

Deze wijziging heeft niet zozeer direct een effect op het aantal dieren in het lopende project. Het is meer de andere selectie procedure van de additieven (waaraan het in ovo experiment en de feed trial zijn toegevoegd) die er toe leidt dat binnen bijlage 2 minder experimenten zullen worden gedaan. Van de vier geselecteerde componenten willen we twee dingen weten: 1. Hebben ze een effect op de cellen van het innate immuun systeem en/of op het microbiom? 2. Zorgen ze voor een betere bescherming tegen Salmonella infecties? In de infectie experimenten beschreven in deze aanvraag meten we met name het laatste, omdat alle analyses direct na isolatie van de cellen uitgevoerd moeten worden en het gezien het maximaal aantal handelingen per dag niet mogelijk is om én in detail te kijken naar de cellen van het innate afweer systeem én naar Salmonella kolonisatie en Salmonella geïnduceerde effecten op immuun systeem en microbiom. Vandaar dat we voor de vier componenten die worden geselecteerd op basis van de feed trial ook nog de experiment zoals beschreven in bijlage 2 willen uitvoeren. Dit zal wel een minder uitgebreid experiment worden omdat we op basis van eerdere studies binnen dit project (AVD108002016442, AVD108002017863 en experimenten beschreven in bijlage 1 van de huidige aanvraag) weten dat we met 8 in plaats van de aangevraagde 35 dieren per groep genoeg power hebben om iets te zeggen over microbiom en immuunsysteem. Ook zal het experiment korter duren dan de aangevraagde looptijd van 5 weken. We hebben in eerdere experimenten (AVD108002017863 en experimenten beschreven in bijlage 1 van de huidige aanvraag) gezien dat de ontwikkeling van het innate immuunsysteem na 2-3 weken stabiel is. Ook het microbiom is vanaf dag 21 stabiel (op bases van resultaten uit AVD108002016442 en experimenten beschreven in bijlage 1 van de huidige aanvraag). Dus om onze onderzoeksvraag te beantwoorden hebben we minder dieren per groep nodig en is het voldoende om de dieren 3-4 weken te volgen in plaats van de aangevraagde 5 weken. Dit scheelt zowel in het aantal benodigde dieren als in de tijd dat de dieren in een experiment zitten.

- 3.1 Achtergrond: Vanwege de opmerkingen in de initiële aanvraag die rept over een vervolgaanvraag dient de motivatie om het project als vervolgonderzoek in te dienen aangescherpt te worden.

Het uiteindelijke doel van het NWO gefinancierde project **10.2 .e. en g** is om de gezondheid van kippen te bevorderen door middel van interventies die een effect hebben op het innate immuun systeem en/of het microbiom in de darm. In de initiale aanvraag lag de nadruk op de interventies en of deze het innate immuun systeem en/ of microbiom kunnen beïnvloeden. De hypothese van dit onderzoek was dat we door middel van interventies het innate immuun systeem en/ of het microbiom kunnen beïnvloeden. Er is niet gekeken naar de relatie tussen een invloed van interventie op het immuunsysteem/ microbiom en de gezondheid van de dieren, alle experimenten worden immers uitgevoerd met gezonde vleeskuikens afkomstig van een commerciële broederij.

In de huidige aanvraag willen we bestuderen of de interventies waarvan we nu weten dat ze een effect hebben op immuunsysteem en/of microbiom ook een effect hebben op de gezondheid van de dieren. Zoals beschreven in bijlage 3 is de hypothese dat een verhoogde

activiteit van het innate immuun systeem ervoor zorgt dat de betreffende cellen beter in staat zijn om de Salmonella te doden. Daarnaast verwachten we dat de interventie gemedieerde aanpassingen in het microbiom minder ruimte laat voor kolonisatie van Salmonella in de darm. Omdat deze onderzoeksvraag volgt op de onderzoeksvraag zoals beschreven in de initiële aanvraag en uitgaat van de resultaten die uit deze aanvraag zijn voortgekomen, willen we dit project indienen als vervolgonderzoek en niet als een nieuwe aanvraag.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

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

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang.

Met het oog op duurzaamheid, dierenwelzijn, diergezondheid en volksgezondheid is het van belang dat de gezondheid en productieprestaties van koppels vleeskuikens optimaal zijn. Het is bekend dat wanneer het darmstelsel en het immuunsysteem goed functioneren vleeskuikens minder vatbaar zijn voor ziekten en het voer efficiënter kunnen benutten voor een gezond en gematigd groeipatroon. Het darmmicrobiom speelt een cruciale rol bij de ontwikkeling en het functioneren van het darmstelsel en het immuunsysteem. De samenstelling van de darmflora wordt onder andere beïnvloed door voeding en varieert sterk binnen en tussen koppels vleeskuikens. Er zijn aanwijzingen dat deze variatie verband houdt met verschillen in productieprestaties. Men wil daarom met het voorliggende project – dat het afsluitende onderdeel is van een omvangrijk NWO-programma – onderzoeken of het mogelijk is om met voederinterventies de samenstelling van het darmmicrobiom in vleeskuikens zodanig te beïnvloeden, dat men een optimaal functionerend darmstelsel en aangeboren immuunsysteem kan bewerkstelligen.

De relatie tussen het hoofddoel en de twee subdoelen/type dierproeven (zie ook C8) komt overeen met voorbeeld 1 uit de 'Handreiking Invulling Definitie Project'. De fasering en rationale van de twee subdoelen en bijbehorende experimenten is door de aanvrager helder toegelicht in de projectbeschrijving – ook in relatie tot lopende experimenten die onderdeel zijn van het NWO-programma. Per experiment is duidelijk welke handelingen de individuele dieren zullen ondergaan en welke mate van ongerief de handelingen tot gevolg hebben. De DEC is daarom van mening dat de voorliggende aanvraag als een toetsbaar en haalbaar project beschouwd dient te worden.

*De wijziging behelst het toevoegen van een experiment (bijlage 3), waarin onderzocht wordt of het beïnvloeden van de samenstelling van de darmmicrobiota en het aangeboren afweersysteem door voerinterventies leidt tot gezondere kuikens die beter bestand zijn tegen infecties met ziekteverwekkers zoals de bacterie *S. enteritidis*, zie verder C8.*

De wijziging brengt geen verandering in de toetsbaarheid en samenhang van de aanvraag en ook de gekozen strategie/aanpak in bijlage 3 wijzigt niet. De relatie tussen het hoofddoel en de extra type dierproef komt – net als voor de wijziging – overeen met voorbeeld 1 uit de 'Handreiking Invulling Definitie Project'. De fasering en rationale van de extra bijlage en de bijbehorende experimenten is door de aanvrager helder toegelicht in de gewijzigde projectbeschrijving. Naar aanleiding van een vraag van de DEC is goed helder gemaakt waarom gekozen is voor een extra bijlage (middels deze wijziging) en niet voor een vervolgaanvraag. Per experiment is duidelijk welke handelingen de individuele dieren zullen ondergaan en welke mate van ongerief de handelingen tot gevolg hebben. De DEC is daarom van mening dat de voorliggende wijziging als een toetsbaar en haalbaar beschouwd dient te worden.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is om meer inzicht te krijgen in de interacties tussen voercomponenten, het aangeboren immuunsysteem, de darmmicrobiota en de invloed van deze factoren op bescherming tegen een infectie met *S. enteritidis* in vleeskuikens. Het uiteindelijke doel van het project is om met behulp van de vergaarde kennis voederinterventies te ontwikkelen die een optimale ontwikkeling van vleeskuikens ondersteunen. De samenstelling van het darmmicrobioom en het functioneren van het aangeboren immuunsysteem spelen daarbij een sleutelrol. De DEC is van mening dat het doel gerechtvaardigd is in de context van het onderzoeksveld en dat het voorliggende project een waardevol sluitstuk vormt van een reeks (reeds vergunde) projectaanvragen die samen leiden tot het bereiken van het uiteindelijke doel.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren, de doelgroep (de pluimveehouderij), het onderzoeksveld en de diervoederindustrie. De morele waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: welzijn (stress) en rechtvaardigheid (intrinsieke waarde). De intrinsieke waarde van de dieren wordt aangetast door het feit dat ze als proefdieren ingezet worden – dit staat nog los van de handelingen die ze zullen ondergaan. De welzijnsaantasting ten gevolge van de experimentele handelingen wordt verderop in het advies toegelicht. De morele waarden die voor de doelgroep worden bevorderd zijn: welzijn en rechtvaardigheid (beschikbaarheid van effectieve voederinterventies). De vleeskuikens en directe betrokkenen hebben baat bij het beschikbaar komen van voederinterventies die een optimale ontwikkeling

van vleeskuikens ondersteunen, omdat dit bijdraagt aan optimaal presterende koppels in termen van gezondheid, welzijn, efficiënt grondstoffengebruik en antibioticumgebruik. En daar is ook de samenleving bij gebaat. De morele waarden die voor het onderzoeksveld en de diervoederindustrie worden bevorderd zijn: welzijn (wetenschappelijke en commerciële ontwikkelingen). Het onderzoeksveld is gebaat bij het publiceren van de nieuwste ontwikkelingen, en de diervoederindustrie is gebaat bij de verkoop van voedermiddelen die gebaseerd zijn op de vergaarde kennis. Beide aspecten spelen voor de DEC geen rol van betekenis bij het maken van de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van de proefdieren.

6. De aanvrager geeft niet aan nadelige effecten op het milieu te verwachten. De DEC ziet geen aanleiding om aan te nemen dat zich toch nadelige effecten zullen voordoen.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met vergelijkbare experimenten in kippen. Alle andere benodigde expertise (m.b.t. de analyse van de samenstelling van het darmmicrobioom, de statistiek en de wiskundige modellen) wordt gewaarborgd door nauwe samenwerking met consortiumpartners. De DEC is van mening dat het projectvoorstel aansluit bij recente inzichten en dat het geen belangrijke hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten beperken. Gezien het feit dat dit projectvoorstel onderdeel is van een groter NWO-programma, en optimaal opgezet zal kunnen worden met behulp van resultaten uit lopende experimenten, zou het haalbaar moeten zijn dat de resultaten van dit project op termijn leiden tot de ontwikkeling van de beoogde voederinterventies voor vleeskuikens.
8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Het project is opgebouwd uit twee opeenvolgende subdoelen/type dierproeven. In bijlage 1 wordt onderzocht in hoeverre het mogelijk is om met grote aangebrachte veranderingen in de samenstelling van het darmmicrobioom (zogenaamde 'extreme profielen') de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem zodanig te beïnvloeden dat effecten meetbaar zijn. Pas wanneer blijkt dat dit mogelijk is gaat men door met de experimenten uit bijlage 2, waarin subtielere veranderingen in de samenstelling van het darmmicrobioom verwacht worden. In deze experimenten worden kuikens vanaf vroege leeftijd blootgesteld aan voercomponenten, en wordt de invloed van deze voercomponenten op de samenstelling van de darmmicrobiota en de ontwikkeling van het immuunsysteem onderzocht. De keuzes met betrekking tot de experimentele opzet en uitleesparameters zijn helder uiteengezet en zullen

voor een groot deel gebaseerd zijn op nog te verkrijgen resultaten uit lopende experimenten. De relatie tussen het voorliggende en de lopende projecten is zeer duidelijk toegelicht in de projectaanvraag. In reactie op een vraag van de DEC hebben de onderzoekers duidelijk beargumenteerd waarom het niet noodzakelijk is om de resultaten van de lopende experimenten af te wachten alvorens een vergunning aan te vragen voor dit project.

