, dynamiek, veiligheid en werkzaamheid van middelen in een intact, levend lichaam kunnen worden onderzocht. De keuze voor het gebruik van muizen en ratten is naar het oordeel van de DEC gerechtvaardigd. Deze diersoorten zijn geschikt voor de kankermodellen die worden onderzocht en de onderzoeksgroep heeft ervaring en expertise met de te gebruiken soorten en modellen, hetgeen de kans op succes vergroot.

8. *In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven.*

Het maximale aantal dierproeven is proportioneel ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De DEC onderschrijft dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 8010 muizen en 1350 ratten, en acht dit aantal realistisch en voldoende onderbouwd. Het daadwerkelijk benodigde aantal dieren zal afhangen van de hoeveelheid kandidaat-medicijnen die voldoen aan de criteria om de diverse fasen van het proefdieronderzoek te doorlopen en kan dus eventueel lager uitvallen. Onnodige duplicatie van experimenten wordt voorkomen, doordat de onderzoekers goed bekend zijn met het onderzoeksveld en samenwerken met andere onderzoeksgroepen die vergelijkbaar onderzoek verrichten.

De opzet van de voorgestelde studies is zodanig gekozen dat relevante en betrouwbare gegevens worden verkregen met het minimaal benodigde aantal proefdieren: 1. Vooraf vindt een uitgebreide analyse van de te onderzoeken medicijnen plaats, zodat alleen de meest kansrijke medicijnen verder getest zullen worden. 2. Tussentijdse evaluaties en de gefaseerde opzet voorkomen dat verdere dierproeven worden gedaan met middelen die niet de gewenste kenmerken blijken te hebben. 3. Er kunnen longitudinale studies met dezelfde dieren worden uitgevoerd, omdat de gelabelde middelen met behulp van in vivo beeldvormingstechnieken worden bestudeerd en het niet nodig is om aparte groepen dieren te onderzoeken voor ieder te meten tijdstip.

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.*

Doordat medicijnen met een ongunstige lichaamsverdeling en/of andere ongewenste eigenschappen niet verder worden onderzocht op veiligheid en effectiviteit, wordt het risico op ongerief beperkt. Studies naar de veiligheid van middelen worden stapsgewijs uitgevoerd met oplopende doses, zodat ze kunnen worden gestaakt voordat de dosis wordt bereikt waarbij schadelijke bijwerkingen optreden. Tijdens de dierproeven is er sprake van intensieve monitoring en zal waar nodig pijnstilling of verdoving worden toegepast. Indien er onverwachte complicaties/bijwerkingen optreden die meer ongerief veroorzaken dan vooraf vastgesteld dan zal het experiment onmiddellijk worden beëindigd, volgens de vooraf vastgestelde humane eindpunten. Alle dierproeven worden uitgevoerd door bevoegd en ervaren personeel.

Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.

10. *De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd. De NTS voldoet daarmee aan de eisen zoals gesteld in artikel 10.a.1.7 van de Wod.*

D. Ethische afweging

Volgens de DEC rechtvaardigt het doel van het project, het selecteren en testen (en daardoor voor klinische beproeving beschikbaar komen) van medicijnen voor het diagnosticeren en behandelen van kanker, het voorgestelde gebruik en doden van dieren.

Het verwachte resultaat, in het kader van het selecteren en testen van betere medicijnen voor de behandeling van kanker, is afgewogen tegen het over het algemeen lichte en mogelijk voor enkele gevallen maximale matige tot ernstige ongerief bij de dieren, de aantasting van de integriteit en het doden van de dieren in de proef.

De DEC onderschrijft dat de doelstellingen niet zonder het gebruik van proefdieren kunnen worden behaald en acht het gebruik van maximaal 8010 muizen en 1305 ratten en het daarmee samenhangende overwegend lichte ongerief bij deze dieren gerechtvaardigd.

Bij het uitvoeren van de dierproeven wordt op een adequate manier invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en verfijning van de dierproeven. Het translationele onderzoek in dit project is van substantieel maatschappelijk belang (1) en van goede kwaliteit (2).

(1) De resultaten van het project zullen bijdragen aan het selecteren en testen van nieuwe medicijnen voor de diagnose en behandeling van kanker. Op termijn kunnen de uitkomsten van dit project aanleiding geven tot meer effectieve/betaalbare medicijnen en therapie op maat.

