

Inventaris Wob-verzoek W16-01									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2015242								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Niet-technische samenvatting	x							
3	Projectvoorstel				x		x	x	
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x		x	x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x		x	x	
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3				x		x	x	
7	Bijlage beschrijving dierproeven 4				x		x	x	
8	DEC-advies				x		x	x	
9	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
10	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
11	Reactie aanvulling aanvraag				x		x	x	
12	Advies CCD		x						x
13	Beschikking en vergunning				x		x	x	

15 SEP. 2015



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	10300
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	4 1 0 5 5 6 2 9
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Geert Grooteplein-zuid 10
		Postbus	9101
		Postcode en plaats	6500HB Nijmegen
		IBAN	NL90ABNA0231209983
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	UMC St. Radboud
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[REDACTED]
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|---------------------|
| Startdatum | 1 0 _ 1 0 _ 2 0 1 5 |
| Einddatum | 1 0 _ 1 0 _ 2 0 2 0 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Tape ter preventie darmnaadlekkage
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Het gebruik van een tape om operatieve verbindingen tussen darmen af te dichten.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--------------------------------------|
| Naam DEC | DEC Radboud Universiteit (RUDEC) |
| Postadres | Geert Groteplein 10 6525 GA Nijmegen |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

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

5 Checklist bijlagen

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

6 Ondertekening

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

Naam [REDACTED]

Functie [REDACTED]

Plaats Nijmegen

Datum 10 - 09 - 2015

Handtekening [REDACTED]



Form Project proposal

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

1 General information

- | | | |
|-----|--|--|
| 1.1 | Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. | 10300 |
| 1.2 | Provide the name of the licenced establishment. | Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen |
| 1.3 | Provide the title of the project. | Tape ter preventie darmnaadlekkage |

2 Categories

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

Forensic enquiries

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

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Wereldwijd wordt jaarlijks bij meer dan een miljoen patiënten een chirurgische verbinding tussen twee darmdelen aangelegd, een zogenoemde darmnaad (of anastomose). Dit gebeurt onder andere bij operaties in verband met darmkanker, darmziekten (bv. ziekte van Crohn) en morbide obesitas. De meest gevreesde en meest voorkomende complicatie na dergelijke ingrepen is een lekkage van de darmnaad. Zogenoemde naadlekkage komt met een incidentie tussen de 4-15% het vaakst voor bij naden in de dikke darm ([Kang, Halabi et al. 2013](#)). Bij een naadlekkage lekt er darminhoud de buikholte in, wat resulteert in abcessen, buikvliesontsteking of zelfs overlijden ([Frasson, Flor-Lorente et al. 2014](#); [Hammond, Lim et al. 2014](#)). Ook gaat het gepaard met een verminderde kwaliteit van leven en een verhoogde kans op recidieven van darmtumoren ([Branagan and Finnis 2005](#)). Vaak zijn er ingrijpende maatregelen nodig om de lekkage te behandelen. Deze bestaan bijvoorbeeld uit abcespuncties, heroperaties, aanleggen van een stoma en opname op een Intensive Care afdeling. De ernstige gevolgen en hoge incidentie van naadlekkage vragen om onderzoek gericht op het verminderen van deze chirurgische complicatie.

Als strategie om het optreden van naadlekkage te voorkomen wordt er onder andere gedacht aan het gebruik van *sealants*, zoals fibrinelijm en cyanoacrylaatlijm, om de darmnaad af te dichten ([van der Ham, Kort et al. 1992](#); [Stumpf, Junge et al. 2009](#); [Pommergaard, Achiam et al. 2012](#)). Tot nu toe zijn deze *sealants* echter onvoldoende effectief gebleken in het voorkomen van lekkage, en worden derhalve niet toegepast in de kliniek ([Pommergaard, Achiam et al. 2012](#)). Bovendien worden er ook complicaties gezien bij het experimenteel gebruik van lijmen. Hierbij gaat het vooral om het veroorzaken van darmvernauwingen en obstructie, en het ontstaan van abcessen. Een verklaring voor het ontstaan van vernauwingen is dat het littekenweefsel door de lijm contraheert of dusdanig stijf wordt dat de darm onvoldoende uit kan zetten. Ook kan het hard worden van de lijm zelf hierbij een rol spelen. Als lijm hard wordt zou deze bij eventuele uitzetting van de darm bovendien kunnen breken en daardoor niet meer functioneren als afdichting van de naad. Tenslotte kan lijm ook makkelijk tussen de twee darmdelen gaan zitten, waardoor het een barrière vormt die het natuurlijk genezingsproces hindert.

Een alternatieve methode om een darmnaad af te dichten en daarmee mogelijk lekkage te voorkomen, is het gebruik van een flexibele tape. Een voordeel van een dergelijke tape is dat er de door flexibele/elastische eigenschappen mogelijk een kleinere kans op obstructie bestaat. Daarnaast gaat tape, in tegenstelling tot lijm, niet tussen de wondranden van beide darmdelen zitten. Een ander bijkomend voordeel van tape is dat het ook een deel van de naastgelegen darm omvat. Omdat daarmee de mechanische krachten op de anastomose verdeeld worden over het hechtmateriaal

en de tape, ontstaan er mogelijk minder snel defecten van de naad. Mocht er wel een defect ontstaan, dan zou de tape er vervolgens weer voor kunnen zorgen dat dit niet leidt tot fecale verontreiniging van de buikholte of tot een volledige dehiscentie van de naad. Er is één rattenstudie waarin het gebruik van een tape bij darmnaden onderzocht is (Ayhan, Clin Invest Med 2012). Uit deze studie werd geconcludeerd dat de tape (TissueMed TissuePatch) meer effectief is in het voorkomen van lekkage dan fibrinelijm. Deze tape is inmiddels op de markt als algemeen product zonder specifieke toepassing, maar wordt niet getest of gebruikt voor darmnaden bij mensen. Er is momenteel te weinig vertrouwen in deze toepassing omdat er behoudens de rattenstudie geen ander bewijs is dat de tape effectief is. Uit eigen onderzoek met deze specifieke tape blijkt bovendien dat de tape niet uitrekbaar is en daardoor in theorie een verhoogd risico op darmobstructies zou opleveren. Inmiddels hebben we in samenwerking met een commercieel bedrijf een nieuwe tape ontwikkeld met veelbelovende fysieke eigenschappen, welke in de rest van deze projectaanvraag aangeduid zal worden als [REDACTED] [REDACTED] is gebaseerd op een geactiveerd polymeer van [REDACTED] met plakkende NHS-groepen, welke onder natte omstandigheden kan kleven aan meerdere soorten weefsels. Uit *ex vivo* studies met varkensdarm uitgevoerd in ons eigen lab, blijkt de waterdichte tape een goede hechting aan darmwanden te hebben en de sterkte van een *ex vivo* darmanastomose te kunnen vergroten. Op dit moment zijn er nog meerdere prototypes van [REDACTED] met verschillende chemische samenstelling en eigenschappen. Met *ex vivo* testen op darmweefsel worden deze prototypes o.a. getest op plakkracht, sterkte en elasticiteit om het beste prototype te selecteren. Ook worden met behulp van *ex vivo* modellen de optimale afmetingen van de tape bepaald voor het gebruik rondom darmnaden. De volgende stap is onderzoeken of de tape ook in vivo functioneert en in staat is om complicaties te voorkomen. Samenvattend is het doel van dit project om te onderzoeken [REDACTED], een nieuw ontwikkelde tape voor medisch gebruik, veilig kan worden toegepast rondom darmnaden en daarmee in staat is naden te versterken en naadlekkage te voorkomen. Een eerste proof of principle en bestudering van effectiviteit en veiligheid zal worden gedaan in een rattenmodel; het bepalen van het risico op darmaanspecifieke complicaties en het bepalen van effectiviteit met het oog op translatie naar de mens zal worden gedaan in varkens.

3.2 Purpose

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

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

Het doel van dit project is om een nieuwe tape ([REDACTED]) te onderzoeken op effectiviteit (versteving van darmnaden en preventie van naadlekkage) en veiligheid (vreemd lichaamsreactie en infectie potentiering).

Hoofdvraag:

1. Kan [REDACTED] de frequentie of ernst van naadlekkage verminderen?

Deelvragen:

- 1. Welke weefselreacties veroorzaakt [REDACTED]**
- 2. Kan [REDACTED] veilig worden gebruikt rondom darmnaden en kan het normale naden versterken?**
- 3. Hoe (snel) verloopt het afbraakproces en wat is het risico op langetermijncomplicaties?**
- 4. Wat zijn de gevolgen van het gebruik van [REDACTED] in een gecontamineerde buikholte?**

Haalbaarheid

Binnen onze afdeling is veel ervaring met darmnaadgenezing in dierexperimenten. Het onderzoek naar de genezing van darmnaden is de laatste jaren een van de belangrijkste onderzoeksgebieden geweest van de afdeling [REDACTED] en heeft geleid tot vele publicaties en 10 proefschriften. Er is met name veel ervaring opgedaan met rattenmodellen, maar ook met biomechanische analyses van varkensdarmnaden. Binnen [REDACTED] is bovendien veel ervaring met operaties in varkensmodellen. De darmoperaties zullen worden uitgevoerd door ervaren chirurgen. Daarom achten we de kans op het technisch slagen van de experimenten in dit project groot.

3.3 Relevance

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

Het wetenschappelijke belang van het huidige project omvat het vergroten van de kennis van een nieuw ontwikkeld product en verkennen van de toepassingen ervan. Dit kan leiden tot vele inzichten in het gebruik van dit op [REDACTED] gebaseerd materiaal, met name in de medische wereld. Het meest vooraanstaande belang is het verbeteren van de klinische uitkomst bij darmoperaties, door de kans op lekkage en de daarmee gepaard gaande morbiditeit en mortaliteit te verkleinen. Zowel een verbetering in de zorg van de patiënt en een kostenbesparing door het terugdringen van het aantal complicaties na darmoperaties dienen een maatschappelijk belang.

3.4 Research Strategy

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

1. Proof of principle en basisveiligheid- rat

Allereerst zal in een ratmodel, als *proof of principle*, worden onderzocht of [REDACTED] in de buikholte adequate plakkracht behoudt. Verschillende factoren, zoals langs elkaar bewegende darmen of verklevingen van het omentum (vetschort), zouden de werking van [REDACTED] kunnen verhinderen en verschuiving van de tape kunnen veroorzaken. Daarnaast moet worden onderzocht wat voor weefselreacties er ontstaan. Bij het inbrengen van lichaamsvreemd materiaal kunnen er nadelige afweerreacties optreden. Om de vooraf kans hierop te beperken is [REDACTED] opgebouwd uit verschillende bestanddelen die afzonderlijk ook in andere medische producten worden gebruikt. Het is echter nog onbekend wat het effect is van de combinatie van deze bestanddelen en met name van de plakkende laag.

2. Effectiviteit – rat

Na het onderzoeken van het *proof of principle* en vreemd lichaamsreacties, zullen we een rattenmodel gebruiken om de effectiviteit van [REDACTED] ter versteviging van darmnaden **en de preventie van naadlekkage** te bestuderen. Omdat we veel ervaring hebben met een model voor darmnaadgenezing en naadlekkage in de rat, gebruiken we ook dit model om een inschatting te maken van de effectiviteit van [REDACTED]. **Om de effecten van de tape op de darmnaad te onderzoeken, zal de tape eerste worden onderzocht in een model voor normale darmnaadgenezing, omdat er bij lekkage modellen sprake is van andere versturende factoren, zoals bacteriële contaminatie en heftige ontstekingsreactie. Ook gebruiken we het model voor normale darmnaadgenezing om de verstevigende werking van de tape te bepalen. Om naadlekkage te voorkomen, is het nodig om het ontstaan van zwaktes in de naad te tegen te gaan. Dit hangt nauw samen met een versterking van de naad door afdichting van kleine defecten en ondersteuning van de hechtingen, en kan worden**

onderzocht met barstdruk en treksterkte. Vervolgens zal in een model voor gestoorde naadgenezing worden onderzocht wat de effecten zijn op de incidentie en ernst van naadlekkage.

3. Veiligheid – rat

Vervolgens zullen we in ratten uitgebreider de veiligheid van █████ bestuderen, waarbij we met name kijken afbraaksnelheid en naar vreemd lichaamreacties op langere termijn. Omdat naadlekkage vooral in de eerste twee weken na de operatie voorkomt, is het wenselijk dat de tape niet te snel afbreekt. Echter, omdat langdurige aanwezigheid van lichaamsvreemd materiaal ook nadelig kan zijn (bv. door het veroorzaken van een chronische vreemd lichaamreactie, of erosie door darm), is het beter als de tape uiteindelijk wel wordt afgebroken. █████ is daarom gemaakt van afbreekbare materialen. Door enkele *in vitro* testen verwachten we dat de degradatietermijn van █████ tussen de 1 en 4 maanden ligt, maar er zijn *in vivo* proeven nodig om te bepalen wat de afbraaksnelheid daadwerkelijk is.