Op basis van de resultaten van voorgaand onderzoek worden vier additieven geselecteerd. Van deze stoffen is bekend dat ze: 1) in vitro een positief effect hebben op cellen van het innate afweer systeem, 2) veilig aan kippen gegeven kunnen worden en wat hun effect is op het aantal immuun cellen in bloed en groei van de embryo's (in ovo screening) en 3) een positief effect hebben op performance (in vivo feed trial). Tevens hebben onderzoekers een idee van het effect van deze additieven op het immuunsysteem en/of microbiom.

Het effect van deze vier stoffen op bescherming tegen een Salmonella infectie zal in bijlage 3 onderzocht worden, waarbij het mechanisme achter deze bescherming centraal staat.

Van de vier geselecteerde componenten wil men weten of ze een effect hebben op de cellen van het innate immuun systeem en/of op het microbiom en of ze zorgen voor een betere bescherming tegen S. enteritidis infecties. Hiertoe worden drie experimenten uitgevoerd:

- 1. Een pilot studie om de kinetiek van een infectie met S. enteritidis in kaart te brengen.*
- 2. Een voerinterventie gevolgd door een besmetting met S. enteritidis.*
- 3. Een transmissieproef waarin het effect van de voerinterventie op transmissie van S. enteritidis zal worden bestudeerd.*

De keuzes met betrekking tot de experimentele opzet en uitleesparameters zijn helder uiteengezet en zijn gebaseerd op (deels nog te verkrijgen) resultaten voorgaande experimenten. De relatie tussen de extra bijlage 3, de voorgaande bijlagen en de lopende en reeds uitgevoerde projecten is zeer duidelijk toegelicht in reactie op een vraag van de DEC.

Welzijn dieren

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

- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)

10. De dieren worden niet gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn. Om de praktijksituatie zo goed mogelijk te benaderen worden dieren in gemengde groepen gehuisvest met een bezettingsgraad die hoger

is dan volgens richtlijn 2010/63/EU is toegestaan. Deze bezettingsgraad is ver onder de commerciële normen en is eerder toegepast in vergelijkbare proeven zonder dat dit tot welzijnsproblemen heeft geleid. Zowel de dieren als de omstandigheden in de stallen worden intensief gemonitord, zodat tijdig ingegrepen kan worden wanneer zich tot onverwachte negatieve effecten op gezondheid en welzijn voordoen.

De dieren in bijlage 3 die worden ingezet voor de transmissieproef worden niet gehuisvest op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn. Om de praktijksituatie zo goed mogelijk te benaderen worden de dieren gehuisvest met een bezettingsgraad die hoger is dan volgens richtlijn 2010/63/EU is toegestaan. Deze bezettingsgraad ligt rond de commerciële normen en is eerder toegepast in vergelijkbare proeven zonder dat dit tot welzijnsproblemen heeft geleid. Zowel de dieren als de omstandigheden in de stallen worden intensief gemonitord, zodat tijdig ingegrepen kan worden wanneer zich tot onverwachte negatieve effecten op gezondheid en welzijn voordoen.

11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. In bijlage 1 wordt het ongerief voor 55% van de dieren ingeschat als licht. Dit ongerief is het gevolg van bloedafnamen, het bemonsteren met behulp van swabs en euthanasie. De overige dieren (45%) ervaren matig ongerief ten gevolge van de geïnduceerde disbalans van de darmmicrobiota. De inschatting van het ongerief voor de dieren in bijlage 2 is vergelijkbaar. De meeste dieren (95%) ervaren licht ongerief als gevolg van bloedafnamen, het bemonsteren met behulp van swabs en euthanasie. De overige dieren (5%) kunnen matig ongerief ervaren wanneer de voercomponenten een disbalans van de darmmicrobiota teweegbrengen. *In bijlage 3 ervaren alle dieren matig ongerief vanwege de infectie en de handelingen (inoculeren, vastpakken).*
12. Naar de mening van de DEC wordt de integriteit van de dieren door de voorgenomen experimenten niet aangetast. *De integriteit van de dieren in bijlage 3 wordt aangetast, omdat de ziekteverschijnselen als gevolg van de besmetting met *S. enteriditis* de fysieke conditie van het dier aantasten.*
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. In beide bijlagen houdt men er rekening mee dat maximaal 5% van de dieren voortijd geëuthanaseerd moet worden in verband met reguliere – niet aan het experiment gerelateerde – gezondheidsproblemen (pootproblemen en metabole stoornissen die kunnen optreden als gevolg van genetische aanleg voor snelle groei), of in verband met een enteritis die het gevolg kan zijn van de geïnduceerde disbalans van de darmmicrobiota. *De humane eindpunten zijn in bijlage 3 goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Men houdt er rekening mee dat maximaal 5% van de dieren voortijd geëuthanaseerd moeten worden als gevolg van ziekteverschijnselen door de *S. enteriditis* infectie*

dan wel – niet aan het experiment gerelateerde – gezondheidsproblemen (pootproblemen en metabole stoornissen die kunnen optreden als gevolg van genetische aanleg voor snelle groei.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Het deels nog op te helderen samenspel tussen cellen, weefsels en organen dat ten grondslag ligt aan de interacties tussen voercomponenten, de darmmicrobiota en het aangeboren immuunsysteem in vleeskuikens is dusdanig complex, dat het vooralsnog niet met proefdier vrije methoden nagebootst kan worden.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Met behulp van ervaringen met eerder uitgevoerde experimenten is een schatting gemaakt van het benodigde aantal dieren. Aan de hand van resultaten uit de voorgaande (en momenteel nog lopende) projecten zal voor aanvang van de experimenten exact bepaald worden hoeveel dieren nodig zijn om uitleesparameters met betrekking tot het aangeboren immuunsysteem en de darmmicrobiota in kaart te kunnen brengen. Wanneer uit de nog lopende projecten blijkt dat darmmonsters na sectie op een aantal tijdstippen vervangen kunnen worden door minder invasieve monsters (zoals cloaca-, mest- en bloedmonsters), dan zou het benodigde aantal dieren beduidend lager kunnen uitvallen dan de huidige schatting.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Het doeldier van dit project is het vleeskuiken. Door de beschreven experimenten uit te voeren bij het doeldier (vleeskuikens) en onder praktijkomstandigheden is de kans groot dat de uitkomsten op relatief korte termijn toepassing zullen vinden in de praktijk. De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met vergelijkbare experimenten. Doordat het voorliggende project het sluitstuk vormt van een reeks reeds vergunde projectaanvragen beschikt men over waardevolle data aan de hand waarvan de meest verfijnde onderzoeksopzet gekozen kan worden.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Dieren van beide geslachten zullen in gelijke mate worden ingezet.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood, omdat de doelstellingen van het project alleen behaald kunnen worden wanneer de darminhoud en verschillende organen post mortem geanalyseerd kunnen worden. De monsters die nodig zijn voor de beoogde analyses kunnen

niet uit levende dieren verkregen worden. De dieren worden in overeenstemming met bijlage IV van de EU-richtlijn op een passende wijze gedood.

20. De vraag over hergebruik is niet van toepassing omdat de dieren gedood worden in het kader van het experiment.

NTS

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

D. Ethische afweging

1. De morele vraag die de DEC dient te beantwoorden is: rechtvaardigt het belang van het voorliggende project, dat tot doel heeft de interacties tussen voercomponenten, het aangeboren immuunsysteem en de darmmicrobiota *en de invloed van deze factoren op bescherming tegen een infectie met S. enteriditis* in vleeskuikens in kaart te brengen, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn van de gebruikte proefdieren?
2. Er vindt een beperkte aantasting van welzijn van de proefdieren plaats, met licht tot matig ongerief tot gevolg. Incidenteel kan sprake van zijn kortdurend ernstig ongerief, wanneer reguliere (dus geen dierproef-gerelateerde) gezondheidsproblemen optreden, wanneer de geïnduceerde disbalans in de darmmicrobiota tot een enteritis leidt of als gevolg van de toegebrachte S. enteritis infectie. Indien de hierboven genoemde doelstelling behaald wordt, dan zal dit project eraan bijdragen dat voederinterventies ontwikkeld kunnen worden die een optimale ontwikkeling van vleeskuikens ondersteunen. Op deze wijze kan het project bijdragen aan een duurzame vleeskuikenhouderij in termen van gezondheid, welzijn, efficiënt grondstoffen- en antibioticumgebruik. Niet alleen de dieren en directe betrokkenen zouden hierbij gebaat zijn, ook de samenleving. De DEC kent hier veel gewicht aan toe. Het is aannemelijk dat de fundamentele en translationele doelstelling behaald zal worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken. Dat het voor de individuele onderzoeker van belang kan zijn om aansprekende onderzoeksresultaten te boeken is juist, maar in de uiteindelijke afweging van de DEC speelt dit geen rol van betekenis.
In bijlage 3 vindt er een aantasting van welzijn van de proefdieren plaats, met matig ongerief tot gevolg. Daar staat echter tegenover dat onderzoekers verwachten dat een verhoogde activiteit van het innate immuun systeem ervoor zorgt dat de betreffende cellen beter in staat zijn om de S. enteriditis te doden. Daarnaast verwachten onderzoekers dat de interventie gemedieerde aanpassingen in het microbiom minder ruimte laat voor kolonisatie van S. enteriditis in de darm. Dit kan van substantieel belang zijn voor de gezondheid van (vlees)kuikens, het antibioticagebruik en daarmee ook de gezondheid van de samenleving. Hier kent de DEC dan ook veel gewicht aan toe. De DEC ziet deze bijlage als een logische volgende stap, passende bij de doelstelling van de oorspronkelijke projectaanvraag. De DEC acht het aannemelijk dat de doelstelling van de bijlage

behaald wordt. Het gebruik van proefdieren is onvermijdelijk, maar de DEC is ervan overtuigd dat de onderzoekers niet meer dieren gebruiken dan strikt noodzakelijk en tevens al het nodige doen om het ongerief tot zo laag mogelijk te houden.