(2) De DEC is van mening dat dit project verantwoord is vanuit wetenschappelijk en maatschappelijk oogpunt en acht het aannemelijk dat de doelstellingen kunnen worden behaald. De onderzoeksgroep beschikt over ruime kennis en ervaring op het gebied van medicijnontwikkeling en met de beschreven technieken en typen dierproeven. In combinatie met de beschikbare faciliteiten en infrastructuur betekent dit dat de groep goed gekwalificeerd en geoutilleerd is voor het uitvoeren van het in dit project beschreven onderzoek.

Samenvattend kan worden gesteld dat het als substantieel te kwalificeren maatschappelijk belang en het aanwezig zijn van wetenschappelijk belang van het onderzoek naar het oordeel van de DEC opweegt tegen het gebruik van maximaal 8010 muizen en 1305 ratten en het daarbij verwachte overwegend lichte en in mogelijk enkele gevallen maximale matige tot ernstige ongerief.

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.*



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Vrije Universiteit Medisch Centrum



**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
AVD114002016510

Bijlagen

2

Datum 7 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 7 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD114002016510. 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: 11400

Naam instelling of organisatie: Vrije Universiteit Medisch Centrum

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde:

██████████

KvK-nummer: 53815211

Straat en huisnummer: De Boelelaan 117

Postcode en plaats: 1081 HV AMSTERDAM

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

██

Functie:

████████████████████████████████████

Afdeling:

██

Telefoonnummer:

████████████████████

E-mailadres:

██

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]
Naam: [REDACTED]
Adres: [REDACTED]
Postcode en plaats: [REDACTED] AMSTERDAM

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Vrije Universiteit Medisch Centrum



**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
AVD114002016510

Bijlagen

2

Datum 7 april 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 7 april 2016

Vervaldatum: 7 mei 2016

Factuurnummer: 16700510

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD114002016510	€ 1.584,00

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

Vrije Universiteit Medisch Centrum

de Boelelaan 1117
1081 HV 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
AVD114002016510

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 18 mei 2016

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 7 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van de biodistributie, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drug") tegen kanker" met aanvraagnummer AVD114002016510. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarden 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 "Evaluatie van de biodistributie, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drug") tegen kanker" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 juni 2016 tot 1 juni 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC VU-VUmc gevoegd. Dit advies is opgesteld op 7 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. Aanvullend worden er twee algemene voorwaarden worden 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: Vrije Universiteit Medisch Centrum
Adres: De Boelelaan 117
Postcode en woonplaats: 1081 HV Amsterdam
Deelnemersnummer: 11400

deze projectvergunning voor het tijdvak 01 juni 2016 tot 1 juni 2021, voor het project "Evaluatie van de biodistributie, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drug") tegen kanker" met aanvraagnummer AVD114002016510, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC VU-VUmc.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 7 april 2016
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 7 april 2016;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 7 april 2016;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie dd 7 april 2016, ontvangen op 7 april 2016;

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Opmerking
Tumormodellen	Muizen (<i>Mus musculus</i>) / SCID, GGO, immuundeficient en WT muizen	1110	Licht	
Tumormodellen	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / naakte ratten	180	Licht	
Imaging en ex vivo Weefseldistributie studies	Muizen (<i>Mus musculus</i>) / SCID, GGO, immuundeficient en WT	3125	Licht	
Imaging en ex vivo Weefseldistributie studies	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / naakte ratten	520	Licht	
Veiligheid/MTD studies	Muizen (<i>Mus musculus</i>) / SCID, immuundeficiente muizen en WT	1075	Licht	11 Matig of Ernstig door bereiken HEP
Veiligheid/MTD studies	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / naakte ratten	450	Licht	4 Matig of Ernstig door bereiken HEP
Effectiviteitsstudies	Muizen (<i>Mus musculus</i>) / immuundeficient, GGO, SCID, WT	2700	Licht	

Datum

18 mei 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD114002016510

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Opmerking
Effectiviteitstudies	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / naakte ratten	200	Licht	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet 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 verdooving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdooving 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 verdooving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdooving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdooving 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 verdooving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdooving 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

18 mei 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD114002016510

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.

Van: info@zbo-ccd.nl
Verzonden: donderdag 26 mei 2016 13:09
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD114002016510

Geachte DEC VU-VUmc,

Op 07-04-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Evaluatie van de biodistributie, veiligheid en effectiviteit van nieuwe medicijnen ("targeted drug") tegen kanker' met aanvraagnummer AVD114002016510.

De CCD heeft de aanvrager geen aanvullende vragen gesteld.

De CCD heeft besloten uw advies te volgen en de aanvraag te vergunnen. Hieraan zijn twee algemene voorwaarden verbonden die volgen uit artikel 10 van de wet. De aanvrager is van dit besluit op de hoogte gesteld.

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