Bij het bestuderen van de veiligheid willen we ook kijken wat het is van gebruik van █████ in een gecontamineerde omgeving. Bij darmchirurgie kan er sprake zijn van (ernstige) bacteriële contaminatie van de buikholte. Het is bekend dat de aanwezigheid van lichaamsvreemd materiaal de afweerreactie van het lichaam kan verhinderen, onder andere doordat afweercellen het materiaal niet goed kunnen penetreren. Daarom zullen we in een peritonitismodel onderzoeken wat de gevolgen zijn van gebruik van █████ in infectieuze situaties.

4. Veiligheid en Effectiviteit - varken

Voor het bepalen van de translatie naar de mens zullen we een varkensmodel gebruiken. Een belangrijke complicatie die in theorie zou kunnen optreden is een obstruerende vernauwing van de darm. Omdat de diameter van de darm hierbij zeer relevant is en we een reële inschatting willen maken van het risico bij gebruik in mensen, maken we hiervoor gebruik van een varkensmodel met een normale darmnaad. Daarnaast zullen we voor het bepalen van de effectiviteit van █████ ter preventie van lekkage van grotere darmnaden ook in varkens een model gebruiken waarbij lekkage geïnduceerd wordt door het compromitteren van de naadgenezing.

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

1. Proof of principle en basisveiligheid- rat

Met een model voor darmnaadgenezing in de rat zullen we in dit onderdeel van het project:

- bepalen of █████ zijn plakkracht en positie behoudt bij *in vivo* gebruik rond darmnaden.
- bepalen hoe het lichaam, en met name de buikorganen en de darm, reageren op de tape. Hierbij zullen we o.a. kijken naar het optreden van ontstekingsreacties, abcesvorming, verklevingen.

2. Effectiviteit - rat

Met een model voor darmnaadgenezing en naadlekkage in de rat zullen we in dit onderdeel van het project onderzoeken of darmnaden kunnen worden versterkt door █████, en of naadlekkage kan worden voorkomen.

3. Veiligheid - rat

In dit onderdeel zal de veiligheid van het gebruik van █████ verder worden onderzocht. Hiervoor zal er bij de dieren een laparotomie verricht worden waarbij █████ op meerdere plaatsen in de buikholte wordt aangebracht. Er zal worden gekeken naar de afbraaksnelheid en het optreden van vreemd

lichaamreacties op de langere termijn. Ook zal worden onderzocht wat er gebeurt bij het gebruik van █████ als er sprake is van bacteriële contaminatie. Er zal zowel worden gekeken naar het verloop van infecties, als naar het functioneren van de tape.

4. Veiligheid en Effectiviteit – varken

Met het oog op de toepassing bij mensen zal de effectiviteit en veiligheid van █████ in dit onderdeel worden onderzocht in varkens. Eerst zal met een model voor normale naadgenezing het optreden van complicaties op de korte termijn worden onderzocht. Vervolgens zal met een varkensmodel voor gestoorde naadgenezing worden onderzocht of de tape in staat is naadlekkage te voorkomen of de ernst ervan te verminderen. Tenslotte zal worden onderzocht wat de lange termijn (6 maanden) effecten zijn van het gebruik van █████ rondom darmnaden, waarbij met name wordt gekeken naar de kans op vernauwingen.

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

Als uit de experimenten in onderdeel 1 blijkt dat de plakkracht van de tape op de darm adequaat is en er geen grote complicaties (zoals forse ontstekingsreacties of abcesvorming) optreden, dan zullen we verder gaan met onderdeel 2.

Als uit onderdeel 2 blijkt dat █████ de potentie heeft om darmnaden te versterken, zullen we verder gaan met onderdeel 3 en 4. De lange termijn experimenten in onderdeel 4 zullen pas worden gestart nadat de lange termijn effecten in onderdeel 3 zijn onderzocht, en ook de korte termijn experimenten in onderdeel 4 zijn afgerond.

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

Serial number	Type of animal procedure
1	3.4.4.1 Proof of principle - rat
2	3.4.4.2 Effectiviteit - rat
3	3.4.4.3 Veiligheid - rat
4	3.4.4.4 Veiligheid en effectiviteit - varken

Appendix**Description animal procedures**

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 1	Type of animal procedure 3.4.4.1 Proof of principle - rat

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

De doelen van dit onderdeel zijn:

1. bepalen of [redacted] zijn plakkracht en positie behoudt bij *in vivo* gebruik rond darmnaden (proof of principle)
2. bepalen hoe het lichaam, en met name de buikorganen en de darm, reageren op de tape. Hierbij zullen we o.a. kijken naar het optreden van ontstekingsreacties, abcesvorming, verklevingen (basisveiligheid)

We zullen hiervoor gebruik maken van een model voor darmnaadgenezing in mannelijke [redacted] ratten. Dit is een model waar onze afdeling zeer veel ervaring mee heeft en dat geschikt is gebleken voor het bestuderen van basale mechanismen van darmnaadgenezing en interactie met lichaamsvreemd materiaal. Bovendien heeft [redacted] een systematisch review verricht waaruit blijkt dat de rat ook wereldwijd verreweg het meest gebruikte dier is voor het bestuderen van darmnaden ([redacted]). De rat is voor ons het meest praktische dier om de algemene eigenschappen van [redacted] *in vivo* te bestuderen. De technieken die we gebruiken zullen hetzelfde zijn als bij eerdere projecten, zodat de resultaten goed geïnterpreteerd en vergeleken kunnen worden.

De primaire uitkomst die we in dit onderdeel gebruiken voor het functioneren van de tape is de positie van de tape rondom de naad bij opoffering van de rat. Er wordt gekeken of de tape nog strak om de naad zit of dat er sprake is van loslating of zelfs migratie naar andere delen van de buikholte.

Belangrijke secundaire uitkomstmaten zijn het optreden van ontstekingsreacties, verklevingen aan andere buikorganen, darmvernauwingen, inkapseling van de tape. Ook zullen de stukken darm met tape worden verzameld voor histologische analyses om weefselreacties te onderzoeken.

Geplande onderzoeksopzet en groepen:

Groep 1a: darmnaad ileum + [redacted], opofferen dag 1

Groep 1b: darmnaad ileum + [redacted], opofferen dag 3

Groep 1c: darmnaad ileum + [redacted], opofferen dag 7

Groep 2a: darmnaad **proximale** colon + [redacted], opofferen dag 1

Groep 2b: darmnaad **proximale** colon + [redacted], opofferen dag 3

Groep 2c: darmnaad **proximale** colon + [redacted], opofferen dag 7

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

Interventies

Voor alle dieren geldt dat onder algehele narcose met isofluraan een laparotomie wordt verricht waarbij er een darmnaad zal worden aangelegd. De controlegroepen uitgezonderd zal [REDACTED] vervolgens om de darmnaad worden aangebracht. Tevens zullen er enkele variaties worden toegepast om de relevantie hiervan op het functioneren van [REDACTED] te onderzoeken. De darmnaden zullen worden aangelegd op verschillende plaatsen in de darm (ileum, of **proximale colon**), **om te bepalen of de verschillen tussen deze delen (andere darmwand, andere diameter, andere fecale consistentie) invloed hebben op de werking van de tape. Door verschillen in fecale consistentie en uitrekking van de darm kan de tape mogelijk eerder loslaten of eerder obstructie veroorzaken. Bovendien worden het ileum en het proximale colon in dit *proof of principle* onderdeel gebruikt om te testen of beide darmdelen ook geschikt zijn om de toepassing van de tape verder te onderzoeken, zoals gepland in onderdeel 3.4.4.2.**

Duur van experimenten

Voor het *proof of principle* zal de werking van de tape op korte termijn worden onderzocht. De dieren zullen in de eerste week na de operatie op verschillende tijdstippen worden opgeofferd zodat we de werking van de tape en de reactie van het lichaam over de tijd kunnen bestuderen. Dag 3 is relevant voor het bestuderen van de darmnaad omdat de naad op deze dag op zijn zwakst is. Dag 7 is relevant om dat lekkage vooral in de eerste week voorkomt en het daarom gewenst is dat de tape gedurende deze periode functioneert.

Voortgang naar onderdeel 3.4.4.2

Als uit de experimenten in onderdeel 1 blijkt dat de plakkracht van de tape op de darm adequaat is en er geen ernstige complicaties (zoals forse ontstekingsreacties of abcesvorming) optreden, dan zullen we verder gaan met onderdeel 3.4.4.2.

Mochten er wel dergelijke tegenvallende uitkomsten worden gezien, dan zal er worden gezocht naar de oorzaak, en zullen de *proof of principle* experimenten mogelijk worden herhaald, met gebruik van andere technieken of eventueel een ander prototype tape.

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

Omdat de generieke werking van de [REDACTED] in dit onderdeel wordt gescreend, dient het tevens als pilot voor de rest van het project. Mochten er onverwachte complicaties of tegenvallende prestaties worden gezien, dan bespaart dit het gebruik van dieren in het volgende onderdeel. Daarnaast zal er per experiment een weloverwogen berekening of beredenering worden gedaan voor het bepalen van de groepsgrootte (zie sectie 2B.).

B. The animals

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

Soort: Rat
Ras: Wu [REDACTED]
Geslacht: Mannelijk
Leeftijd: 2-3 maanden / tussen 230 en 280 gram
Herkomst: [REDACTED]

Geschatte aantallen:

Omdat dit onderdeel van het project een zeer exploratief karakter heeft, is het aantal benodigde groepen en dieren nog onzeker. Het aantal opoffermomenten, en dus het aantal groepen, zal afhangen van de eerste experimenten. Bijvoorbeeld, als we zien dat de tape na 24 uur niet meer functioneert zal er niet worden gekeken na 7 dagen. Vervolgens zullen de benodigde aantallen per groep weer afhangen van de hoeveelheid complicaties die we zien. Zoals aangegeven in sectie 2A zullen we voor het bepalen van de uiteindelijke aantallen zoveel mogelijk gebruik maken van statistische methodes.

Vanwege het verkennende karakter van dit onderdeel kan er ook sprake zijn van onvoorziene omstandigheden. Door de aanwezigheid van verklevingen kan de inspectie bij opofferen, of het verkrijgen van samples voor histologische coupes, bemoeilijkt worden. Ook kan de tape sneller degraderen dan verwacht. Daarnaast kan het bij tegenvallende resultaten nodig zijn het experiment te herhalen met een aangepast prototype. Daarom hebben we het geschatte benodigde aantal dieren hierop aangepast, zoals is aangegeven in tabel 1.

Dierproef 3.4.4.1	Geschatte aantal groepen	Gemiddelde n per groep	Geschatte aantallen
Proof of principle; uitkomsten <1 week	6	10	60
Eventuele uitbreiding/herhaling om technische of inhoudelijke redenen			60
Totaal			120

Tabel 1

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
rat	██████	120	2-3 maanden

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Vervanging& vermindering

In de ontwikkelingsfase van ██████ is gebruikt gemaakt van *ex vivo* experimenten (o.a. op varkensdarm uit het slachthuis) om de effectiviteit van verschillende prototypen te onderzoeken. Door daarbij de *in vivo* situatie te simuleren (o.a. met behulp van warmtebaden en peristaltische bewegingen) kon het gebruik van dierproeven voor het betreffende onderzoek vermeden worden.

Omdat het algemeen functioneren van ██████ in dit onderdeel wordt gescreend, dient het tevens als pilot voor de rest van het project. Mochten er onverwachte complicaties of tegenvallende prestaties worden gezien, dan bespaart dit het gebruik van varkens in het volgende onderdeel.

Verfijning

Door ons te houden aan de verschillende onderzoeks- en publicatierichtlijnen (ARRIVE, FELASA, SYRCLE's gold publication standard) streven we naar een zo hoog mogelijke kwaliteit van onze experimenten. Daarbij maken we gebruik van maatregelen om de kans op bias te verminderen

(randomisatie, blinding) en doen we de operaties met aseptische technieken om de kans op infectieuze complicaties van buitenaf te verminderen. Tenslotte proberen we het dierenleed zoveel mogelijk te beperken door adequate verzorging. De dieren worden gehuisvest volgens vigerende protocollen. Ze zullen na de operatie gedurende 48 uur pijnstilling krijgen om de kans op pijn als gevolg van de operatie te beperken. Ook zullen de dieren aan het eind van de operatie extra vocht toegediend krijgen om uitdroging te voorkomen. Daarnaast zullen de dieren dagelijks geïnspecteerd worden op tekenen van lijden. Humane eindpunten worden bepaald om de kans op inhumain lijden te minimaliseren (zie sectie J. Humane eindpunten).