3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat de in de projectaanvraag beschreven experimenten en de extra bijlage 3 bijdragen aan het tot stand komen van voederinterventies die de ontwikkeling en gezondheid van vleeskuikens optimaal ondersteunen, zodat vleeskuikens minder vatbaar zijn voor ziekten en het verstrekte voer efficiënter kunnen benutten voor een gezond en gematigd groeipatroon. Dit resulteert onder andere in verbeterd dierenwelzijn, minder antibioticumgebruik, een kleinere kans op overdracht van dierziekten en antibioticumresistentie naar de mens, en een lagere ecologische voetafdruk van de vleeskuikensector. Daarmee vertegenwoordigen de experimenten een reëel belang. In de ogen van de DEC weegt dit reële belang op tegen de beperkte aantasting van het welzijn van de proefdieren. Het project is goed opgezet, de verschillende subdoelen/experimenten zijn terecht ondergebracht in één project, en het is aannemelijk dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van het doel binnen het kader van het project. Doordat de experimenten worden uitgevoerd in het doeldier, en onder huisvestingscondities die de praktijksituatie zo goed mogelijk nabootsen, is de kans groot dat onderzoeksresultaten op termijn toepassing zullen vinden in de praktijk en daarmee voordelen opleveren voor dier, mens en milieu. 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 van dierproeven. De interdisciplinaire onderzoeksgroep heeft gedurende de voorgaande projecten, waarop dit project voortborduurde, veel ervaring opgedaan met de toe te passen monsternames en analyse van data. Dit alles in ogenschouw nemend is het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag naar de mening van de DEC gerechtvaardigd.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning voor deze wijziging te verlenen.
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.
- Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
 - Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...
- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
- De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Universiteit Utrecht
t.a.v. Prof. dr. A. Pijpers
Postbus 12007
3501 AA Utrecht

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1080020174425-1

Datum 26 augustus 2019

Betreft Beslissing Aanvraag wijziging projectvergunning dierproeven

Geachte Prof. dr. Pijpers,

Op 14 juni 2019 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Onderzoek naar interacties tussen darmmicrobiota en de ontwikkeling van het afweersysteem bij vleeskuikens" met aanvraagnummer AVD1080020174425, waarvoor op 26 februari 2018 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD1080020174425-1. Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u een Bijlage Dierproeven toe te voegen. Wij hebben uw wijzigingsaanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij wijzen uw wijzigingsaanvraag toe. Dit betekent dat het op grond van artikel 10a, lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) is toegestaan de in de wijzigingsaanvraag beschreven dierproeven onder de vergunning voor het project "Onderzoek naar interacties tussen darmmicrobiota en de ontwikkeling van het afweersysteem bij vleeskuikens" uit te voeren. Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Procedure

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht (hierna: de DEC). Dit advies is opgesteld op 29 juli 2019. 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 DEC. Wij nemen dit advies van de DEC over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Nadere vragen aanvrager

Op 16 augustus 2019 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op het ongerief en de reden van uitval van de dieren. Uw antwoord is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Datum
26 augustus 2019
Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD1080020174425-1

Overwegingen

Op grond van de bovenstaande stukken zijn wij van mening dat de toe te voegen dierproef toelaatbare wijzigingen betreffen van het project, waarvoor op 26 februari 2018 een vergunning is verleend.

Vergunning

Aan de vergunning wordt de volgende dierproef toegevoegd:

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.3 Effect van specifieke voercomponenten op bescherming van vleeskuikens tegen een infectie met Salmonella enteritidis	Kippen	3047	21% licht 79% matig

Voor het overige blijft de vergunning ongewijzigd.
U dient deze brief toe te voegen bij uw oorspronkelijke vergunning.

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 93118, 2509 AC, Den Haag.

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

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

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

Meer informatie

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

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

Drs. F. Braunstahl

Bijlagen
- DEC-advies



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. Fundamenteel onderzoek
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.* 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.

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).

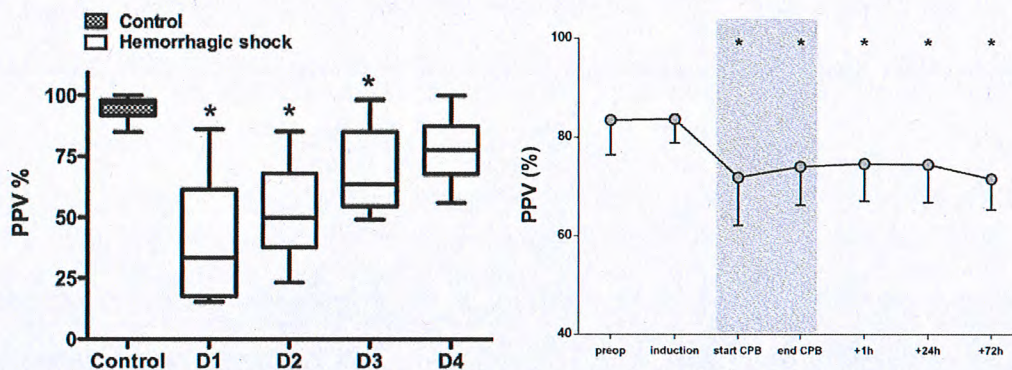
3. Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

De doorbloeding van de microcirculatie is een belangrijk onderdeel van de bloedsomloop. De microcirculatie bestaat uit de haarvaten (capillairen) waarin de uitwisseling van zuurstof, koolstofdioxide, voedingsstoffen en afvalstoffen met de omliggende organen plaatsvindt. Vermindering van de doorbloeding van deze haarvaten kan leiden tot een tekort aan zuurstof en voedingsstoffen en opstapeling van afvalstoffen in de omliggende weefsels en uiteindelijk tot het falen van de organen.

Een verstoorde doorbloeding van de haarvaten is kenmerkend bij ernstig zieke patiënten (zie figuur 1). Ernstig zieke patiënten zijn patiënten in een levensbedreigende situatie waarvan de oorzaken erg uiteen kunnen lopen. Dit zijn bijvoorbeeld patiënten met ernstig trauma na een verkeersongeval, patiënten met ernstig bloedverlies (hemorragische shock) tijdens een operatie of na een verkeersongeval, een bacteriële infectie (sepsis), een virale infectie (bv. COVID19), patiënten met hart- of long falen, etc. Deze patiënten hebben als gedeelde noemer dat er een systemische inflammatoire response is ontstaan, welke het endotheel (een onderdeel van de microcirculatie) activeert. Bij een extreme response, ook wel een cytokine storm genoemd, leidt dit tot negatieve effecten op het endotheel met alle gevolgen van dien. In dit project bestuderen wij 1) patiënten die veel bloed hebben verloren (hemorragische shock); 2) 10.1 c en 10.2 g

en 3) 10.1 c en 10.2 g

De doorbloedingsstoornissen in de haarvaten zijn geassocieerd met het falen van verschillende organen, zoals het acuut falen van de nier (1 op de 7 patiënten) en het acuut falen van de long (1 op de 6 patiënten) en een ongunstige prognose voor de patiënten.



Figuur 1: In patiënten die veel bloed hebben verloren (hemorragische shock; links) Tachon, Crit Care Med. 2014; 42(6):1433-41 en

10.1 c en 10.2 g

). In beide patiënten groepen is de doorbloeding van de haarvaten nog minimaal 2 dagen verstoord.

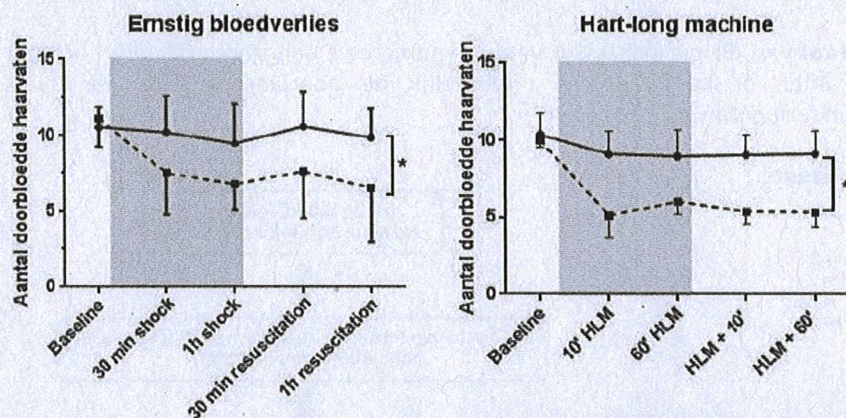
(Uitleg figuren: Links: 'control' zijn gezonde vrijwilligers zonder bloedverlies; D staat voor dagen na bloedverlies. Rechts:

10.1 c en 10.2 g

Het **doel** van ons onderzoek is het bestuderen hoe een slechte doorbloeding van de haarvaten kan leiden tot het falen van verschillende organen in ernstig zieke patiënten om vervolgens aangrijpingspunten te vinden en de behandeling te optimaliseren. De huidige behandeling van deze patiënten is gericht op de macrocirculatie, zoals het herstellen van de bloeddruk en de hartslag. Maar juist verstoringen in de microcirculatie (haarvaten) zijn een belangrijke voorspellende factor voor het ontwikkelen van orgaan falen

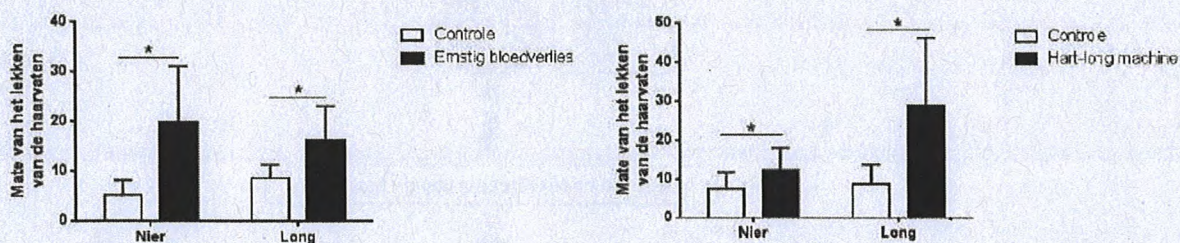
In ernstig zieke patiënten. Helaas bereikt de huidige therapie van deze patiënten nog niet de haarvaten. Met dit onderzoek willen wij nieuwe aangrijpingspunten vinden om de haarvaten te bereiken en de doorbloeding te optimaliseren om uiteindelijk het falen van de organen te verminderen of voorkomen.

Onze onderzoeksgroep heeft eerder laten zien dat de stoornissen in de doorbloeding van de haarvaten in ernstig zieke patiënten gepaard gingen met activatie van de binnenwand van de haarvaten (endotheel), met een dunnere slijm laag over deze binnenwand (glycocalyx) en een verstoorde balans van het moleculaire angiopoietine/Tie2 systeem. Tevens hebben celweek experimenten laten zien dat als we humane endotheel cellen blootstellen aan het plasma van deze patiënten de barrière functie verslechtert, wat een indicatie kan zijn dat er markers in het bloed circuleren waardoor de haarvaten gaan lekken. Helaas is het onderliggende mechanisme van de doorbloedingsstoornissen bijna onmogelijk in humaan weefsel te onderzoeken, omdat de huidige technieken om doorbloedingsstoornissen in kaart te brengen nog beperkt zijn. Door deze beperkingen hebben wij ons onderzoek uitgebreid met proefdieren. Wij hebben twee diersmodellen werkend in ons laboratorium welke representatief zijn voor deze ernstig zieke patiënten, zoals dieren met ernstig bloedverlies en **10.1 c en 10.2 g**. Tijdens ernstig bloedverlies en **10.1 c en 10.2 g** hebben wij laten zien dat de doorbloeding van de haarvaten verstoord is (zie figuur 2), maar ook niet hersteld kon worden door de huidige behandelingsmethode.



Figuur 2: In ratten die veel bloed hebben verloren (links) en **10.1 c en 10.2 g** zijn de haarvaten minder goed doorbloed. De doorgetrokken lijnen geven de controle dieren weer en de gestippelde lijn de dieren die een interventie hebben ondergaan. In het grijze vlak is de periode weergegeven waarbij de dieren ernstig bloed hebben verloren (shock; links) of **10.1 c en 10.2 g**. De dieren zijn na behandeling (resuscitatie; links) of **10.1 c en 10.2 g** nog voor één uur vervolgd.

Daarnaast hebben wij laten zien dat deze verstoringen gepaard gingen met het lekken van vloeistof uit de haarvaten in het omliggende weefsel; e.g. vaatlekkage (zie figuur 3).



Figuur 3: In ratten die veel bloed hebben verloren (links) en **10.1 c en 10.2 g** lekken de haarvaten in de longen en de nieren.

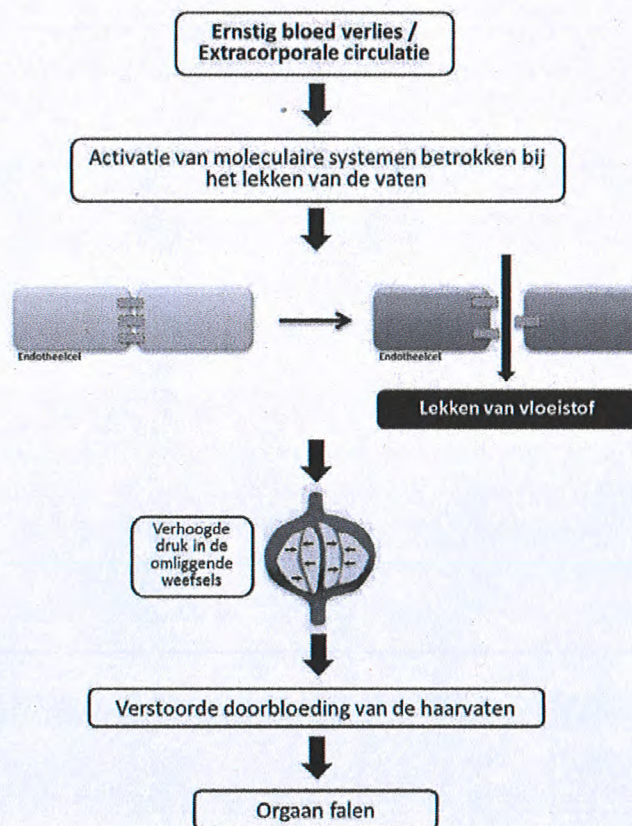
Eén van de moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten is het moleculaire angiotensine/Tie2 systeem. Wij hebben aangetoond dat het beïnvloeden van het angiotensine/Tie2 systeem met een nieuwe medicatie de doorbloeding van de haarvaten herstelt in de cremaster spier van ernstig zieke ratten. Tevens hebben wij laten zien dat deze medicatie het lekken van de haarvaten vermindert. Omdat elk orgaan tijdens stress een andere doorbloeding heeft (bv. vitale organen krijgen voorrang op niet-vitale organen) zullen wij in ons vervolgonderzoek het effect van deze behandeling bestuderen in specifieke organen zoals de longen en de nieren. Daarnaast is bekend dat organen gaan falen binnen 3 dagen na ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g . Verder onderzoek is daarom nodig om aan te tonen of het beïnvloeden van dit systeem ook op lange termijn effectief is. Hiervoor hebben wij drie beurzen ontvangen.

Naast het angiotensine/Tie2 systeem zijn er ook andere systemen bekend die betrokken zijn bij het lekken van de haarvaten. Het **fundamentele** onderzoek van dit project focust op het ontrafelen van deze systemen met als doel aangrijpingspunten te vinden voor nieuwe medicatie of het toepassen van bestaande medicatie met een nieuw doel.

Het **translationele** karakter van ons onderzoek is het uiteindelijk toepassen van nieuwe en/of bestaande medicatie met een nieuw doel in de kliniek. Wij hebben al laten zien dat de doorbloeding van de haarvaten verstoord is in ernstig zieke patiënten (zie figuur 1) en twee medicaties waarvan wij de werking hebben laten zien in ratten worden momenteel getest in deze patiënten.

Het **doel** van dit project is het vinden van nieuwe aangrijpingspunten om het lekken van de haarvaten te voorkomen of herstellen en uiteindelijk de doorbloeding van de haarvaten te optimaliseren ter vermindering van orgaan falen.

Hypothese



Figuur 4: Hypothese

Tijdens ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g worden moleculaire systemen geactiveerd waardoor haarvaten poreuzer worden. Het lekken van vloeistof uit deze haarvaten veroorzaakt een verhoogde druk in de weefsels, zoals in de nieren en de longen. Dit verstoort de doorbloeding van deze organen, waardoor het orgaan kan gaan falen.

Uiteindelijk wordt het effect van de interventies met de grootste potentie om orgaan falen te verminderen op langere termijn bestudeerd. Ernstig zieke patiënten ontwikkelen de meeste complicaties op de Intensive Care en organen falen gemiddeld binnen drie dagen na ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g

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?

Algemene doelstelling

Het vinden van nieuwe aangrijpingspunten om het lekken van de haarvaten te voorkomen of herstellen en uiteindelijk de doorbloeding van de haarvaten te optimaliseren ter vermindering van orgaan falen.

Onderzoeksvragen:

1. Welke moleculaire systemen zijn betrokken bij het lekken van de haarvaten in ernstig zieke dieren?
2. Wat is het effect van het remmen of activeren van de moleculaire systemen gevonden bij vraag 1 op de doorbloeding van de haarvaten en de orgaan functie?
3. Wat is het effect van de bij vraag 2 positief geteste interventies op orgaan functie op de lange termijn?

Haalbaarheid

Binnen onze onderzoeksgroep en ons onderzoeksinstituut is ruime ervaring met de verschillende diermodellen, zoals dieren met ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g. Onze kennis over de diermodellen is gedocumenteerd in 7 papers.

De technieken om de doorbloeding en het lekken van de haarvaten te meten worden al met succes toegepast binnen onze onderzoeksgroep. De doorbloeding wordt gemeten met intravitaal microscopie in de cremaster spier en contrast echografie in de nieren en het hart. Het lekken van de haarvaten wordt gemeten door middel van uittreding van een blauwe kleurstof vanuit de vaten in de omliggende weefsels. Het meten van het lekken van de vaten, de doorbloeding van de renale haarvaten en de oxygenatie van de nier wordt op het moment uitgebreid met twee-foton microscopie en hyperspectraal imaging in samenwerking met andere onderzoeksgroepen, zowel binnen als buiten ons instituut.

Voor het fundamentele onderzoek hebben wij verschillende technieken werkzaam, zoals PCR, western blotten, immunohistologie, ELISA en celweek, om de veranderingen op RNA en eiwit niveau te bestuderen in de verschillende organen. Het beschreven onderzoek wordt uitgevoerd door 3 promovendi en wordt praktisch ondersteund door een research analist.

Voor het beantwoorden van de hierboven beschreven vraagstellingen hebben wij drie beurzen ontvangen voor het bestuderen van het effect van het lekken van de haarvaten op de doorbloeding van de haarvaten en het ontstaan van orgaan falen tijdens ernstig bloedverlies 10.1 c en 10.2 g

3.3 Belang

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

Het **wetenschappelijke** belang van dit project is het ontrafelen van moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten voor het vinden van nieuwe aangrijpingspunten om de doorbloeding van de haarvaten te optimaliseren ter vermindering van orgaan falen. Voorheen hebben wij laten zien dat het angiopoietine/Tie2 systeem verstoord is in ernstig zieke dieren en dat modulatie van dit systeem het lekken en de doorbloeding van de haarvaten verminderde. Deze basis geeft ons aanknopingspunten om de effecten van modulatie van het angiopoietine/Tie2 systeem te bestuderen op orgaan falen in ernstig zieke dieren met een methode die nog niet eerder uitgevoerd is. Inzicht in de betrokken moleculaire systemen en het vergroten van de kennis over veranderingen in de microcirculatie is essentieel omdat verstoringen in de microcirculatie een belangrijke voorspellende factor zijn voor het ontwikkelen van orgaan falen in ernstig zieke patiënten. Deze kennis kan een belangrijke bijdrage leveren voor nieuwe targets voor medicatie om orgaan falen te verminderen in ernstig zieke patiënten.