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

Verwerkt in antwoord onder D.1.

Repetition and Duplication

E. Repetition

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

■■■■ is een nieuw ontwikkeld product en derhalve niet eerder onderzocht. Er is een review gedaan naar zogenoemde tissue-adhesives, waaruit eveneens is gebleken dat er nog geen vergelijkbaar product is onderzocht.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

Voor (gas)anesthesie wordt gebruik gemaakt van isofluraan

Voor analgesie wordt gebruik gemaakt van Buprenorphine

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Na een buikoperatie is er altijd sprake van een herstelperiode van ongeveer 2 dagen. In deze periode kunnen de dieren last hebben van buikpijn, verminderde eetlust en vermoeidheid. Om dit te beperken wordt er tot 48 uur na de operatie pijnstilling gegeven. Indien nodig wordt het voedsel in de kooi gelegd en worden er drinkflessen met lange tuiten geplaatst om het eten en drinken te vergemakkelijken.

Bij het aanleggen van een darmnaad bestaat er een kans op lekkage van de naad. Bij ratten is deze kans klein (<10%). Mocht er lekkage optreden, dan zijn de gevolgen bij normale naden meestal beperkt. Het gaat vaak gepaard met minimale abcessen en verklevingen waar de dieren weinig last van lijken te hebben. In een enkel geval kan er sprake zijn van pusvorming rond de naad, darmobstructie of gegeneraliseerde peritonitis, waar de ratten erg ziek van kunnen worden. Alle dieren worden elke dag geobserveerd. Indien de klinische conditie hiertoe aanleiding geeft, zullen die dieren vaker worden geobserveerd en, om onnodig lijden te voorkomen, tijdig uit het experiment worden gehaald als een humaan eindpunt wordt bereikt (zie sectie J.).

Explain why these effects may emerge.

Verwerkt in antwoord onder I.1.

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

Verwerkt in antwoord onder I.1

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Het humane eindpunt wordt bereikt in het geval van een sterk verslechterde conditie of verdenking op peritonitis, af te meten aan uiterlijke kenmerken zoals sterk verminderde activiteit, lichaamstemperatuur, bolle rug, opstaande haren en brilogen, ingevallen of juist bolle buik. Het kan zijn dat de dieren enkele dagen last hebben van diarree. Dit is helaas inherent aan de ingreep en beschouwen wij op zichzelf niet als een humaan eindpunt. Ook bij een gewichtsverlies van meer dan 20% ten opzichte van het startgewicht, of een verlies van meer dan 15% binnen 2 dagen, wordt het humane eindpunt bereikt.

Indicate the likely incidence.

De kans op complicaties na een laparotomie bij de rat is zeer klein. Ook schatten we de kans op complicaties door het aanbrengen van █████ in als zeer beperkt. Derhalve verwachten we dat het percentage dieren dat het humane eindpunt haalt kleiner is dan 5%.

K. Classification of severity of procedures

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

Matig

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

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

Voor alle experimenten in dit project is het nodig om aan het eind van de proef de buikholte te inspecteren op de toestand van de tape en de buikorganen. Hiervoor moeten de dieren opnieuw geopereerd worden. Daarnaast hebben we zowel het bloed als de darmen van de ratten nodig voor aanvullende analyses. Daarom zullen de dieren aan het eind van het experiment worden opgeofferd.

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

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

Yes

Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 2	Type of animal procedure 3.4.4.2 Effectiviteit - rat

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

Het doel van dit onderdeel is:

- onderzoeken of de incidentie of ernst van darmnaadlekkage door █████ kan worden verminderd.

Een subdoelstelling van dit onderdeel is:

- onderzoeken of darmnaden kunnen worden versterkt door █████

We zullen hiervoor gebruik maken van een model voor darmnaadgenezing in mannelijke █████ ratten. Dit is een model waar onze afdeling zeer veel ervaring mee heeft en dat geschikt is gebleken voor het bestuderen van basale mechanismen van darmnaadgenezing en interactie met lichaamsvreemd materiaal. Bovendien heeft █████ een systematisch review verricht waaruit blijkt dat de rat ook wereldwijd verreweg het meest gebruikte dier is voor het bestuderen van darmnaden (█████). De rat is voor ons het meest praktische dier om de algemene eigenschappen van █████ *in vivo* te bestuderen. De technieken die we gebruiken zullen hetzelfde zijn als bij eerdere experimenten, zodat de resultaten goed geïnterpreteerd en vergeleken kunnen worden.

De belangrijkste uitkomsten die we in dit onderdeel gebruiken zijn:

- het optreden van naadlekkage, wat macroscopisch wordt vastgesteld middels laparotomie bij opofferenen

- de ernst van lekkage. Idem, maar dan wordt het beeld ingedeeld volgens een score waarbij wordt gelet op de aanwezigheid van verklevingen, abcessen, pus, peritonitis.

- de sterkte van de naad (Barstdruk, gemeten door de naad uit te nemen en in te spuiten met een vloeistof via een systeem dat aangesloten is op een drukketer. De druk bij het barsten van de naad wordt genoteerd als barstdruk. Vervolgens wordt de naad uit elkaar getrokken met een tensiometer, waarbij wordt gemeten hoe sterk de capaciteit van het weefsel is om de hechtingen vast te houden.)

Secundaire uitkomstmaten zijn het optreden van ontstekingsreacties, verklevingen aan andere buikorganen, darmvernauwingen en inkapseling van de tape. Ook zullen de stukken darm met tape worden verzameld voor histologische analyses om weefselreacties te onderzoeken.

Geplande experimentele opzet/groepen (**a/b = zonder/met █████ ; D3/D7 = opoffering dag 3 of dag 7**):

Effectiviteit normale darmnaad:

Groepen **1aD3/1bD3**: ileumnaad **zonder/met █████ opoffering dag 3**

Groepen **2aD3/2bD3/2aD7/2bD7**: proximale colonnaad **zonder/met █████ opoffering dag 3 of 7**

Groepen **3aD3/3bD3**: distale colonnaad **zonder/met █████ opoffering dag 3**

Effectiviteit gecompromitteerde naad:

Groepen **4aD3/4bD3**: ileumnaad + diclofenac, **zonder/met █████ , opoffering dag 3**

Groepen **5aD3/5bD3/5aD7/5bD7**: proximale colonnaad + diclofenac, **zonder/met** [REDACTED] **opoffering dag 3 of 7**
Groepen **6aD3/6bD3/6bD7/6aD7**: darmnaad met minder hechtingen, **zonder/met** [REDACTED] **opoffering dag 3 of 7**

Om de effecten van de tape op de darmwand en buikorganen te onderzoeken, zal de tape eerste worden onderzocht in een model voor normale darmnaadgenezing. We gebruiken het model voor normale darmnaadgenezing om de verstevigende werking van de tape te bepalen en hoe dit proces verloopt qua functie en qua pathofysiologie. Om naadlekkage te voorkomen, is het nodig om het ontstaan van zwaktes in de naad te tegen te gaan. Dit hangt nauw samen met een versterking van de naad door afdichting van kleine defecten en ondersteuning van de hechtingen, en kan worden onderzocht met barstdruk en treksterkte. Als we ontdekken dat er versteviging optreedt, is dit belangrijke informatie voor de naadlekkage modellen met de verwachting dat versteviging bij normale darmnaad ook versteviging geeft bij 'dreigend' lekkende naden. Ook kan versteviging van normale darmnaden nadelige gevolgen hebben zoals littekenreactie met obstructie en stricturering. Dit nadelige effect is beter te meten bij normale darmnaden dan bij lekkende darmnaden omdat lekkage en bacteriële contaminatie hun eigen dynamiek hebben m.b.t. het ontstekingsproces en genezingsproces met littekenvorming.

De darmnaden zullen worden aangelegd op verschillende plaatsen in de darm (ileum, of proximale colon en distale colon), om te bepalen of de verschillen tussen deze delen (andere darmwand, andere diameter en andere fecale consistentie) invloed hebben op de werking van de tape. Er bestaat bijvoorbeeld een mogelijkheid dat de harde keutels in het distale colon eerder vast komen te zitten, of dat deze de darm en tape juist dusdanig uitzetten waardoor de tape loslaat van de naad.

Vervolgens zal in een model voor gestoorde naadgenezing worden onderzocht wat de effecten zijn op de incidentie en ernst van naadlekkage. Ook hier zullen verschillende darmdelen worden gebruikt. De vloeibare darminhoud in het ileum lekt mogelijk makkelijker langst te tape dan de (relatief) vastere darminhoud in het proximale colon. (Omdat er geen geschikt model is voor lekkage van distale colonnaden, wordt dit segment niet gebruikt in het deel voor gecompromitteerde naadgenezing). In groepen 4 en 5 zal de genezing gestoord worden door diclofenac toediening, omdat we hiervan weten dat er een consequente hoeveelheid lekkage optreedt en omdat de pathogenese (i.e. 'geleidelijke' verstoring wondgenezing) relevant is in de klinische situatie. In de '6' groepen wordt de darmnaad gecompromitteerd door het verminderen van het aantal hechtingen. Het primaire doel hiervan is niet om lekkage te induceren, maar om te onderzoeken wat de ondersteunende werking van de tape ten opzichte van hechtingen is, en om te bestuderen of de tape ook de capaciteit heeft om grotere defecten af te dichten. Dit zal worden bepaald met barstdrukproeven en dient tevens ter voorbereiding van dierproef 3.4.4.3 waarin bij varkens grotere darmnaad defecten worden aangebracht. In de normale klinische situatie is er initieel geen sprake van grote defecten, maar kunnen deze wel secundair ontstaan als gevolg van genezingsstoornissen. Het darmsegment dat gebruikt zal worden voor de '6' groepen zal nog bepaald worden en zal o.a. afhangen van de resultaten van groepen 4 en 5.

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

Interventies

Voor alle dieren geldt dat onder algehele narcose met isofluraan een laparotomie wordt verricht waarbij er een darmnaad zal worden aangelegd met 8 hechtingen. De controlegroepen uitgezonderd zal ██████ vervolgens om de darmnaad worden aangebracht. In **de groepen met gestoorde naadgenezing** zal de genezing worden gecompromitteerd door het toedienen van NSAIDs (diclofenac intramusculair), of het gebruik van minder hechtingen (0, 2 of 4 hechtingen). Daarmee kan de aanvullende waarde van de tape, ten opzichte van hechtingen alleen, voor de sterkte van de darmnaad worden onderzocht.

Duur van experimenten

In dit onderdeel zal de effectiviteit van de tape op korte termijn worden onderzocht. De dieren zullen in de eerste week na de operatie op verschillende tijdstippen worden opgeofferd zodat we de werking van de tape en de reactie van het lichaam over de tijd kunnen bestuderen. Dag 3 is relevant voor het bestuderen van de darmnaad omdat de naad op deze dag op zijn zwakst is. Dag 7 is relevant om dat lekkage vooral in de eerste week voorkomt en het daarom gewenst is dat de tape gedurende deze periode ook blijft functioneren. **Dag 7 zal worden bestudeerd in de proximale colongroepen omdat de gevolgen van lekkage in het proximale colon minder ernstig zijn dan in het ileum. In de 'gestoorde naadgenezing' groepen zullen de dag 7 groepen (5aD7/5bD7) alleen worden gedaan als op dag 3 al een verbetering blijkt.**

Voortgang naar onderdeel 3.4.4.3 en 3.4.4.4

Als uit de experimenten in dit onderdeel blijkt dat tape de potentie heeft om darmnaden te versterken en lekkage te voorkomen of verminderen, dan zullen we verder gaan met onderdelen 3.4.4.3 en 3.4.4.4.

Mochten er wel dergelijke tegenvallende uitkomsten worden gezien, dan zal er worden gezocht naar de oorzaak, en zullen sommige experimenten mogelijk worden herhaald, met gebruik van andere technieken (bv. tape met afmetingen) of eventueel een ander prototype tape.

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

Mocht uit dit onderdeel onvoldoende effectiviteit van ██████ blijken dan zal er niet aan de volgende serie begonnen worden. Pas als een ander prototype wel werkt zal het project verder gaan.