Het **maatschappelijke** belang van deze studie ligt in het bijdragen van kennis voor het optimaliseren van de behandeling van ernstig zieke patiënten met verstoringen in de doorbloeding van de haarvaten. Op dit moment is de behandeling van ernstig zieke patiënten gericht op het herstellen van de macrocirculatie (o.a. bloeddruk, hartslag). Echter, er zijn er geen effectieve therapieën beschikbaar die aangrijpen op de microcirculatie, terwijl de laatste jaren gebleken is dat juist verstoringen in de microcirculatie belangrijk zijn voor het ontwikkelen van orgaan falen (15% acuut nier falen, 16% acuut long falen) in ernstig zieke patiënten, zoals patiënten die veel bloed hebben verloren of ^{10.1 c en 10.2 g}

^{10.1 c en 10.2 g}. Met behulp van deze diermodellen ontrafelen we niet alleen aangrijpingspunten voor therapieën, maar zullen we ook potentiële nieuwe therapieën testen die mogelijk in de kliniek gebruikt kunnen gaan worden. Met deze nieuwe therapieën willen wij de kans op orgaan falen en overlijden van ernstig zieke patiënten verlagen.

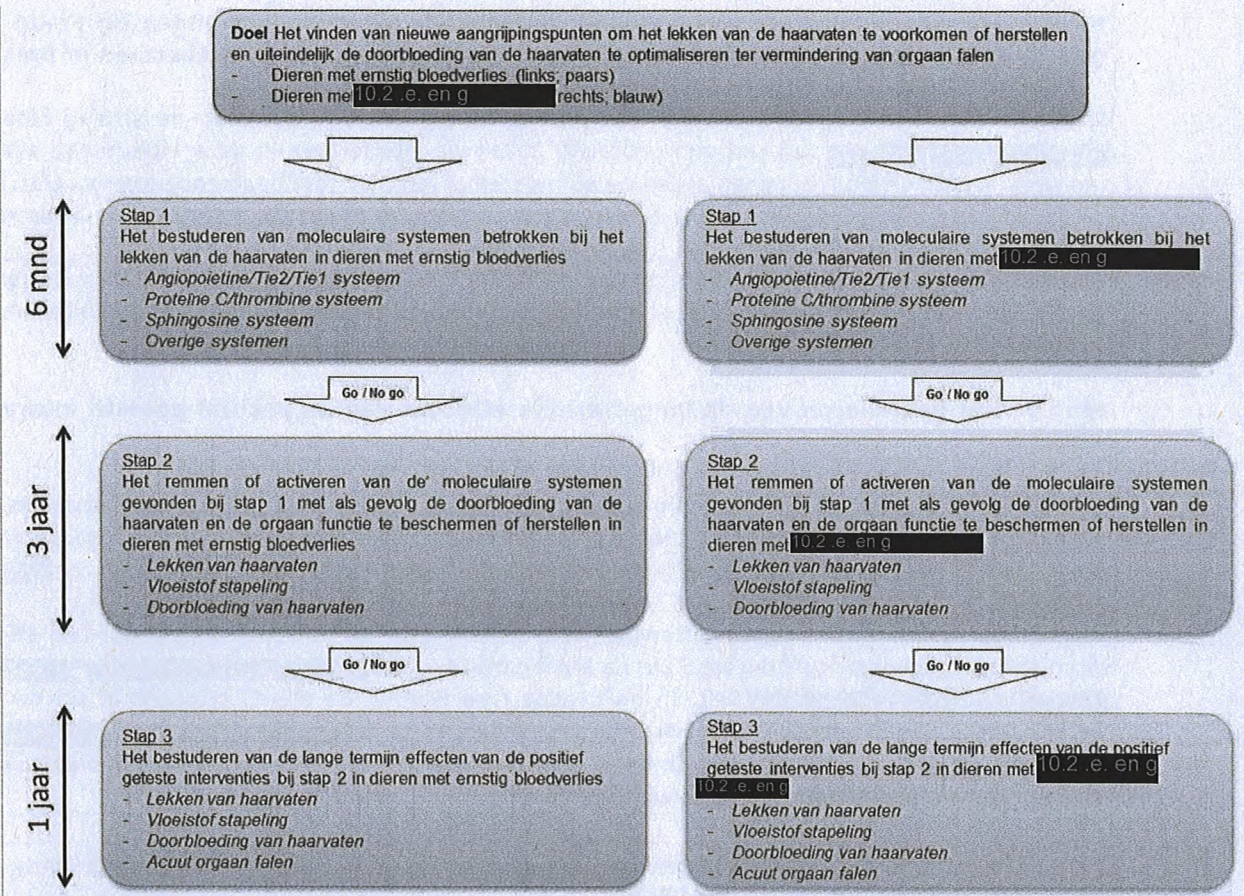
De beschreven diermodellen zullen hierbij van belang zijn omdat zij vertaalbaar zijn naar de humane situatie. Wij hebben aangetoond dat in onze diermodellen dezelfde veranderingen plaatsvinden in de doorbloeding van de haarvaten en veranderingen van markers in het bloed als in ernstig zieke patiënten (zie ook figuur 1 en 2). Daarnaast worden momenteel twee medicaties waarvan wij de werking hebben laten zien in ratten getest in ernstig zieke patiënten, wat de extrapolatie van het project ondersteund.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Voor het vinden van nieuwe aangrijpingspunten om het lekken van de haarvaten te voorkomen of herstellen en uiteindelijk de doorbloeding van de haarvaten te optimaliseren ter vermindering van orgaan falen zijn drie onderzoeksvragen geformuleerd welke weergegeven zijn in figuur 5. Ernstig zieke patiënten zijn patiënten ^{10.1 c en 10.2 g}

^{10.1 c en 10.2 g}, veel bloed hebben verloren of een septische shock ontwikkelen. Wij hebben gekozen om de eerste twee patiëntpopulaties te bestuderen. De derde patiëntpopulatie, septische shock, wordt uitgebreid bestudeerd door een groep in Groningen waar wij intensief mee samenwerken. Figuur 5 is daarom opgesplitst op basis van deze twee patiëntpopulaties; dieren met ernstig bloedverlies ^{10.1 c en 10.2 g} ^{10.1 c en 10.2 g}). Deze twee diermodellen zullen naast elkaar ingezet worden om de onderzoeksvragen te beantwoorden.



Figuur 5: Algemene opzet van het project

Stap 1: Het bestuderen van moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten

Ernstig bloedverlies wordt geïnduceerd in muizen door gecontroleerd bloed af te nemen totdat een bloeddruk van 30 mmHg is bereikt. Na 1 uur worden de dieren behandeld met vloeistof volgens de standaard behandeling in de kliniek.

10.1 c en 10.2 g

Op twee momenten worden de dieren opgeofferd: 1) direct na ernstig bloedverlies (10.1 c en 10.2 g

10.1 c en 10.2 g) en 2) één uur na standaard behandeling met vloeistoffen bij ernstig bloedverlies (10.1 c en 10.2 g).

De nieren, de longen en het plasma worden bestudeerd op moleculair niveau (RNA en eiwit). Verschillende moleculaire systemen die betrokken zijn bij het lekken van de haarvaten zullen worden bestudeerd, zoals:

1. Angiopoietine/Tie2/Tie1 systeem
2. Proteïne C/thrombine systeem
3. Sphingosine systeem
4. Overige (onbekende) systemen (vascular endothelial growth factor, integrinen)

Veranderingen in deze moleculaire systemen zijn de basis voor het vinden van nieuwe targets voor medicatie om de doorbloeding van de haarvaten en de orgaanfunctie te verbeteren.

Stap 2: Het remmen of activeren van de moleculaire systemen gevonden bij vraag 1 met als gevolg de doorbloeding van de haarvaten en de orgaan functie te beschermen of herstellen

Nadat de moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten na ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g in kaart zijn gebracht, zullen we interfereren in deze moleculaire systemen. De meest relevante eiwitten of genen zullen we stimuleren of remmen met bestaande interventies. Dit kunnen bv. medicijnen zijn die in een andere context (ander ziektebeeld) worden gebruikt. De effecten van deze interventies worden bestudeerd op het lekken van de haarvaten, het stapelen van vloeistof in de omliggende weefsels en de doorbloeding van de haarvaten. Het aantal te testen interventies schatten wij op 6 in een periode van 3 jaar in verband met de tijd die deze experimenten in beslag zullen nemen en de capaciteit van onze onderzoeksgroep.

Stap 3: Het bestuderen van de lange termijn effecten van de positief geteste interventies bij vraag 2

Het effect van de interventies met de grootste potentie om orgaan falen te verminderen zullen op langere termijn bestudeerd worden. Ernstig zieke patiënten ontwikkelen de meeste complicaties op de Intensive Care (dag 1) en orgaan falen gemiddeld binnen drie dagen na ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g

De periode kenmerkend voor de Intensive Care zal bestaan uit het bestuderen van het effect van de interventie in gesedeerde dieren tot 6 uur na ernstig bloedverlies 10.1 c en 10.2 g (3A). In de tweede fase worden de dieren bijgebracht uit de sedatie en worden vervolgd voor meerdere dagen na ernstig bloedverlies of 10.1 c en 10.2 g (3B). In deze dieren worden de nieren, de longen en het plasma bestudeerd op markers van acuut nier falen en acuut long falen.

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

Diermodellen

Stoornissen in de doorbloeding van de haarvaten zijn kenmerkend voor ernstig zieke patiënten. Twee diermodellen die representatief zijn voor ernstig zieke patiënten zijn dieren met ernstig bloed verlies en 10.1 c en 10.2 g.

1. *Ernstig bloedverlies – muis (in appendix 1)*

Hemorragische shock (shock ten gevolge van ernstig bloed verlies) wordt geïnduceerd in muizen door het gecontroleerd afnemen van arterieel bloed tot een bloeddruk van 30 mmHg is bereikt. De bloeddruk wordt voor 1 uur lang op 30 mmHg gehouden (shock) en vervolgens worden de muizen behandeld met vloeistof tot de bloeddruk van de start van de procedure weer is bereikt. De muizen worden nog 1 uur na herstel van de macrocirculatie (bloeddruk, hartslag) vervolgd. Gedurende de eerste 2 fases van het onderzoek zijn de muizen de gehele periode onder narcose en wordt er aanvullend perioperatieve pijnbestrijding gegeven. In de derde fase van het onderzoek worden de muizen bijgebracht uit de narcose zodra de macrocirculatie herstelt is na ernstig bloedverlies (ongeveer een uur na start standaard behandeling met vocht) en zullen worden vervolgd voor meerdere dagen.