Daarnaast zal er per experiment een weloverwogen berekening of beredenering worden gedaan voor het bepalen van de groepsgrootte. Hierbij zullen we gebruik maken van onze ruime hoeveelheid aan data voor het inschatten van de uitkomsten van de controlegroepen. Omdat we met name proportionele uitkomstmaten gebruiken (lekkage), maken we gebruik van de sample size calculator op <http://www.select-statistics.co.uk/sample-size-calculator-two-proportions> . Voor experimenten met continue uitkomsten (barstdruk) maken we gebruik van <http://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/n2.html> .

B. The animals

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

Soort: Rat
Ras: Wu ()
Geslacht: Mannelijk
Leeftijd: 2-3 maanden / tussen 230 en 280 gram
Herkomst: ()

Geschatte aantallen:

Het aantal benodigde groepen en dieren in dit onderdeel zal gedeeltelijk afhangen van de uitkomsten van onderdeel 3.4.4.1. Afhankelijk van de uitkomsten/complicaties die daar gezien worden, kan het bijvoorbeeld zijn dat er meer dieren per groep nodig zijn. Zoals aangegeven in sectie 2A zullen we voor het bepalen van de uiteindelijke aantallen zoveel mogelijk gebruik maken van statistische methodes. Bij eerdere experimenten naar naadlekage was de benodigde groepsgrootte gemiddeld 15 (12-18) ratten per groep. Daarom hebben we dit aantal ook gebruikt als schatting voor het benodigde aantal dieren in de lekkagegroepen.

Vanwege het experimentele karakter van dit onderdeel kan er ook sprake zijn van onvoorziene omstandigheden. Daarnaast kan het bij tegenvallende resultaten nodig zijn het experiment te herhalen met een aangepast prototype. Daarom hebben we het geschatte benodigde aantal dieren hierop aangepast, zoals is aangegeven in tabel 1.

Tabel 1 – Geschatte aantal dieren

Dierproef 3.4.4.2	Geschatte aantal groepen	Gemiddelde n per groep	Geschatte aantallen
Effectiviteit normale darmnaad	8	15	120
Effectiviteit gecompromitteerde naad	10	15	150
Eventuele uitbreiding/herhaling			60
Totaal			330

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
rat		330	2-3 maanden

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Vervanging& vermindering

In de ontwikkelingsfase van █████ is gebruikt gemaakt van *ex vivo* experimenten om de effectiviteit van verschillende prototypen te onderzoeken. Door daarbij de *in vivo* situatie te simuleren (o.a. met behulp van warmtebaden en peristaltische bewegingen) kon het gebruik van dierproeven voor het betreffende onderzoek vermeden worden. Met *ex vivo* experimenten met rattendarm werd gezocht naar de optimale afmetingen van de tape voor rattendarm, en werden de technieken voor het aanbrengen geoefend.

Dit onderdeel dient tevens als beslismoment voor de rest van het project. Mochten er onverwachte complicaties of tegenvallende prestaties worden gezien, dan bespaart dit het gebruik van ratten en varkens in volgende onderdelen.

Verfijning

Door ons te houden aan de verschillende onderzoeks- en publicatierichtlijnen (ARRIVE, FELASA, SYRCLE's gold publication standard) streven we naar een zo hoog mogelijke kwaliteit van onze experimenten. Daarbij maken we gebruik van maatregelen om de kans op bias te verminderen (randomisatie, blinding) en doen we de operaties met aseptische technieken om de kans op infectieuze complicaties van buitenaf te verminderen. Tenslotte proberen we het dierenleed zoveel mogelijk te beperken door adequate verzorging. De dieren worden gehuisvest volgens vigerende protocollen. Ze zullen na de operatie gedurende 48 uur pijnstilling krijgen om de kans op pijn als gevolg van de operatie te beperken. Ook zullen de dieren aan het eind van de operatie extra vocht toegediend krijgen om uitdroging te voorkomen. Daarnaast zullen de dieren dagelijks geïnspecteerd worden op tekenen van lijden. Humane eindpunten worden bepaald om de kans op inhumane lijden te minimaliseren (zie sectie J. Humane eindpunten).

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

Verwerkt in antwoord D.1.

Repetition and Duplication

E. Repetition

E. Repetition

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

■■■■ is een nieuw ontwikkeld product en derhalve niet eerder onderzocht. Er is een review gedaan naar zogenoemde tissue-adhesives, waaruit eveneens is gebleken dat er nog geen vergelijkbaar product is onderzocht.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

Voor (gas)anesthesie wordt gebruik gemaakt van isofluraan

Voor analgesie wordt gebruik gemaakt van Buprenorphine

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Na een buikoperatie is er altijd sprake van een herstelperiode van ongeveer 2 dagen. In deze periode kunnen de dieren last hebben van buikpijn, verminderde eetlust en vermoeidheid. Om dit te beperken wordt er tot 48 uur na de operatie pijnstilling gegeven. Indien nodig wordt het voedsel in de kooi gelegd en worden er drinkflessen met lange tuiten geplaatst om het eten en drinken te vergemakkelijken.

Bij het aanleggen van een darmnaad is er een kans op lekkage van de naad. In de normale darmnaden bij de rat is deze kans klein <10%. In de experimenten waarbij de naadgenezing wordt gecompromitteerd door toediening van NSAIDs, is deze kans 70-100%. In de meeste gevallen gaat dit gepaard met kleine abscessen of pusvorming rond de naad, waarvan wordt ingeschat dat de dieren er weinig klachten van hebben. In een deel van de gevallen gaat het gepaard met darmobstructie of gegeneraliseerde peritonitis waar de ratten erg ziek van kunnen worden. Alle dieren worden elke dag geobserveerd. Indien de klinische conditie hiertoe aanleiding geeft, zullen die dieren vaker worden geobserveerd en, om onnodig lijden te voorkomen, tijdig uit het experiment worden gehaald als een humaan eindpunt wordt bereikt (zie sectie J.).

Explain why these effects may emerge.

Verwerkt in sectie I.1.

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

Verwerkt in sectie I.1.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Het humane eindpunt wordt bereikt in het geval van een sterk verslechterde conditie of verdenking op peritonitis, af te meten aan uiterlijke kenmerken zoals sterk verminderde activiteit, lichaamstemperatuur, bolle rug, opstaande haren en brilogen, ingevallen of juist bolle buik. Het kan zijn dat de dieren enkele dagen last hebben van diarree. Het kan zijn dat de dieren enkele dagen last hebben van diarree. Dit is helaas inherent aan de ingreep en beschouwen wij op zichzelf niet als een humaan eindpunt. Ook bij een gewichtsverlies van meer dan 20% ten opzichte van het startgewicht, of een verlies van meer dan 15% binnen 2 dagen, wordt het humane eindpunt bereikt.

Indicate the likely incidence.

De kans op complicaties na een laparotomie bij de rat is zeer klein. Ook schatten we de kans op complicaties door het aanbrengen van █████ in als zeer beperkt. Rekening houdend met het optreden van naadlekkage en mogelijke gevolgen hiervan, verwachten we op basis van eerdere projecten dat het percentage dieren dat het humane eindpunt haalt kleiner is dan **10%**. **(Over alle experimenten van de afgelopen 2 jaar met het darmnaadmodel in de rat, was het percentage dieren dat het humane eindpunt heeft behaald lager dan 5 procent. Omdat het percentage in sommige groepen met gestoorde naadgenezing tussen de 6 en 7 procent is geweest en dit percentage kan variëren, hebben we het geschatte percentage voor deze aanvraag naar boven aangepast, namelijk naar 10%.)**

K. Classification of severity of procedures

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

We schatten het ongerief voor de dieren in de groepen met normale naadgenezing **(44%)** in als Matig.

In de groepen met verhoogde kans op naadlekkage schatten we het ongerief voor de meeste dieren **(46% van totaal)** ook in op Matig. Omdat we de dieren minimaal 1 keer per dag, maar meestal 2 keer per dag observeren, en we ze bij tekenen van verslechterde conditie (bereiken Humane eindpunt) meteen uit het experiment halen, is het ongerief als gevolg van een eventuele naadlekkage van korte duur.

Bij een minderheid (10% van totaal) kan de lekkage ernstig verlopen zonder dat dit tijdig wordt opgemerkt door de onderzoeker waardoor het dier overlijdt, en daarom schatten we het ongerief voor dit percentage in als Ernstig. Hierbij gaan we uit

van het negatieve scenario waarin de tape niet in staat is de lekkage te verminderen. Als dit wel het geval is zal het percentage ernstig ongerief lager liggen.

Wij baseren onze schatting op de literatuur en de meer recente onderzoeksresultaten van de afgelopen 2 jaar (4 experimenten). Uit onze resultaten blijkt dat er volgens de huidige definitie een Ernstig ongerief was bij 12% in de ileum groepen en bij 0% in de proximale colon groepen. Dus voor het huidige project zou dat neerkomen op een gemiddelde van 2-3% in de lekkagegroepen, en dus in 1% van de totale dierproef. Uitgaande van eventuele variatie en onvoorziene omstandigheden houden we in deze proef rekening met een percentage van 10%.

Om de effectiviteit van de tape ter preventie van naadlekkage te onderzoeken is het nodig om een naadlekkage model te gebruiken. Daarbij is de kans op ernstig lijden als gevolg van een naadlekkage onvermijdelijk. Met de diverse maatregelen beschreven in deze aanvraag (pijnstilling, frequente controles, humane eindpunten, beginnen met modellen voor normale naadgenezing) proberen we de kans op ernstig ongerief zo laag mogelijk te houden.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

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

Voor alle experimenten in dit project is het nodig om aan het eind van de proef de buikholte te inspecteren op de toestand van de tape en de buikorganen. Hiervoor moeten de dieren opnieuw geopereerd worden. Daarnaast hebben we zowel het bloed als de darmen van de ratten nodig voor aanvullende analyses. Daarom zullen de dieren aan het eind van het experiment worden opgeofferd.

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

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

Yes

Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300		
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen		
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	<table border="1"><tr><td>Serial number 3</td><td>Type of animal procedure 3.4.4.3 Veiligheid - rat</td></tr></table>	Serial number 3	Type of animal procedure 3.4.4.3 Veiligheid - rat
Serial number 3	Type of animal procedure 3.4.4.3 Veiligheid - rat			

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

De doelen van dit onderdeel zijn:

1. bepalen van vreemd lichaamsreacties op de lange termijn
2. bepalen van afbraaksnelheid en afbraakreacties
3. bepalen van veiligheid in gecontamineerde situaties

We zullen hiervoor gebruik maken van een model voor darmnaadgenezing in mannelijke Wistar ratten. Dit is een model waar onze afdeling zeer veel ervaring mee heeft en wat geschikt is gebleken voor het bestuderen van basale mechanismen van darmnaadgenezing en interactie met lichaamsvreemd materiaal. Bovendien heeft [REDACTED] een systematisch review verricht waaruit blijkt dat de rat ook wereldwijd verreweg het meest gebruikte dier is voor het bestuderen van darmnaden [REDACTED]). De rat is voor ons het meest praktische dier om de algemene eigenschappen van [REDACTED] *in vivo* te bestuderen. De technieken die we gebruiken zullen hetzelfde zijn als bij eerdere experimenten, zodat de resultaten goed geïnterpreteerd en vergeleken kunnen worden.

De belangrijkste uitkomsten waar we in dit onderdeel naar zullen kijken zijn de afbraaksnelheid van de tape, het optreden van ontstekingsreacties of erodering van weefsel, het verloop van infecties bij aanwezigheid van de tape (mortaliteit, ontstaan van abscessen), en het functioneren van de tape bij aanwezigheid van infecties. Als maten voor invloed op de darmnaad zal ook worden gekeken naar tekenen van lekkage en zal de sterkte van de naad worden bepaald door het meten van barstdruk en treksterkte. **Door de aanwezigheid van de tape en de bijkomende afbraak/ontstekingsreacties kunnen er op de lange termijn ook juist verzwakkingen in de naad ontstaan. Daarom zal in een deel van de dieren (nog nader te bepalen) ook de sterkte van de naad worden gemeten.**

Geplande experimentele opzet/groepen:

Degradatiereacties/snelheid:

Groepen 1a/b/c/d: Darmnaad met [REDACTED] + opoffering na 2/4/12/24 weken

Groepen 2a/b/c/d: Darmnaad zonder [REDACTED] + opoffering 2/4/12/24 weken

Contaminatie experimenten:

Groep 1: contaminatie buikholte (controle)

Groep 2: contaminatie buikholte met kleine hoeveelheid [REDACTED]

Groep 3: contaminatie buikholte met grote hoeveelheid [REDACTED]

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

Interventies

Voor het bestuderen van de langetermijneffecten zal in enkele groepen onder algehele narcose een darmnaad worden aangelegd, die wel of niet met ██████ wordt afgeplakt. In de andere groepen zal enkel een laparotomie (zonder darmnaad) worden verricht waarbij er ██████ op enkele plaatsen in de buikholte wordt aangebracht.

Voor het bestuderen van de invloed van contaminatie zullen we gebruik maken van een model waarbij er bacteriën in de buikholte worden ingebracht. Er zijn hiervoor twee modellen bekend, waar we beiden ervaring mee hebben. Het ene model betreft het 'Cecal Ligation Puncture'(CLP) model, waarbij met een holle naald een gaatje in het coecum wordt geprikt zodat de inhoud de buikholte in gaat. Het andere model betreft het inoculeren van de buikholte met een combinatie van fecale vezels en een bekende hoeveelheid van twee soorten bacteriën (*E.coli* en *B.fragilis*). Bij beide modellen wordt er een dag na de initiële contaminatie een laparotomie gedaan, waarbij de buik wordt gespoeld en het buikschort chirurgisch wordt verwijderd, omdat de gevolgen van de infectie te beperken. Afhankelijk van de groep, zal er bij deze laparotomie ook ██████ in verschillende hoeveelheden worden ingebracht. De keuze van het contaminatiemodel zal worden gemaakt na afronding van deel 3.4.4.2.

Duur van experimenten

In de langetermijn/degradatie experimenten zullen dieren op verschillende tijdstippen tussen 1 en 24 weken worden opgeofferd. In deze series zullen we ██████ ook plaatsen op andere organen in de buikholte, zoals de buikwand en lever. Het gebruik van meerdere stukken ██████ op meerdere organen levert meer informatie op per dier. Omdat er een kans bestaat dat de ██████ tegen deze organen aankomt te liggen en ██████ in de toekomst eventueel ook op deze organen gebruikt zou kunnen worden, is het relevant om ook andere organen dan de darm te gebruiken.

In de contaminatie experimenten zullen de dieren op dag 5 worden opgeofferd. Uit eerdere projecten is gebleken dat dit de optimale dag is om de gevolgen van de infectie te onderzoeken en om tegelijkertijd het ongerief van de dieren zoveel mogelijk te beperken.

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

Allereerst hebben we dit onderdeel van het project verdeeld in twee stadia, namelijk het onderzoeken van de lange termijneffecten (en afbraak), en de effecten van contaminatie. Mocht uit de eerste serie experimenten blijken dat er ernstige lange termijncomplicaties optreden, dan zal er niet aan de volgende serie begonnen worden.

Daarnaast zal er per experiment een weloverwogen berekening of beredenering worden gedaan voor het bepalen van de groepsgrootte. Hierbij zullen we gebruik maken van onze ruime hoeveelheid aan data voor het inschatten van de uitkomsten van de controlegroepen. Omdat we met name proportionele uitkomstmaten gebruiken, maken we gebruik van de *sample size calculator* op <http://www.select-statistics.co.uk/sample-size-calculator-two-proportions> .

B. The animals

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

Soort: Rat
Ras: Wu (Wistar)
Geslacht: Mannelijk
Leeftijd: 2-3 maanden / tussen 230 en 280 gram
Herkomst: ██████████

Geschatte aantallen:

Het aantal benodigde groepen en dieren in dit onderdeel zal gedeeltelijk afhangen van de uitkomsten van onderdeel 3.4.4.2. In dat onderdeel zullen al een eerste indicatie krijgen van de weefselreacties en eventuele afbraak na 1 week. Aan de hand daarvan kunnen we het benodigde aantal dieren voor dit onderdeel beter bepalen. Zoals aangegeven in sectie 2A zullen we voor het bepalen van de uiteindelijke aantallen zoveel mogelijk gebruik maken van statistische methodes. Bij eerdere experimenten naar veiligheid bij contaminatie was de benodigde groepsgrootte gemiddeld 15 ratten per groep. Daarom hebben we dit aantal ook gebruikt als schatting voor het benodigde aantal dieren voor het betreffende onderdeel (zie Tabel 1).

Tabel 1 – Geschatte aantal dieren

Dierproef 3.4.4.3	Geschatte aantal groepen	Gemiddelde n per groep	Geschatte aantallen
Afbraaksnelheid en reacties lange termijn	8	10	80
Veiligheid contaminatie	3	15	45
Eventuele uitbreiding/herhaling			55
Totaal			180

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
rat	██████████	180	2-3 maanden

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Vervanging& vermindering

In de ontwikkelingsfase van █████ is gebruikt gemaakt van *in vitro* testen om een indicatie te krijgen van de afbraaksnelheid. Dit draagt bij aan het kiezen van de juiste opoffermomenten voor de dierproeven, en daarmee tot het verminderen van het benodigde aantal dierproeven.

Er is gezocht naar de mogelijkheid om zonder dierproeven de afbraak van lichaamsvreemd materiaal in de buikholte te bestuderen, maar hier werden geen adequate modellen voor gevonden. Hetzelfde geldt voor het bestuderen van het verloop van een infectie in de buikholte. Deze processen zijn dermate complex dat er (nog) geen geschikte *in vitro* modellen hiervoor zijn.

Verfijning

Door ons te houden aan de verschillende onderzoeks- en publicatierichtlijnen (ARRIVE, FELASA, SYRCLE's gold publication standard) streven we naar een zo hoog mogelijke kwaliteit van onze experimenten. Daarbij maken we gebruik van maatregelen om de kans op bias te verminderen (randomisatie, blinding) en doen we de operaties met aseptische technieken om de kans op infectieuze complicaties van buitenaf te verminderen. Tenslotte proberen we het dierenleed zoveel mogelijk te beperken door adequate verzorging. De dieren worden gehuisvest volgens vigerende protocollen. Ze zullen na de operatie gedurende 48 uur pijnstilling krijgen om de kans op pijn als gevolg van de operatie te beperken. Ook zullen de dieren aan het eind van de operatie extra vocht toegediend krijgen om uitdroging te voorkomen. Daarnaast zullen de dieren dagelijks geïnspecteerd

worden op tekenen van lijden. Humane eindpunten worden bepaald om de kans op inhumaan lijden te minimaliseren (zie sectie J. Humane eindpunten).

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

Verwerkt in sectie D.1.

Repetition and Duplication

E. Repetition

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

█ is een nieuw ontwikkeld product en derhalve niet eerder onderzocht. Er is een review gedaan naar zogenoemde tissue-adhesives, waaruit eveneens is gebleken dat er nog geen vergelijkbaar product is onderzocht.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

G. Location where the animals procedures are performed

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

Voor (gas)anesthesie wordt gebruik gemaakt van isofluraan

Voor analgesie wordt gebruik gemaakt van Buprenorphine

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Na een buikoperatie is er altijd sprake van een herstelperiode van ongeveer 2 dagen. In deze periode kunnen de dieren last hebben van buikpijn, verminderde eetlust en vermoeidheid. Om dit te beperken wordt er tot 48 uur na de operatie pijnstilling gegeven. Indien nodig wordt het voedsel in de kooi gelegd en worden er drinkflessen met lange tuiten geplaatst om het eten en drinken te vergemakkelijken.

In de groepen waar we kijken naar langetermijneffecten en afbraaksnelheid kunnen er op den duur mogelijk andere complicaties ontstaan, zoals ontstekingsreacties met buikpijn, of darmobstructie door verklevingen. De kans hierop is moeilijk te voorspellen.

Bij het aanleggen van een darmnaad bestaat er een kans op lekkage van de naad. Bij ratten is deze kans klein (<10%). Mocht er lekkage optreden, dan zijn de gevolgen bij normale naden meestal beperkt. Het gepaard vaak met minimale abcessen en verklevingen waar de dieren weinig last van lijken te hebben. In een enkel geval kan er sprake zijn van pusvorming rond de naad, darmobstructie of gegeneraliseerde peritonitis, waar de ratten erg ziek van kunnen worden.

Bij de dieren waar de buikholtte wordt gecontamineerd is er een grotere kans op infectieuze complicaties. Bij vrijwel alle dieren treden er kleine abcessen op. Bij een deel van de dieren treedt er gegeneraliseerde peritonitis op, waarbij septische shock of overlijden kan optreden.

Alle dieren worden elke dag geobserveerd. Indien de klinische conditie hiertoe aanleiding geeft, zullen die dieren vaker worden geobserveerd en, om onnodig lijden te voorkomen, tijdig uit het experiment worden gehaald als een humaan eindpunt wordt bereikt (zie sectie J.).

Explain why these effects may emerge.

Verwerkt onder I.1

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

Verwerkt onder I.1

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Het humane eindpunt wordt bereikt in het geval van een sterk verslechterde conditie, af te meten aan uiterlijke kenmerken zoals sterk verminderde activiteit, lichaamstemperatuur, bolle rug, opstaande haren en brilogen, ingevallen of juist bolle buik. Het kan zijn dat de dieren enkele dagen last hebben van diarree. Dit is helaas inherent aan de ingreep en beschouwen wij op zichzelf niet als een humaan eindpunt. Ook bij een gewichtsverlies van meer dan 20% ten opzichte van het startgewicht, of een verlies van meer dan 15% binnen 2 dagen, wordt het humane eindpunt bereikt.

Indicate the likely incidence.

De kans op complicaties na een laparotomie bij de rat is zeer klein. Ook schatten we de kans op complicaties door het aanbrengen van █████ in als zeer beperkt. Derhalve verwachten we in de lange termijn experimenten dat het percentage dieren dat het humane eindpunt haalt kleiner is dan 5%.

Uit eerdere projecten blijkt dat de kans op het behalen van het humane eindpunt in de contaminatiegroepen rond de 20% ligt.

K. Classification of severity of procedures

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

In de degradatiestudies, welke 50% van dit onderdeel innemen, schatten we het ongerief in als Matig.

In de contaminatiegroepen schatten we het ongerief bij het grootste aantal dieren (70-90%) in als matig, en bij 10-30% als ernstig. Daarmee komt het cumulatief ongerief op ernstig.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

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

Voor alle experimenten in dit project is het nodig om aan het eind van de proef de buikholte te inspecteren op de toestand van de tape en de buikorganen. Hiervoor moeten de dieren opnieuw geopereerd worden. Daarnaast hebben we zowel het bloed als de darmen van de ratten nodig voor aanvullende analyses. Daarom zullen de dieren aan het eind van het experiment worden opgeofferd.

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

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

Yes

Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 4	Type of animal procedure 3.4.4.4 Veiligheid en effectiviteit - varken

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

De doelen van dit onderdeel zijn:

- bepalen van het risico op complicaties (met name darmvernauwingen) op de korte termijn
- bepalen van de effectiviteit in het versterken van de naad en het voorkomen van naadlekkage
- bepalen van de risico's op lange termijn

We zullen hiervoor gebruik maken van een varkensmodel voor darmnaadgenezing. Om het meest geschikte diermodel te bepalen, hebben we een systematische review gedaan naar alle dierenstudies op het gebied van darmnaadgenezing in de afgelopen 60 jaar (1300+ artikelen). Hieruit is o.a. gebleken dat er voor onderzoek naar medische hulpmiddelen (zoals mechanische *staplers*) vooral varkens worden gebruikt, omdat de darmgrootte van deze dieren vergelijkbaar is met die van de mens. De tape die in dit project wordt onderzocht is ook een medisch hulpmiddel met specifieke eigenschappen, zoals dikte, sterkte en elasticiteit, die bedoeld zijn voor de mens. Omdat voor het bestuderen van het algemeen functioneren van de tape (i.e. behoud plakkracht, interactie met lichaamswefsel) de darmgrootte niet van belang is, hebben we in onderdeel 3.4.4.1 gebruik gemaakt van de rat. Echter, voor het bepalen van de (humane translatie van) effectiviteit en het risico op complicaties is de diameter van de darm wel relevant. Een belangrijke complicatie die in theorie zou kunnen optreden is een obstruerende vernauwing van de darm. Omdat we een reële inschatting willen maken van het risico hierop bij gebruik van de tape in mensen, maken we hiervoor gebruik van een varkensmodel met een normale darmnaad. Voor het bepalen van de effectiviteit van [REDACTED] ter preventie van naadlekkage (vergelijkbaar met de mens) zullen we een translatie model gebruiken waarbij lekkage geïnduceerd wordt door het compromitteren van de naadgenezing. Dit is een model dat ook wordt aanbevolen door een reviewstudie naar diermodellen voor naadlekkage (Pommergaard, Eur Surg Res 2011; Nordentoft, Eur Sur Res, 2007).