Er zijn twee methoden beschreven om bloed af te nemen; gecontroleerd of ongecontroleerd. Ongecontroleerd bloedverlies is het meest vertaalbaar naar de klinische situatie. Echter heeft een exponentiële toename in het verlies van het aantal muizen en het niet kunnen beïnvloeden van de diepte van de shock, waardoor er een grotere variatie in de groepen aanwezig en meer dieren nodig zijn om een effect aan te tonen tot de beslissing geleid om shock te induceren door gecontroleerd bloed af te nemen.

2. 10.1 c en 10.2 g - rat

10.1 c en 10.2 g

[Redacted text]

10.1 c en 10.2 g en worden de ratten nog 1 uur vervolgd onder narcose (of langer zoals beschreven bij onderzoeksvraag 3A en 3B). 10.1 c en 10.2 g

en worden de ratten nog 1 uur vervolgd onder narcose (of langer zoals beschreven bij onderzoeksvraag 3B). Gedurende de eerste 2 fases van het onderzoek zijn de ratten de gehele periode onder narcose en wordt er aanvullend perioperatieve pijnbestrijding gegeven. In de derde fase van het onderzoek worden de ratten 10.1 c en 10.2 g bijgebracht uit de narcose zodra de macrocirculatie stabiel is en vervolgd voor meerdere dagen.

Er is gekozen om de ratten voor 75 minuten 10.1 c en 10.2 g

Mogelijkheden voor een kleiner apparaat zijn helaas nog niet haalbaar. Dit beperkt ons in het bestuderen van de betrokken moleculaire systemen, maar gelukkig zijn er interventies mogelijk zoals het toedienen van siRNA of andere inhibitoren of stimulators.

Moleculaire analyses

De primaire uitkomst bij onderzoeksvraag 1 zijn veranderingen in de moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten. Op 2 tijdstipmomenten zullen de dieren getermineerd worden en wordt weefsel gebruikt om de veranderingen op moleculair niveau in kaart te brengen.

Lekken van de haarvaten

Onze hypothese is dat de doorbloeding van de haarvaten verstoord is doordat de haarvaten lekken. Het lekken van de haarvaten wordt over de tijd bestudeerd. Onder narcose zullen de metingen op 5 momenten uitgevoerd worden om inzicht te krijgen wanneer de vaten gaan lekken en welke factoren hier aan bijdragen.

Vloeistof stapeling

Onze hypothese is dat door het lekken van vloeistof uit de haarvaten in het omliggende weefsel een verhoogde druk ontstaat wat resulteert in het dichtdrukken van de haarvaten en het belemmeren van de doorbloeding van de haarvaten. Het stapelen van vloeistof zal indirect gemeten worden door de drukopbouw in het weefsel te meten. De methode die hiervoor gebruikt wordt meet continue de druk in het weefsel en dit zal ons een indicatie geven hoe de druk opgebouwd wordt en wanneer dit effect heeft op de doorbloeding van de haarvaten.

Doorbloeding van de haarvaten

De doorbloeding van de haarvaten is de primaire uitkomst parameter bij onderzoeksvraag 2 en wordt met verschillende technieken in verschillende organen gemeten. We hebben gekozen om verschillende technieken te gebruiken omdat technieken vaak maar in 1 orgaan toepasbaar zijn. Onder narcose zullen de metingen op verschillende momenten uitgevoerd worden om inzicht te krijgen wanneer de doorbloeding verstoord raakt en welke factoren hier aan bijdragen.

Orgaan falen

Als gevolg van een verstoorde doorbloeding zullen de omliggende weefsels minder of geen zuurstof krijgen (hypoxie) wat uiteindelijk leidt tot het falen van de organen. Markers voor orgaan falen zijn de primaire uitkomst maten bij onderzoeksvraag 3. Deze markers zullen bepaald worden in het bloed, welke op 3 verschillende momenten tijdens het experiment afgenomen zal worden. Daarnaast worden er moleculaire analyses uitgevoerd in de organen van interesse, zoals de nieren en de longen. Dit vereist terminatie van de dieren aan het einde van het experiment.

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.

Onderzoeksvraag 1 is gericht op het bestuderen van de moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten. Voor het uitvoeren van deze experimenten is een periode geschat van 6 maanden op basis van het feit dat beide diermodellen en de technieken voor de moleculaire analyses al lopend binnen onze onderzoeksgroep.

Omdat veranderingen in moleculaire systemen betrokken bij het lekken van de haarvaten de basis zijn voor het vinden van nieuwe aangrijpingspunten zal vervolgens het eerste Go / No go moment plaatsvinden (zie figuur 6). Of we doorgaan naar de tweede onderzoeksvraag zal bekeken worden per moleculair systeem. Met betrekking tot het angiotensinogen/Tie2/Tie1 systeem en het proteïne C/thrombine systeem hebben wij aangetoond dat modulatie van deze systemen tijdens ernstig bloedverlies en **10.1 c en 10.2 g** (beiden in ratten) de doorbloeding van de haarvaten kunnen herstellen of beschermen. De verwachting is dan ook zeer groot dat we op basis van de te verwachten bevindingen door kunnen gaan naar onderzoeksvraag 2. De overige moleculaire systemen worden in hetzelfde weefsel onderzocht en hiervoor zullen dus geen extra dieren getermineerd worden.

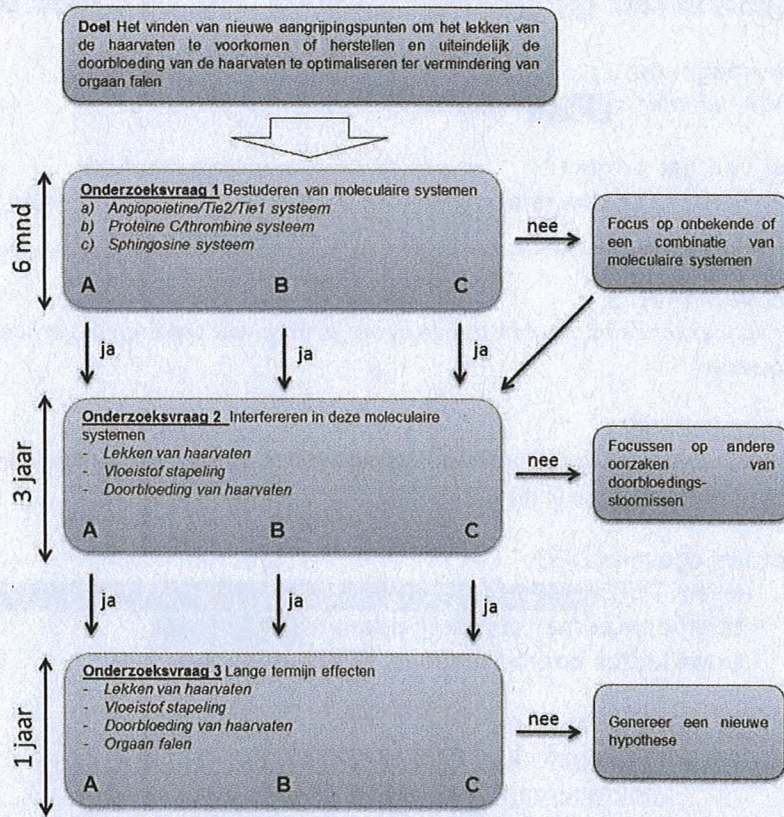
Onderzoeksvraag 2 richt zich op het interfereren in deze moleculaire systemen door bepaalde eiwitten of genen te stimuleren of remmen in dezelfde diermodellen zoals beschreven onder onderzoeksvraag 1. De effecten van deze interventies worden bestudeerd op het lekken van de haarvaten, het stapelen van vloeistof in de omliggende weefsels en de doorbloeding van de haarvaten. Deze periode zal het grootste gedeelte van de tijd in beslag nemen omdat het bijvoorbeeld tijd kost om transgene muizen te importeren of ons model bij een andere onderzoeksgroep uit te voeren.

Het tweede Go / No go moment is gebaseerd op het effect van deze interventies op de doorbloeding van de haarvaten, aangezien dit de belangrijkste bepalende parameter is voor het ontwikkelen van orgaan falen. We gaan door naar onderzoeksvraag 3 op het moment dat de interventie de doorbloeding van de haarvaten beschermt of herstelt. Het Go / No go moment zal per interventie bekeken worden. Van belang is dat onderscheid wordt gemaakt tussen interventies met als doel de doorbloeding van de haarvaten te herstellen (mogelijke medicatie) of interventies met een negatief effect om het belang van bepaalde moleculaire systemen aan te tonen.

Bij onderzoeksvraag 3 zullen we de dieren bij laten komen uit de narcose als we geen negatieve effecten zien van de interventie op het ontwikkelen van orgaan falen.

Een voorbeeld is dat wij hebben laten zien dat stimulatie van het angiotensinogen/Tie2 systeem door toediening van een medicijn met vergelijkbare werking als angiotensinogen-1 het lekken van de haarvaten vermindert en de doorbloeding van de haarvaten herstelt in ernstig zieke dieren. De positieve resultaten van deze angiotensinogen-1 analoog op de doorbloeding van een haarvaten is een Go voor verder onderzoek. Tegelijkertijd willen wij uitzoeken of deze angiotensinogen-1 analoog daadwerkelijk via het angiotensinogen/Tie2 systeem werkt door Tie2 te remmen. Het remmen van Tie2 heeft een negatief effect en wordt niet gezien als interventie voor een Go /No go beslissing omdat dit geen interventie is met als doel dat het een nieuw medicijn is in deze context.

Aangezien verschillende moleculaire systemen bestudeerd worden is het mogelijk dat de onderzoeksvragen 1 t/m 3 gedeeltelijk zullen overlappen (bv. wij hebben al aangetoond dat het angiotensinogen/Tie2 systeem betrokken is bij een slechtere doorbloeding van de haarvaten en kunnen al met stap 2 doorgaan, terwijl andere moleculaire systemen nog in stap 1 bestudeerd moeten worden). Logischerwijs worden per moleculair systeem en per interventie dezelfde Go / No go criteria aangehouden.



Figuur 6: Schematische weergave van de Go/No go momenten in de 3 onderzoeksvragen.