Geplande experimentele opzet/groepen:

Normale darmnaad korte termijn:

Groep 1a/b: dunne darmnaad met/zonder [REDACTED]

Groep 2a/b: dikke darmnaad met/zonder [REDACTED]

Gecompromitteerde naad:

Groep 3a/b: defecte dikke darmnaad met/zonder [REDACTED]

Groep 4a/b: defecte dunne darmnaad met/zonder [REDACTED]

Lange termijn risico's"

Groep 5a/b: darmnaad met/zonder [REDACTED], opoffering na 1 maand

Groep 6a/b: darmnaad met/zonder [REDACTED], opoffering na 6 maanden met tussentijdse inspectie.

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

Interventies

Voor alle dieren geldt dat onder algehele narcose een laparotomie wordt verricht waarbij er een darmnaad zal worden aangelegd. De controlegroepen uitgezonderd zal [REDACTED] vervolgens om de darmnaad worden aangebracht. Tevens zullen er enkele variaties worden toegepast om de relevantie hiervan op het functioneren van [REDACTED] te onderzoeken. Zo zullen er groepen worden gebruikt waarbij de naden ofwel in de dunne darm, ofwel in de dikke darm zullen worden aangelegd. Omdat er tussen deze segmenten verschillen zijn in diameter, de uitrekbaarheid en in de consistentie van de faeces, kan ook het risico op vernauwingen erg verschillen.

In de experimenten naar de preventie van naadlekkage zal de naad gecompromitteerd worden door het maken van een defect (21mm) in de naad (Nordentoft, Eur Sur Res, 2007).

In de experimenten naar de langetermijneffecten willen we op verschillende tijdstippen in het eerste half jaar de darmnaad inspecteren, om te onderzoeken in welke mate er verklevingen ontstaan en welke overige processen er op treden (bv. geleidelijke fibroserende vernauwing of erosie van tape in de darm). Om het aantal dieren hiervoor te beperken zullen we, in plaats van het gebruik van meerdere opoffermomenten, gebruik maken van tussentijdse inspectie door middel van een reoperatie en/of endoscopie. De precieze planning van deze momenten zal afhangen van de uitkomsten van de degradatiestudies in onderdeel 3.4.4.1 en van de situatie in de varkens na 1 week. In de lange termijn experimenten zullen we [REDACTED] ook plaatsen op andere organen in de buikholte, zoals de buikwand en lever. Het gebruik van meerdere stukken [REDACTED] op meerdere organen levert meer informatie op per dier. Omdat er een kans bestaat de [REDACTED] in contact komt met deze organen en [REDACTED] in de toekomst eventueel ook op deze organen gebruikt zou kunnen worden, is het relevant om ook de effecten op andere organen te onderzoeken.

Duur van experimenten

Omdat de kans op complicaties en naadlekkage het grootst is in de eerste week na de operatie, zullen de dieren in de eerste serie van experimenten niet langer dan een week in het experiment zitten. Voor onderzoek naar de lange termijn complicaties zullen de dieren tot aan een half jaar in het experiment blijven.

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

Allereerst hebben we dit onderdeel van het project verdeeld in twee stadia, namelijk het onderzoeken van het functioneren op korte termijn en onderzoek naar de complicaties op de lange termijn. Mocht uit de eerste serie experimenten blijken dat [REDACTED] niet naar verwachting functioneert, zal er niet aan de lange termijn serie begonnen worden.

Ook zullen we in dit onderdeel gebruik maken van enkele pilotexperimenten waarbij de gebruikte modellen getest zullen worden. Zowel het model voor normale darmnaden als het model voor gecompromitteerde darmnaden zullen elk in 1 tot 2 varkens getest worden, voordat er experimenten met grotere groepen tegelijk worden gedaan. Zo kunnen ook de gebruikte technieken geoefend worden, kan ervaring worden opgedaan met de uiting en de gevolgen van lekkage, kan ervoor worden gezorgd dat in het experiment minder hinder is van onvoorziene factoren en wordt een eventuele bias door leercurve verminderd.

Daarnaast zal er per experiment een weloverwogen berekening of beredenering worden gedaan voor het bepalen van de groepsgrootte. Hierbij zullen we gebruik maken van ervaring uit de pilot experimenten, en van gegevens uit de literatuur (Nordentoft, Eur Sur Res, 2007). Omdat we met name proportionele uitkomstmaten gebruiken, maken we gebruik van de *sample size calculator* op <http://www.select-statistics.co.uk/sample-size-calculator-two-proportions>.

B. The animals

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

Soort:	Varken
Ras:	Z- of Z/N-lijn
Geslacht:	Vrouwelijk
Gewicht:	40-60 kg
Herkomst:	████████

Dierproef 3.4.4.4	Geschatte aantal groepen	Gemiddelde n per groep	Geschatte aantallen
Pilot normale darmnaad en gecompromitteerde naad	2	1-2	4
Experiment normale darmnaad (dunne/dikke darm, met/zonder GATT)	4	4-8	24
Experiment gecompromitteerde naad	4	10	40
Langetermijneffecten	4	4-6	24
Eventuele uitbreiding/herhaling			20
Totaal			112

Geschatte aantallen:

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
Varkens		112	40-60kg

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Vervanging

In de ontwikkelingsfase van █████ is gebruikt gemaakt van *ex vivo* experimenten (o.a. op varkensdarm uit het slachthuis) om de effectiviteit van verschillende prototypen te onderzoeken. Door daarbij de *in vivo* situatie te simuleren (o.a. met behulp van warmtebaden en peristaltische bewegingen) kon het gebruik van dierproeven voor het betreffende onderzoek vermeden worden.

Wanneer twee darmdelen aan elkaar worden gehecht, volgt er een complex genezingsproces, waarin veel lokale en systemische factoren hun effect uitoefenen. Het is nog onmogelijk om een volledige darmgenezing te simuleren in een *in vitro* model. Het varken is in deze situatie gekozen om de effectiviteit en eigenschappen van de tape *in vivo* te bestuderen. Het dient als model voor de humane situatie, vanwege de vergelijkbare intestinale anatomie, darmomvang, voedingspatroon (omnivoor) en wondgenezing.

Vermindering

Door gebruik te maken van pilotstudies, door het project te verdelen in meerdere stadia, en door gebruik te maken van groepsgrootte berekeningen voor elk experiment, proberen we het benodigde aantal dieren zo klein mogelijk te houden.

Verfijning

Door ons te houden aan de verschillende onderzoeks- en publicatierichtlijnen (ARRIVE, FELASA, SYRCLE's gold publication standard) streven we naar een zo hoog mogelijke kwaliteit van onze experimenten. Daarbij maken we gebruik van maatregelen om de kans op bias te verminderen (randomisatie, blinding) en doen we de operaties met aseptische technieken om de kans op exogene infectieuze complicaties te verminderen. Tenslotte proberen we het dierenleed zoveel mogelijk te beperken door adequate verzorging. Ze zullen na de operatie gedurende 48 uur pijnstilling krijgen om de kans op pijn als gevolg van de operatie te beperken. Ook zullen de dieren tijdens en na de operatie extra vocht toegediend krijgen om uitdroging te voorkomen. Daarnaast zullen de dieren dagelijks geïnspecteerd worden op tekenen van lijden. Humane eindpunten worden bepaald om de kans op inhumane lijden te minimaliseren (zie kopje humane eindpunten).

Het ongerief wordt zo laag mogelijk gehouden door het toepassen van algehele anesthesie en pijnstilling. Omdat we dit project in stappen hebben opgebouwd, zal de werking van de tape eerst bestudeerd worden in modellen waarbij naadlekkage onwaarschijnlijk is. Om vervolgens te preventieve werking te bestuderen, moeten we een model gebruiken waarin deze lekkage op kan treden. Wanneer er een lekkage optreedt resulteert dit overigens niet per definitie een peritonitis, maar in de meeste gevallen een lokale ontstekingsreactie of abcedering. Omdat deze complicatie meestal binnen 1 week optreedt, wordt het lekkage experiment nadien beëindigd. Als eerder blijkt dat de conditie van een dier verslechtert, zal het eerder uit het experiment gehaald worden. Daarmee wordt de duur van een eventueel ongerief als gevolg van peritonitis beperkt.

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

Verwerkt onder D.1

Repetition and Duplication

E. Repetition

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

Er is een systematische review gedaan, welke gepubliceerd wordt in het British Journal of Surgery, waarin alle dierstudies naar darmnaadgenezing zijn bekeken. Hieruit is gebleken dat de geplande experimenten niet eerder zijn uitgevoerd. Bovendien is ██████ een nieuw ontwikkeld product dat nog niet eerder is onderzocht. Ook biochemisch vergelijkbare producten zijn niet voorhanden om hypothesen op de baseren.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

De anesthesie en analgesie wordt volgens de geldende protocollen binnen het cdl uitgevoerd.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Na een buikoperatie is er altijd sprake van een herstelperiode van ongeveer 2-3 dagen. In deze periode kunnen de dieren last hebben van buikpijn, verminderde eetlust en vermoeidheid. Om dit te beperken wordt er in deze periode pijnstilling gegeven.

Bij het aanleggen van een darmnaad is er een kans op lekkage van de naad. In de normale darmnaden bij varkens is deze kans zeer klein. Zelfs als er defecten in de naad worden gemaakt van 5-6 mm resulteert dit meestal niet in lekkage (Nordentoft, Eur Sur Res, 2007) . In de experimenten waarbij de naadgenezing wordt gecompromitteerd, bijvoorbeeld door grotere defecten, is deze kans bijna 100% (Nordentoft, Eur Sur Res, 2007). Dit is inherent aan het experiment en nodig om te onderzoeken of de complicatie voorkomen kan worden. In de beschreven modellen is er bijna altijd sprake van peritonitis. Hiervan kunnen de dieren erg ziek worden en zelfs overlijden. Ook is er een kans op darmvernauwingen waardoor er darmobstructie ontstaat. Dit kan resulteren in buikpijn, misselijkheid en diarree. Het onderzoeken van de kans is op deze complicatie is een van de doelen van het huidige project.

Explain why these effects may emerge.

Verwerkt onder I.1.

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

Alle dieren worden elke dag enkele malen geobserveerd. Indien de klinische conditie hiertoe aanleiding geeft, zullen die dieren vaker worden geobserveerd en, om onnodig lijden te voorkomen, tijdig uit het experiment worden gehaald als een humaan eindpunt wordt bereikt (zie sectie J.).

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Het humane eindpunt wordt bereikt in het geval van een sterk verslechterde conditie. Bij varkens wordt onder andere gelet op gewichtsafname (meer dan 20%), aanhoudende koorts, apathisch gedrag, slechte voeropname, geen ontlasting. In geval van verslechterde conditie wordt contact opgenomen met de dierenarts om te overleggen over verder beleid (behandeling, of uit experiment halen).

Indicate the likely incidence.

In de proeven waarbij de darmnaden niet worden gecompromitteerd schatten we de kans op het behalen van het humane eindpunt onder de 5 %. In de dieren waarbij de darmnaad wordt gecompromitteerd schatten we deze kans in tussen 5-20%.

K. Classification of severity of procedures

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

In de groepen met normale darmnaden (**57%**) schatten we het ongerief in als Matig.

In de groepen met verhoogde kans op lekkage (**43%**) bestaat er een kans op Ernstig ongerief, welke we schatten tussen de 10 en 25% voor de groepen waarin tape wordt gebruikt, en tussen de 50 en 75% voor de groepen waarin geen tape wordt gebruikt.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

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

Voor alle experimenten in dit project is het nodig om aan het eind van de proef de buikholte te inspecteren op de toestand van de tape en de buikorganen. Hiervoor moeten de dieren opnieuw geopereerd worden. Daarnaast zijn de buikorganen, en met name de darmnaad, nodig voor weefselanalyses. Om de dieren het herstel van een extra buikoperatie te besparen worden ze aan het eind van het experiment opgeofferd.

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

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

Yes

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer 2015-0013
2. Titel van het project: Tape ter preventie darmnaadlekkage
3. Titel van de NTS: Het gebruik van een tape om operatieve verbindingen tussen darmen af te dichten.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - Naam DEC: RUDEC
 - Telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED], bereikbaar op maandag, dinsdag, en donderdag van 9:00 tot 15:00 uur
 - Mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject:
 - ontvangen door DEC: 27-03-2015
 - in vergadering besproken: 07-04-2015
 - anderszins behandeld: nvt
 - termijnonderbrekingen van 15-04-2015 tot 30-06-2015
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: n.v.t.
 - aanpassing aanvraag: 10-08-2015
 - advies aan CCD: 31-08-2015
7. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Strekking van de vraag / vragen
 - Strekking van het (de) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 15-04-2015
 - Strekking van de vragen:
 - **Niet-technische samenvatting:**
 - -3.3 Hier worden andere aantallen genoemd dan in de 'description of animal procedures'. De onderzoekers worden verzocht de genoemde aantallen in overeenstemming met elkaar te brengen.
 - **Project Proposal:**
 - - 3.2. De commissie is van mening dat in onderzoeksvraag 6 (incidentie en/of ernst van naadlekkage) de hoofddoelstelling van het project is verwoord. Is het voor preventie van naadlekkage wel noodzakelijk dat de tape de darmnaad feitelijk verstevigt, c.q. de sterkte

zoals gemeten aan de gebruikelijke mechanische parameters verhoogt? Versterking van de darmnaad kan wel als afgeleide vraagstelling vermeld worden.

- 3.4.1. stap 2. De onderzoekers bestuderen de effectiviteit van █████ ter versteviging van darmnaden. Is het noodzakelijk dat █████ de darmnaden kan verstevigen, en zouden de onderzoekers daarom 'versteviging van darmnaden' niet beter vervangen door 'preventie van darmnaadlekkage'? Het gaat er immers primair om te voorkomen dat lekkage in de darmwand leidt tot klinische verschijnselen. Zij worden verzocht dit aan te passen of aan te geven waarom zij dit willen handhaven.
- **Description of Animal Procedures:**
- -Dierproef 1, 2A. tweede vraag. De onderzoekers gaan darmnaden aanleggen. Onduidelijk is nog waar in het colon en waarom zij dit zowel in het ileum als het colon willen doen. Zij dienen dit te onderbouwen.
- -Dierproef 2, 2A eerste vraag. De commissie is van mening dat preventie van naadlekkage de hoofddoelstelling is. Sterkte van de darmnaad is niet noodzakelijk voor dit project en dient daarom als subdoelstelling vermeld te worden. De onderzoekers willen op twee tijdstippen dieren opofferen, maar vermelden dit niet in de globale proefopzet. Het aantal groepen komt daarmee op $6 \times 2 \times 2 = 24$. Indien dit invloed heeft op het totaal aantal dieren, kunt u dit onder B aanpassen.
- -Dierproef 2, 2A tweede vraag. Bij ratten treedt zeer zelden naadlekkage op bij normale darmnaden. Waarom wordt het effect van █████ op de normale darmnaad onderzocht? De onderzoekers dienen dit te onderbouwen.
- -Dierproef 2, 2A tweede vraag. Hef effect van █████ op de gecompromitteerde naad wordt in twee modellen onderzocht. Waarom gebruiken de onderzoekers twee modellen? En waarom kijken ze op dag 7? De naadlekkage ontstaat al voorafgaand aan dag 3 en bij wachten tot dag 7 zal circa 25% van de ratten prematuur aan peritonitis overlijden. Zij worden verzocht dit toe te lichten.
- Dierproef 2, J. Het percentage dieren dat het humane eindpunt haalt is te laag ingeschat.
- Dierproef 2, K. 0-10% is een onderschatting, de DEC meent dat dit 25% moet zijn (vd Vijver et al., Int J Colorect Dis 2013). Bij differentiatie in ongeriefclassificatie, dienen de geschatte percentages dieren te worden vermeld waarop deze verschillende ongeriefinschattingen betrekking hebben.
- -Dierproef 3, 2A De onderzoekers beschrijven hier in feite twee verschillende proeven. Zij worden verzocht in volgende aanvragen voor elke dierproef een aparte beschrijving te geven.
- -Dierproef 3,2A Waarom testen de onderzoekers de barstdruk en treksterkte na 2-4-12-24 weken? De verwachting is dat de naad op deze tijdstippen sterker is dan het omringende weefsel en dat de gemeten waarden niet representatief zijn voor de sterkte van de darmnaad per se. Zij worden verzocht dit toe te lichten.
- -Dierproef 4, K. Bij differentiatie in ongeriefclassificatie, dienen de geschatte percentages dieren te worden vermeld waarop deze verschillende ongeriefinschattingen betrekking hebben.
- Datum antwoord: 30-06-2015
- Strekking van de antwoorden:
- **Niet-technische samenvatting:**

- -3.3 We hebben de aantallen aangepast. Bij de genoemde aantallen in de NTS hebben we de extra dieren, die we mogelijk nodig hebben voor eventuele uitbreiding, nog niet meegerekend.
- **Project Proposal:**
- -3.2. Het klopt dat onderzoeksvraag 6 de hoofdvraag is. Voor de duidelijkheid hebben we de volgorde en opbouw van de alinea met vragen veranderd (zie projectaanvraag sectie 3.2). Voor de preventie van naadlekkage is het, strikt genomen, niet absoluut noodzakelijk om een normaal genezende darmnaad extra te verstevigen. Echter, om te zorgen dat er geen lekkage optreedt is het wel nodig dat de tape ervoor zorgt dat de naad niet verzwakt. Preventie van zwaktes is zeer nauw gerelateerd aan de mate van versteviging en is een essentieel aspect bij de toepassing van de tape. Als blijkt dat de tape in staat is normale darmnaden te verstevigen, is het aannemelijker dat de tape ook in staat is bij gestoorde naadgenezing eventuele zwaktes te voorkomen. De barstdruk is een maat voor de 'afsluitende' werking van de tape en de treksterkte een voor de mate waarin de tape de hechtingen ondersteunt. Onderzoek naar de verstevigende werking is verbonden met het doel van naadlekkage preventie en is derhalve een belangrijk onderdeel van dit project. Deze toelichting is verwerkt in sectie 3.4.1 van de projectaanvraag.
- - 3.4.1. Een deel van de beantwoording van deze vraag is hierboven gegeven. Natuurlijk is preventie van darmnaadlekkage klinisch de meest relevante uitkomst. Echter, op de onderzoeksrouten hierna toe is versteviging van de darmnaad een goede proxy. Bij de toepassing in de praktijk zal versteviging van bestaande technieken (hechtingen) ook de eerste stap zijn. Daarmee is versteviging een relevante uitkomst met translationele waarde. (Terzijde, complete vervanging van andere materialen, waarbij de darmnaad volledig afhankelijk is van de tape, zal een volgende stap zijn.)
- **Description of Animal Procedures:**
- *-Dierproef 1, 2A. tweede vraag.* Wij hebben dit onderbouwd door de volgende uitleg toe te voegen aan de aanvraag:
De darmnaden zullen worden aangelegd op verschillende plaatsen in de darm (ileum, of proximale colon), om te bepalen of de verschillen tussen deze delen (andere darmwand, andere diameter, andere fecale consistentie) invloed hebben op de werking van de tape. Door verschillen in fecale consistentie en uitrekking van de darm kan de tape mogelijk eerder loslaten of eerder obstructie veroorzaken. Bovendien worden het ileum en het proximale colon in dit *proof of principle* onderdeel gebruikt om te testen of beide darmdelen ook geschikt zijn om de toepassing van de tape verder te onderzoeken, zoals gepland in onderdeel 3.4.4.2.
- *-Dierproef 2, 2A eerste vraag.* We hebben de doelen nu onderverdeeld in een hoofd- en subdoelstelling. We hebben het aantal groepen in de globale proefopzet aangepast, en de onderbouwing hiervoor toegevoegd aan de paragraaf *duur van experimenten*.
- *-Dierproef 2, 2A tweede vraag.* We gebruiken het model voor normale darmnaadgenezing om de verstevigende werking van de tape te bepalen en hoe dit proces verloopt qua functie en qua pathofysiologie. Als we ontdekken dat er versteviging optreedt en weten hoe dit pathofysiologisch gaat is dit belangrijke informatie voor de naadlekkage modellen met de verwachting dat versteviging bij normale darmnaad ook versteviging geeft bij 'dreigend' lekkende naden. Ook kan versteviging van normale darmnaden nadelige gevolgen hebben zoals littekenreactie met obstructie en stricturering. Dit nadelige effect is beter te meten bij

normale darmnaden dan bij lekkende darmnaden omdat lekkage en bacteriële contaminatie hun eigen dynamiek hebben m.b.t. ontstekingsproces en genezingsproces met littekenvorming. We hebben deze toelichting aan de aanvraag toegevoegd.

- *Dierproef 2, 2A tweede vraag.* Het eerste model betreft 'diclofenac geïnduceerde naadlekkage' en het tweede model betreft een 'technisch insufficiënte naad'. In groepen 4 (ileumnaad) en 5 (proximale colonnaad) zal de genezing gestoord worden door diclofenac toediening, omdat we hiervan weten dat er een consequente hoeveelheid lekkage optreedt en omdat de pathogenese (i.e. 'geleidelijke' verstoring wondgenezing) relevant is in de klinische situatie. In de '6' groepen wordt de darmnaad gecompromitteerd door het verminderen van het aantal hechtingen. Het primaire doel hiervan is niet om lekkage te induceren, maar om te onderzoeken wat de ondersteunende werking van de tape ten opzichte van hechtingen is, en om te bestuderen of de tape ook de capaciteit heeft om grotere technische defecten af te dichten. In de normale klinische situatie is er meestal initieel geen sprake van grote defecten, maar kunnen deze wel secundair ontstaan als gevolg van genezingsstoornissen.

Betreft de relevantie van dag 7: Als lekkage in de eerste drie dagen voorkomen kan worden, betekent dit nog niet dat het in zijn geheel voorkomen kan worden. Het kan zijn dat het moment van klinisch relevante lekkage wordt uitgesteld door de tape, maar dat er in de loop van enkele dagen alsnog lekkage optreedt (in de humane situatie treedt lekkage ook regelmatig later op (tot en met 3 maanden) door afdekking van een lek met verklevingen). We hebben dag 7 redelijk arbitrair gekozen als een tijdstip waarop normaal de naad volledig genezen en sterk is, maar een subklinische lekkage vanwege de tape leidt tot klinische lekkage. Dag 7 zal alleen worden bestudeerd in de proximale colongroepen. De gevolgen van lekkage in het proximale colon zijn minder ernstig dan in het ileum en dus verwachten we minder ongerief. Bij eerdere experimenten was de mortaliteit 0% bij lekkage van een proximale colonnaad. Om onnodig ongerief te voorkomen zullen in de 'gestoorde naadgenezing' groepen de dag 7 groepen (5aD7/5bD7) alleen worden gedaan als op dag 3 al een verbetering blijkt met de tape.

- *Dierproef 2, J.* Over alle experimenten van de afgelopen 2 jaar was het percentage dieren dat het humane eindpunt heeft behaald lager dan 5 procent. Omdat het percentage in sommige groepen met gestoorde naadgenezing tussen de 6 en 7 procent is geweest en dit percentage kan variëren, hebben we het geschatte percentage voor deze aanvraag naar boven aangepast, namelijk naar 10%.
- *Dierproef 2, K.* Wij baseren onze schatting op de literatuur en de meer recente onderzoeksresultaten van de afgelopen 2 jaar (4 experimenten). Uit onze resultaten en ervaring blijkt dat er volgens de huidige definitie een ernstig ongerief was bij 12% in de ileum groepen en bij 0% in de proximale colon groepen. Dus voor het huidige project zou dat neerkomen op een gemiddelde van 2-3% in de lekkagegroepen, en dus in 1% van de totale dierproef. Uitgaande van eventuele variatie en onvoorziene omstandigheden houden we in deze proef rekening met een percentage van 10%. Derhalve menen wij dat 10% geen onderschatting is en hebben onze onderbouwing aan de aanvraag toegevoegd. Daarnaast hebben we ook de geschatte percentages vermeld bij de differentiatie in ongeriefscores.
- *Dierproef 3, 2A* In een volgende aanvraag zullen we dit apart beschrijven.
- *Dierproef 3,2A* Door de aanwezigheid van de tape en de bijkomende afbraak/ontstekingsreacties kunnen er op de lange termijn ook juist verzwakkingen in de

naad ontstaan. Daarom zal in een deel van de dieren (nog nader te bepalen) ook de sterkte van de naad worden gemeten. Deze toelichting hebben we verwerkt in de aanvraag.

- *-Dierproef 4, K.* Dit hebben we als zodanig verwerkt in de aanvraag.