A: angiopoetine/Tie2/Tie1 systeem, B: Proteïne C/thrombine systeem, C: Sphingosine systeem

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Ernstig bloedverlies
2	10.1 c en 10.2 g
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Format DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:

Het NVWA nummer is 10.2.e.eng 0172144

2. Titel van het project:

Het verbeteren van de doorbloeding van de organen door het verminderen van het lekken van de haarvaten

3. Titel van de NTS:

Herstel van lekkende haarvaten om de doorbloeding van organen te verbeteren en orgaanschade te voorkomen

4. Type aanvraag:

Wijziging van vergunning met nummer 10.2.e.eng 20172144. Het betreft hier een wijziging, zie de donkerrode aanpassingen in dit DEC-advies.

5. Contactgegevens DEC:

- naam DEC: 10.2.e.eng
- telefoonnummer contactpersoon: 10.2.e.eng
- e-mailadres contactpersoon: 10.2.e.eng

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

- ontvangen door DEC: 07-07-2020
- aanvraag compleet: 07-07-2020
- in vergadering besproken: 14-07-2020
- anderszins behandeld: n.v.t
- termijnonderbreking(en) van / tot: 20-07-2020 tot 04-08-2020
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: n.v.t.
- aanpassing aanvraag: 04-08-2020
- advies aan CCD: 02-09-2020

7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.

-Datum advies IvD: 07-07-2020

-Strekking advies IvD: De IvD geeft aan dat de aanvrager de wijziging van het project met de IvD heeft afgestemd en dat deze de instemming heeft van de IvD.

8. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.

9. Correspondentie met de aanvrager bij wijziging

Vraagronde 1

- Datum: 20-07-2020

- Strekking gestelde vragen: 1. De DEC ziet graag meer onderbouwing bij de noodzaak van de extra groep in het wijzigingsformulier. Daarnaast mist de context, waarom wil je nu ook deze groep testen? Wat is de link met de andere groepen? Ook in de achtergrond van het projectvoorstel moet hiervoor een extra onderbouwing komen. 2. Bij onderzoeksvraag 1 en 2 staat 30% uitval en bij onderzoeksvraag

3 is dit opeens 40%, waar ligt dit aan? Wat is de oorzaak van de uitval? Waarom is deze uitval onvermijdelijk? Waarom is er geen verfijning mogelijk? Graag ziet de DEC hier een onderbouwing voor het hoge uitvalspercentage.

- Datum antwoord: 04-08-2020

- Strekking van de antwoord(en): 1. In ons onderzoek bestuderen wij de oorzaken en gevolgen van een verstoorde microcirculatie in critically ill patients oftewel ernstig zieke patiënten. Dit zijn patiënten in een levensbedreigende situatie waarvan de oorzaken erg uiteen kunnen lopen. U kunt denken aan patiënten met ernstig trauma na bijvoorbeeld een verkeersongeval, patiënten met ernstig bloedverlies (hemorragische shock) tijdens een operatie of na een verkeersongeval, een bacteriële infectie (sepsis), een virale infectie (bv. COVID19), patiënten met hart- of long falen, etc. Deze patiënten hebben als gedeelde noemer dat er een systemische inflammatoire response is ontstaan welke het endotheel (een onderdeel van de microcirculatie) activeert. In samenwerking met andere onderzoeksgroepen proberen wij deze respons in alle subgroepen te bestuderen en verschillen en overeenkomsten in kaart te brengen. De nieuwe subgroep welke ik aan het project heb toegevoegd betreffen ernstig zieke patiënten met hartfalen. 10.1 c en 10.2 g

De afgelopen jaren hebben wij de techniek geoptimaliseerd en het uitvalspercentage weten te reduceren van 50 naar 30% door het verbeteren van de benodigdheden (bv. door humane canules na te maken in miniformaat) en veel ervaring op te doen. Bij onderzoeksvraag 3 laten wij de dieren bijkomen uit de anesthesie. Met een uitvalspercentage van 30% door mogelijke problemen bij het uitvoeren van de 10.1 c en 10.2 g en 10% voor het bijkomen uit de anesthesie is een totale uitvalspercentage van 40% geschat. Deze extra 10% is beredeneerd op basis van het feit dat de dieren een hartinfarct hebben gehad en 10.1 c en 10.2 g.

- De antwoorden hebben wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag: Ja, de antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

10. 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 wijziging op een bestaande vergunning.
3. De DEC is competent om over deze projectvergunningaanvraag te adviseren. De benodigde expertise op dit wetenschappelijk terrein is aanwezig binnen de DEC.
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom: één van de DEC leden is betrokken bij dit project en zal daarom niet deelnemen aan de behandeling en het opstellen van het advies.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld).

Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is ook duidelijk welk ongerief individuele dieren zullen ondergaan. De aanvrager heeft duidelijk de go/no go momenten beschreven. De DEC is er daardoor van overtuigd dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

De wijziging betreft een extra bijlage - nieuwe type dierproef – in appendix 3, waarin dierstudies beschreven worden die een andere patiëntengroep (10.1 c en 10.2 g) nabootsen met dezelfde doelstelling zoals in de originele aanvraag: AVD 10.2 .e. en g 20172144. 10.2 .e. en g, 10.1 c en 10.2 g

. De oorspronkelijke aanvraag wordt hierdoor uitgebreid met 884 extra ratten. In de NTS en het projectvoorstel zijn de tekstuele veranderingen m.b.t. de wijziging weergegeven in rode tekst. De DEC is van mening dat deze wijziging een adequate toevoeging is op het huidige project. Het doel blijft hetzelfde, het bestuderen hoe een slechte doorbloeding van de haarvaten kan leiden tot het falen van verschillende organen in ernstig zieke patiënten om vervolgens de behandeling te kunnen optimaliseren. Met als toevoeging het onderzoek naar de oorzaken en gevolgen van 10.2 .e. en g

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming).: n.v.t.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën fundamenteel en translationeel onderzoek zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling. De doelstelling is helder omschreven.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.

Een slechte doorbloeding van de haarvaten is kenmerkend bij ernstig zieke patiënten. Dit zijn bijvoorbeeld patiënten die veel bloed hebben verloren of een grote operatie ondergaan, 10.1 c en 10.2 g

Een slechte doorbloeding van de haarvaten in deze patiënten kan leiden tot schade aan de nieren en/of de longen. De hypothese is dat de doorbloeding verslechtert doordat de haarvaten gaan lekken. Gezonde bloedvaten hebben een speciale "binnenbekleding" die de vaten waterdicht houden. Beschadigde haarvaten kunnen gaan lekken doordat de binnenbekleding van de vaatjes te poreus wordt door bv. ernstig bloedverlies 10.1 c en 10.2 g. Er bestaat momenteel geen effectieve behandeling gericht op het voorkomen of herstellen van de schade aan de haarvaten.

Het directe doel van deze studie is het ontrafelen van de moleculaire systemen die betrokken zijn bij het lekken van de haarvaten. Wanneer er in kaart is gebracht welke eiwitten belangrijk zijn kan men de activiteit van deze eiwitten stimuleren of remmen om te onderzoeken of hiermee de doorbloeding herstelt, wat het effect is op langere termijn en of het orgaan falen vermindert. Het uiteindelijke doel van de studie is om nieuwe medicijnen te ontwikkelen die ervoor zorgen dat de haarvaten minder lekken en die de doorbloeding van de haarvaten verbetert om zo de kans op orgaan falen te verminderen. Er is een reële relatie tussen deze beide doelstellingen. Het directe doel is nodig om het uiteindelijke doel in de toekomst te bereiken.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld)

De belangrijkste belanghebbenden in dit project zijn: de proefdieren, de onderzoekers en de (ernstig zieke) patiënten. De waarden die voor proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de dieren zal worden aangetast omdat de dieren ingrepen ondergaan en omdat de dieren worden gedood. De waarde van deze proef voor onderzoekers is: Het vergroten van de wetenschappelijke kennis. Waarden die voor patiënten bevorderd worden: De fundamentele kennis zal bijdragen aan het ontwikkelen van nieuwe medicijnen om het lekken van haarvaten, door ernstig bloedverlies ^{10.1 c en 10.2 g} bij ernstig zieke patiënten, te verminderen.

De nieuwe subgroep welke aan het project is toegevoegd betreft ernstig zieke patiënten met hartfalen. ^{10.1 c en 10.2 g}

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken?: n.v.t

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe.

Naar de overtuiging van de DEC beschikt de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. Alle technische voorzieningen die benodigd zijn voor uitvoering van het project zijn voorhanden, evenals voldoende deskundigheid en financiering om het project succesvol uit te voeren. Ervaring binnen het onderzoeksinstituut met vergelijkbaar onderzoek waarborgt het technisch succesvol uitvoeren van de dierexperimenten. Bovendien wordt er nauw samengewerkt met de academische wereld en andere instituten actief binnen dit onderzoeksveld.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe.

De aanvraag heeft een navolgbare opbouw en is naar de mening van de DEC goed opgezet. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder, en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen. De DEC acht het reëel om te veronderstellen dat op basis van de resultaten van de voorgenomen reeks experimenten beschreven in het project, nieuwe en/of aanvullende kennis zal worden verkregen. De nieuw verkregen inzichten kunnen bijdragen aan het

beschikbaar komen van medicijnen om het lekken van haarvaten en de kans op orgaan falen te verminderen. De gevraagde looptijd van 5 jaar acht de DEC reëel gezien de opbouw en de financiële ondersteuning.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren: *n.v.t.*

Alle dieren worden gefokt voor het gebruik in dierproeven, er is geen sprake van hergebruik. Er is geen sprake van bedreigde diersoorten, niet-menselijke primaten, zwerfdieren en/of dieren in/uit het wild. De locatie is binnen de instelling van de vergunninghouder. De dieren krijgen adequate verdoving en pijnbestrijding.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU.

De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn.

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe.

Het ongerief als gevolg van de dierproeven is naar de mening van de DEC door de aanvragers realistisch ingeschat en geclassificeerd.

Bij onderzoeksvragen 1, 2 en 3A in appendix 1 en 2 vinden acute experimenten plaats onder adequate narcose en pijnstilling, het ongerief is hierbij terminaal. Onderzoeksvraag 1 als 2 van appendix 3 worden ook onder algehele anesthesie en analgesie uitgevoerd (terminaal). Bij de lange termijn experimenten vinden de handelingen plaats onder narcose, maar zullen we dieren bijkomen uit de narcose, hetgeen met matig ongerief gepaard gaat (bij onderzoeksvraag 3B in appendix 1 en 2 en bij onderzoeksvraag 3 in appendix 3). Dit is noodzakelijk om de effecten van de medicatie op het ontwikkelen van orgaan falen te bestuderen. Deze dieren kunnen dus ook orgaan falen ontwikkelen, dit geldt voor een klein deel van zowel de muizen als de ratten. Het cumulatieve ongerief is voor 95-98% van de dieren terminaal en voor 1-4% van de dieren matig. Voordat de dieren meer dan matig ongerief zullen ondervinden worden de humane eindpunten toegepast.