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

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:

- uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling, namelijk 'om een nieuwe tape (■■■■) te onderzoeken op effectiviteit (versteving van darmnaden en preventie van naadlekkage) en veiligheid (vreemd lichaamsreactie en infectie potentiering)'. De hoofddoelstelling is uitgewerkt in vier daar logisch uit voortvloeiende onderzoeksvragen. Het zal duidelijk worden of de nieuwe flexibele tape de frequentie of de ernst van darmnaadlekkage na het aanbrengen van een anastomose bij ratten en varkens kan verminderen, en of het product voldoende veilig is (met name voor wat betreft het risico op ernstige weefselreacties, het risico op het verergeren van een infectie en het risico op langetermijncomplicaties) om uit te testen in de kliniek. Een dergelijke flexibele tape zou gebruikt kunnen worden om anastomosen te versterken en lekkage uit een defecte anastomose te voorkomen. Darmnaadlekkage na operaties waarbij (een deel van) de darm verwijderd is, kent een prevalentie van 4-15% en resulteert in abscessen en buikvliesontsteking en gaat gepaard met een hoge mortaliteit. Dit fenomeen wordt algemeen beschouwd als de ernstigste complicatie na darmchirurgie. De DEC acht het daarom van groot belang dat er nieuwe, verbeterde methoden beschikbaar komen voor het beschermen van anastomosen. Dit onderzoek kan daaraan bijdragen en vertegenwoordigt in de ogen van de DEC een substantieel belang.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak zijn wetenschappelijk verantwoord en kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Deze groep heeft veel ervaring in dit onderzoeksveld en met de voorgestelde dierproeven. De gebruikte diermodellen zijn robuust en goed reproduceerbaar. De gekozen aanpak leidt tot betrouwbare uitspraken over de veiligheid en effectiviteit van ■■■■ ter preventie van darmnaadlekkage. De

resultaten van het onderzoek kunnen de basis vormen voor een mogelijke klinische toepassing bij de mens.

5. Er is geen sprake van bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief wordt hoofdzakelijk veroorzaakt door het ondergaan van een laparotomie onder volledige narcose en het bijkomen hieruit en de postoperatieve pijn en hinder -tijdens de genezing van de anastomose. Bij een deel van de dieren zal de genezing bewust worden gecompromitteerd door toediening van NSAIDs of het aanbrengen van minder hechtingen, waardoor de kans op naadlekkage toeneemt. Bij een aantal dieren wordt een infectie in de buikholte aangebracht, waarvoor ze vervolgens behandeld worden. De DEC schat het ongerief als gevolg van de benodigde (her)laparotomieën in als matig. De dieren die peritonitis ontwikkelen ervaren ernstig ongerief. Het cumulatief ongerief voor het beschreven project is daarom terecht ingeschat als matig voor 92% van de ratten en 87% van de varkens. De overige dieren ervaren ernstig ongerief.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De onderdelen van het project die in vitro uitgevoerd kunnen worden zijn al uitgevoerd, voor de resterende onderzoeksvragen is onderzoek in de beschreven diermodellen noodzakelijk. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het project wordt gefaseerd uitgevoerd waardoor onnodige dierproeven worden voorkomen. Waar nodig worden eerst pilotexperimenten uitgevoerd om ervaring op te doen met het gebruikte model. In de lange termijn experimenten met varkens worden meerdere stukken tape per dier aangebracht om meer informatie per dier te verkrijgen. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en proportioneel ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De DEC is het eens met het beschreven onderzoeksmodel en de statistische onderbouwing van het aantal benodigde dieren. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 630 ratten en 112 varkens.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. Bij de opzet wordt rekening gehouden met dierenwelzijn door toepassing van goede pijnbestrijding en anesthesie tijdens de operaties, en adequate pijnbestrijding, verzorging en controles na afloop van de buikoperaties. De DEC is ervan overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project, zelfstandig leesbaar, beknopt en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

Op basis van de onder C genoemde overwegingen komt de DEC tot de volgende ethische afweging.

Met dit onderzoek worden belangrijke wetenschappelijke inzichten verworven in het gebruik van een

flexibele tape ter preventie van darmnaadlekkage, en de mogelijke complicaties van dit gebruik op korte en lange termijn bij ratten en varkens. Het is aannemelijk dat dit onderzoek kan bijdragen aan het ontwikkelen van een flexibele tape ter bescherming van anastomosen in de kliniek. Door velen wordt het optreden van naadlekkage beschouwd als de ernstigste complicatie binnen de heekunde. Het belang van het beschikbaar komen van materiaal dat darmnaadlekkage kan voorkomen, of de ernst daarvan kan beperken, acht de DEC dan ook substantieel, mede gezien de relatief hoge frequentie waarmee deze levensbedreigende complicatie optreedt na operaties waarbij een deel van de darm moet worden verwijderd en de continuïteit moet worden hersteld.

Tegenover dit substantiële belang staat het gegeven dat de dieren die in dit onderzoek gebruikt worden matig – en ongeveer 10 % van de dieren ernstig - ongerief zullen ondervinden als gevolg van de laparotomie en de genezing van de aangebrachte anastomose, al dan niet onder verslechterde omstandigheden die zich ook in de kliniek kunnen voordoen. De commissie is er van overtuigd dat bij de dierproeven adequaat invulling gegeven zal worden aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Het gebruik van de dieren en het daarbij optredende ongerief is onvermijdelijk, wil men de doelstellingen kunnen realiseren. De experimenten komen qua design overeen met wat in dit onderzoeksveld gebruikelijk is.

De DEC is van oordeel dat het hier boven geschetste belang de onvermijdelijke nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst, pijn of stress, rechtvaardigt. Aan de eis dat het belang van de experimenten op dient te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, is voldaan.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- 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

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



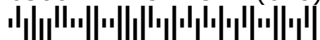
> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen



Postbus 9101

6500 HB NIJMEGEN (628)



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015242

Bijlagen

2

Datum 15 september 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 10 september 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD103002015242. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10300
Naam instelling of organisatie: Radboud Universiteit Nijmegen
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 41055629
Straat en huisnummer: Geert Groteplein-zuid 10
Postbus: 9101
Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN
IBAN: NL90ABNA0231209983
Tenaamstelling van het rekeningnummer: UMC St. Radboud

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]
Naam: [REDACTED]
Postbus: 9101
Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN (628)
Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee
Wat mag de gemachtigde doen?
 Een projectvergunning aanvragen
 Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
 Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
 Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
 Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 10 oktober 2015
Geplande einddatum: 10 oktober 2020
Titel project: Tape ter preventie darmnaadlekkage
Titel niet-technische samenvatting: Het gebruik van een tape om operatieve verbindingen tussen darmen af te dichten.
Naam DEC: DEC Radboud Universiteit (Rudec)
Postadres DEC: Geert Groteplein 10 6525 GA Nijmegen [REDACTED]
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 741,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Nijmegen
Datum: 10 september 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen



Postbus 9101

6500 HB NIJMEGEN (628)



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015242

Bijlagen

2

Datum 15 september 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 15 september 2015

Vervaldatum: 15 oktober 2015

Factuurnummer: 15700242

Ordernummer: 2015-0013/

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD103002015242	€ 741,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen

██████████

██████████

Postbus 9101

6500 HB NIJMEGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD103002015242

Datum 28 september 2015

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 10 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Tape ter preventie darmnaadlekkage" met aanvraagnummer AVD103002015242. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Onduidelijkheden

In de Beschrijving Dierproeven geeft u aan mannelijke ratten en vrouwelijke varkens te willen gebruiken. Kunt u aangeven of het mogelijk is om ook vrouwelijke ratten te gebruiken? Kunt u daarnaast aangeven waarom u voor vrouwelijke varkens kiest?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

Leges

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

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

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet

Bijlagen

1

compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post

Datum

28 september 2015

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD103002015242



Melding

Bijlagen via de post

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

1 Uw gegevens

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

2 Bijlagen

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

3 Ondertekening

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

Nijmegen

01-10-2015

Geachte leden van de CCD,

Naar aanleiding van uw brief waarin u vraagt om opheldering over het gebruik van mannelijke ratten en vrouwelijke varkens in ons project "Tape ter preventie darmnaadlekkage" (aanvraagnummer AVD103002015242), geven wij de hierna volgende uitleg:

Aangezien wij in een kleiner proefdier willen starten en al ruim 20 jaar ervaring hebben met darmanastomoses in mannelijke Wistar ratten, willen wij ook nu mannelijke ratten gebruiken. Hiermee waarborgen we dat er gebruik wordt gemaakt van een solide gevalideerd naadlekkage model. In de literatuur zijn er geen aanwijzingen dat naadlekkage bij vrouwelijke ratten anders verloopt dan bij mannelijke ratten. Toch als nu wordt overgegaan op vrouwelijke ratten is er een, weliswaar zeer kleine, mogelijkheid dat het model verrassingen laat zien en wij genoodzaakt zijn extra dieren te moeten gebruiken om het model te valideren. In de naadlekkage literatuur wordt ook bij voorkeur mannetjes gebruikt (Erginel, 2014; Ji, 2015). Dit maakt het mogelijk om uiteindelijke resultaten goed te vergelijken met die van andere groepen onderzoekers.

Het keuze voor het gebruik van vrouwelijke varkens hebben wij gebaseerd op advies vanuit het [REDACTED]. Binnen het [REDACTED] is er veel meer ervaring met vrouwelijke varkens, deze laten zich veel beter "handelen", zijn rustiger en bij vrouwelijke varkens is het inbrengen van een blaaskatheter via de urinewegen (atraumatisch) mogelijk in tegenstelling tot mannelijke varkens. Deze blaaskatheter is nodig voor de vocht monitoring tijdens de ingreep en het constant houden van de onderzoekscondities. Wij hebben geen aanwijzing dat de naadgenezing anders verloopt bij vrouwelijke in vergelijking met mannelijke varkens.

Samenvattend zijn er overwegend methodologische en praktische argumenten voor de keuze van het geslacht van het proefdier tegen de achtergrond dat er geen verschil lijkt te zijn in de pathofysiologie van naadgenezing en naadlekkage in de experimentele en klinische literatuur.

Wij hopen u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd.

met vriendelijke groet

[REDACTED]



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Radboud Universiteit Nijmegen

Postbus 9101

6500 HB NIJMEGEN (628)



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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD103002015242

18 NOV. 2015

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 10 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Tape ter preventie darmnaadlekkage" met aanvraagnummer AVD103002015242. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 2 oktober 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld. Het betreft de geslachten van de dieren.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10 lid 1a van de wet, wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Tape ter preventie darmnaadlekkage" starten. De vergunning wordt afgegeven van 12 oktober 2015 tot en met 10 oktober 2020.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

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

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Radboud Universiteit (Rudec) gevoegd. Dit advies is opgesteld op 31 augustus 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. De CCD stelt wel algemene voorwaarden aan dit project. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

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

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

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

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

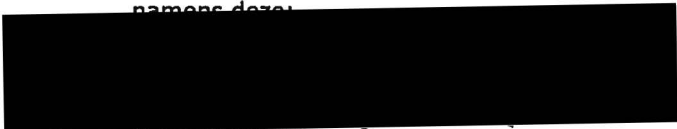
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



M. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Radboud Universiteit Nijmegen
Adres: Postbus 9101
Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN
Deelnemersnummer: 10300

deze projectvergunning voor het tijdvak 12 oktober 2015 tot en met 10 oktober 2020, voor het project "Tape ter preventie darmaadlekage" met aanvraagnummer AVD103002015242, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Radboud Universiteit (Rudec).

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED] Voor de uitvoering van het project is [REDACTED] verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 10 september 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 10 september 2015;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 10 september 2015;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 31 augustus 2015, ontvangen op 10 september 2015.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 2 oktober 2015

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Proof of principle - rat	Ratten (Rattus norvegicus) / Wistar, 2-3 maanden	120	Matig / moderate	
Effectiviteit - rat	Ratten (Rattus norvegicus) / Wistar, 2-3 maanden	330	Ernstig / severe	
Veiligheid - rat	Ratten (Rattus norvegicus) / Wistar, 2-3 maanden	180	Ernstig / severe	
Veiligheid en effectiviteit - varken	Varkens (Sus scrofa domesticus) / 40-60 kg, zeugen	112	Ernstig / severe	

Voorwaarden

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

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

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

In alle dierproeven waar ratten worden gebruikt, worden mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplusdieren in voorraad moeten worden gedood. De aanvrager mag de uitkomsten van de eerste onderzoeken waarbij beide geslachten gebruikt worden rapporteren aan de CCD. De uitkomst van deze eerste onderzoeken kan voor de CCD aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten, bij deze projectvergunning te wijzigen of in te trekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

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

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

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

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

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

Beoordeling achteraf

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

project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van lijden van de proevendieren conform de vergunning waren.