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit.

De integriteit van de dieren zal worden aangetast omdat de dieren onder anesthesie gaan en omdat de dieren worden gedood. Daarnaast zal bij een klein deel van de dieren bijkomen uit de narcose, waarbij er kans is op orgaan falen.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe.

De criteria voor humane eindpunten zijn goed gedefinieerd. De humane eindpunten zullen worden toegepast, wanneer er duidelijke veranderingen zijn in het gewicht en het gedrag van de dieren of wanneer de dieren niet herstellen na de operatie.

Alleen bij onderzoeksvraag 3B in appendix 1 en 2 en bij onderzoeksvraag 3 in appendix 3 zijn er

humane eindpunten van toepassing, omdat de dieren dan bijkomen uit de narcose. Ondanks dat de dieren behandeld worden volgens de standaard klinische procedure en adequate pijnstilling krijgen, is het mogelijk dat de dieren last krijgen van orgaan falen. Indien dit optreedt zullen deze dieren gedood worden.

De overige criteria voor een humaan eindpunt zijn: gewichtsverlies van $\geq 15\%$, verminderde activiteit, gebogen rug en een onverzorgde vacht. De kans hierop is $< 5\%$ bij de muizen en 10% bij de ratten. De humane eindpunten zijn niet van toepassing bij de terminale experimenten.

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe

Het project is in overeenstemming met de vereisten ten aanzien van de vervanging van dierproeven. Het gebruik van proefdiervrije methoden of minder complexe diersoorten is volgens de DEC niet mogelijk.

Het bestuderen van de haarvaten in ernstig zieke patiënten is zeer lastig vanwege de complexe interactie van diverse systemen in het lichaam, zoals de bloedstroom, de binnenbekleding van de haarvaten en het ontstaan van schade in de organen. Deze complexe interactie maakt vervanging van de dierproeven door celkweek onmogelijk, omdat er (nog) geen celkweek modellen zijn die deze complexe interactie nabootsen. Daarnaast is de toediening van de meeste interventies in patiënten nog zeer experimenteel, en zijn meer dierstudies nodig om de effecten (op de doorbloeding) van deze middelen te kunnen bestuderen.

De keuze voor het gebruik van muizen en ratten is naar het oordeel van de DEC gerechtvaardigd.

10.1 c en 10.2 g

. Voor het ernstig bloedverlies model gebruikt men de muis, omdat deze makkelijker genetisch te modificeren is dan de rat. De onderzoekers hebben met beide modellen veel ervaring.

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe.

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

Door gebruik te maken van het gefaseerd uitvoeren van de experimenten en een poweranalyse wordt voorkomen dat er teveel of te weinig dieren worden gebruikt. Bovendien is de proefopzet erop gericht om zoveel mogelijk analyses te doen in een dier (verschillende technieken en tijdstippen).

Het maximale aantal proefdieren is proportioneel ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De DEC onderschrijft dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 1878 muizen en $(2374 + 884) = 3258$ ratten en acht dit aantal realistisch onderbouwd. Onnodige duplicatie van experimenten wordt voorkomen doordat de onderzoekers goed bekend zijn met het onderzoeksveld en samenwerken met de andere onderzoeksgroepen die vergelijkbaar onderzoek verrichten.

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd.

Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven met zo min mogelijk ongerief worden uitgevoerd. Passende anesthesie en pijnbestrijding zal de gevolgen van de ingrepen minimaliseren. Alle procedures zullen uitgevoerd worden door ervaren en bekwaam personeel.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe: *n.v.t.*

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd.

Alleen mannelijke dieren zullen worden gebruikt. Er is gekozen voor het gebruik van mannelijke muizen en ratten, omdat het meten van de doorbloeding in de haarvaten wordt gedaan met behulp van in vivo microscopie van de cremaster (spierlaag om de bal). De locatie van de meting maakt het onmogelijk om deze meting in vrouwelijke dieren uit te voeren.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd.

Na het doden van de dieren zal men de organen en het bloed gebruiken voor moleculaire analyses. Er wordt een dodingsmethode uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU gebruikt.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is: *n.v.t.*

NTS

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

De niet-technische samenvatting (NTS) is aangepast naar aanleiding van de wijziging. De NTS 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

1. Benoem de centrale morele vraag

Rechtvaardigen de doeleinden van dit project het voorgestelde gebruik van de dieren?

Bij deze dierproef is de centrale morele vraag: Rechtvaardigt het verkrijgen van kennis over de moleculaire systemen die betrokken zijn bij het lekken van de haarvaten en het ontwikkelen van nieuwe medicijnen tegen het lekken het gebruik van maximaal 1878 muizen en 3258 ratten, die daarvan terminaal tot matig ongerief ondervinden?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af.

De waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de proefdieren wordt aangetast en de dieren ondervinden terminaal tot maximaal matig ongerief. Dat leidt tot veel nadeel voor deze proefdieren. De waarden voor de onderzoekers: voordeel vanwege de kennisontwikkeling. De waarden die voor de patiënten bevorderd worden: mogelijk veel voordeel wanneer de dierproef bijdraagt aan het ter beschikking komen van een nieuwe medicijnen om het lekken van haarvaten en zo orgaan falen te verminderen.

De DEC is van mening dat de kennisontwikkeling en lange termijn belangen van de patiënten in dit project zwaarder wegen dan de belangen van de 1878 muizen en 3258 ratten, die hiervoor als proefdieren gebruikt worden. Voor het verkrijgen van kennis over de moleculaire systemen die betrokken zijn bij het lekken van de haarvaten, is onderzoek in diermodellen noodzakelijk. Er zijn op dit moment geen alternatieven voor deze dierproeven beschikbaar waarmee men de doelstellingen kan bereiken.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden.

Volgens de DEC rechtvaardigen de doeleinden van dit project en de wijziging het voorgestelde gebruik van dieren. Het directe doel van deze studie is het verkrijgen van kennis over moleculaire systemen die betrokken zijn bij het lekken van de haarvaten. Het verwachte resultaat, in het kader van het beschikbaar komen van een nieuwe medicijnen is afgewogen tegen het, terminaal tot matig geschatte ongerief en de aantasting van integriteit, inclusief 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 1878 muizen en 3258 ratten, en de daarmee samenhangende schade aan deze dieren gerechtvaardigd. Bij het uitvoeren van de dierproeven wordt een adequate invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en verfijning van de dierproeven. Het project is (1) van substantieel belang en (2) van goede kwaliteit.

(1) Er is sprake van een substantieel maatschappelijk belang en een reëel wetenschappelijk belang. De resultaten van dit onderzoek zullen informatie geven over het lekken van de haarvaten en zullen mogelijk bijdragen aan het beschikbaar komen van een effectievere behandeling hiervan.

(2) De DEC is van mening dat dit project verantwoord is vanuit wetenschappelijk oogpunt en acht het waarschijnlijk dat op basis van de resultaten van de voorgenomen reeks experimenten beschreven in het project, nieuwe en/of aanvullende kennis zal worden verkregen. De onderzoekers

beschikken over ruime ervaring en kennis op het gebied van de te gebruiken methoden en werken nauw samen met andere onderzoeksgroepen. Dit in combinatie met de beschikbare faciliteiten en infrastructuur betekent dat de onderzoekers goed gekwalificeerd en geoutilleerd zijn voor het uitvoeren van het in dit project beschreven onderzoek.

Samenvattend kan worden gesteld dat het als substantieel te kwalificeren maatschappelijk belang en het reële wetenschappelijk belang van het onderzoek naar het oordeel van de DEC opweegt tegen het gebruik van maximaal 1878 muizen en 3258 ratten en het daarbij verwachte terminale tot maximaal matige ongerief.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de wijziging van de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC.

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B).

Er is geen dilemma geconstateerd.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2 .e. en g

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD [redacted] 0172144-1
Bijlagen
3

Datum 21 september 2020
Betreft Beslissing Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte [redacted]

Op 14 juli 2020 hebben wij uw aanvraag voor een wijziging op een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het verbeteren van de doorbloeding van de organen door het verminderen van het lekken van de haarvaten" met aanvraagnummer AVD [redacted] 0172144-1. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw wijzigingsaanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het vanaf de datum van deze brief is toegestaan om de aangevraagde projectwijziging uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. De vergunning wordt afgegeven van 1 september 2017 tot en met 31 augustus 2022.

Aan de vergunning hebben wij de volgende voorwaarde verbonden op grond van artikel 10a1, tweede lid van de wet.

Voorwaarden

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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in

een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Datum:
21 september 2020
Aanvraagnummer:
AVD1-20172144-1

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC [REDACTED] (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 3 september 2020. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 8 september 2020 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op het verhelderen van de aantallen toe te voegen dieren in de Niet Technische Samenvatting. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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 93118, 2509 AC Den Haag.

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

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 vergunninghouder valt.

Datum:

21 september 2020

Aanvraagnummer:

AVD [REDACTED] 20172144-1

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

drs. F. Braunstahl
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

10.2 .e. en g

deze wijziging in de projectvergunning voor het tijdvak 1 september 2017 tot en met 31 augustus 2022, voor het project "Het verbeteren van de doorbloeding van de organen door het verminderen van het lekken van de haarvaten" met aanvraagnummer AVD^{10.2 .e. en g} 0172144-1, na advies van dierexperimentencommissie DEC ^{10.2 .e. en g}

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Project leider / Assistent Professor.

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 14 juli 2020
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 3 september 2020;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 11 september 2020;
 - c Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 3 september 2020
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 11 september 2020.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.4.1 Ernstig bloedverlies			
	Muizen (Mus musculus)	1.878	96,0% Terminaal 4,0% Matig
3.4.4.2 10.1 c en 10.2 g			
	Ratten (Rattus norvegicus)	2.374	98,5% Terminaal 1,5% Matig
3.4.4.3 10.1 c en 10.2 g			
	Ratten (Rattus norvegicus) / Wistar	884	97,0% Terminaal 3,0% Matig

Voorwaarden

Voorwaarden

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor

Aanvraagnummer:

AVD 0172144-1

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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.

Geldende voorschriften

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, tweede lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden 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.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:

AVD1 20172144-1

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, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet 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, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

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

Verzorging

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

In artikel 9 van de wet 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