

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
	<b>NTS2015275</b>								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Niet-technische samenvatting	x							
3	Projectvoorstel				x			x	
4	Bijlage beschrijving dierproeven				x			x	
6	DEC-advies				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8	Advies CCD		x						x
9	Beschikking en vergunning				x		x	x	
10	Mail beschikking 3-12-2015				x		x	x	
11	Mail terugkoppeling 7-12-2015				x		x	x	



14 OKT. 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](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

Ja > Vul uw deelnemernummer in 10300 1275  
 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

KvK-nummer 4 1 0 5 5 6 2 9

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

Straat en huisnummer Geert Groteplein 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  Dhr.  Mw.

Functie arts onderzoeker in opleiding

Afdeling

Telefoonnummer

E-mailadres

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

(Titel) Naam en voorletters  Dhr.  Mw.

Functie

Afdeling

Telefoonnummer

E-mailadres

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

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 0 8 . 1 1 . 2 0 1 5
- Einddatum 0 8 . 1 1 . 2 0 1 7
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- In vivo degradation and tissue response of poly(TMC)-E-caprolacton based networks
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Een studie naar de onderhuidse weefselreactie op, en de afbraak van, poly(TMC)-E-capr
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC RU DEC
- Postadres Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen
- 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 12 - 10 - 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.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

## 1 General information

- |     |  |  |
|-----|--|--|
| 1.1 | Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. | 10300  |
| 1.2 | Provide the name of the licenced establishment.  | Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen                                   |
| 1.3 | Provide the title of the project.  | A study to identify the best suited material for meniscus tissue engineering |

## 2 Categories

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

The menisci fulfill key biomechanical functions in the knee joint.[ref 1] Unfortunately, traumatic meniscal injuries are quite common, accompanied by acute clinical symptoms such as knee pain, locking, and joint effusions. First documented treatments embraced swift and total meniscectomy to ameliorate acute symptoms. However, an increased understanding of the osteoarthritic changes that occur after total meniscectomy made clear that it is beneficial to save as much meniscal tissue as possible. This conception led to an increased clinical and scientific interest to develop new treatment strategies for meniscal injuries, aimed to prevent osteoarthritic changes otherwise encountered with arthroscopic (partial) meniscectomy. For example, meniscus repair by suturing is nowadays being performed preferentially above arthroscopic partial meniscectomy. However, meniscus repair by suturing is only suited for a limited part of all traumatic meniscal injuries, and the majority of the meniscal injuries is still treated by removing the meniscus, either completely or partially.

A functional meniscus implant that slowly resorbs and simultaneous allows the formation of new tissue would be of enormous benefit for patients faced with an injured meniscus. Synthetic biodegradable polymers are the materials of choice to create such implants. Such implant will act as a temporary replacement of the lost meniscus. After tissue ingrowth and resorption of the polymer, complete restoration of meniscus functionality is achieved and osteoarthritic degeneration will be prevented. We identified a number of properties that are of critical importance for the success of a functional meniscus implant [ref 1]: The anatomical shape of the implant and its mechanical properties should resemble those of the native meniscus as closely as possible. The structure of the internal pore network of the implant should enable the direct differentiation of ingrowing tissue into the typical meniscus tissue. For this, the pores should be highly anisotropic and oriented in a similar way as the orientation of the collagen bundles in the native meniscus. Furthermore, the implant surface should have excellent tribological properties to minimize friction in the joint.

So far it has not been possible to produce such an implant with conventional technologies.[ref 1]

We want to develop a functional tissue regenerating implant for the replacement of a meniscus using high resolution stereolithography (SLA). This advanced processing technology allows the generating of anatomically shaped implants from graphical computer data based on CT or MRI images. The technique also allows the creation of predesigned anisotropic internal pore architecture, optimized for the direct differentiation of ingrowing

tissue into meniscus tissue. For this, **poly- 1,3-trimethylene carbonate (i.e. PTMC )** based resins that cure into biodegradable flexible networks upon illumination with light will have to be developed.

**Linear PTMC is a flexible, biocompatible polymer that has been shown to degrade by surface erosion in vivo without the formation of acidic compounds.[ref 2, 3] Crosslinking of PTMC macromers (methacrylate functionalized oligomers) results in form-stable and creep resistant elastomeric networks with a high stiffness.[ref 3] Network properties can be varied by varying the molecular weight of the initial PTMC macromer, allowing the creation of structures with any desired stiffness and strength.[ref 3] Rigid and brittle materials can be obtained by crosslinking macromers with low molecular weight, while crosslinking of macromers with relatively high molecular weight will result in flexible, rubber-like elastomers. [ref 4]**

**Photo crosslinked networks of PTMC demonstrated good cell biocompatibility good tissue tolerance after subcutaneous implantation in rats (own research, manuscript in preparation). The tissue response was characterized by a mild foreign body reaction resulting in encapsulation of the implants (own research, manuscript in preparation). However, the rate of degradation was observed to be too slow for these PTMC networks to be used as a biomaterial to prepare a meniscus scaffold. (own research, manuscript in preparation. Preparing photo crosslinked networks of copolymers of PTMC and either caprolacton or d,l-lactide (DLLA) provide means to tune the degradation rate of the networks. In their linear form (e.g. not crosslinked and not processed via stereolithography) both PTMC copolymers are biodegradable and biocompatible materials.[ref 3]**

**Preliminary in vitro studies (unpublished data, own research) demonstrated that photo crosslinked networks of copolymers of PTMC and DLLA degraded too fast and via bulk degradation (unpublished data, own research), and are therefore believed unsuitable for meniscus tissue engineering. On the other hand, networks of copolymers of PTMC and caprolacton demonstrated a more suitable degradation profile in vitro, making them attractive candidates for meniscus tissue engineering. However, the suitability of these materials will have to be further evaluated in vivo in a clinically relevant animal model.**

1. Rongen JJ, van Tienen TG, van Bochove B, Grijpma DW, Buma P. Biomaterials in search of a meniscus substitute. Biomaterials. 2014;35(11):3527-3540.

[this reference provides a comprehensive summary of all current biomaterials that have been used in order to develop a meniscus substitute. In this review we provide an overview, and discuss, these different materials and extract recommendations regarding material properties for future developmental research]

2. Bat E, Harmsen MC, Plantinga JA, van Luyn MJ, Feijen J, Grijpma DW. Flexible scaffolds based on poly(trimethylene carbonate) networks for cardiac tissue engineering. J Control Release. 2010;148(1):e74-76.

3. Pego AP, Van Luyn MJ, Brouwer LA, et al. In vivo behavior of poly(1,3-trimethylene carbonate) and copolymers of 1,3-trimethylene carbonate with D,L-lactide or epsilon-caprolactone: Degradation and tissue response. J Biomed Mater Res A. 2003;67(3):1044-1054.

4. Schuller-Ravoo S, Feijen J, Grijpma DW. Flexible, elastic and tear-resistant networks prepared by photo-crosslinking poly(trimethylene carbonate) macromers. Acta Biomaterialia. 2012;8(10):3576-3585.

---

### 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?

The main objective of this study is to determine the in vivo degradation behavior (rate and **underlying mode of degradation**) of poly(TMC) /  $\epsilon$ -caprolactone based networks.

As a secondary objective, assessed within the same experimental set up, we want to study the in vivo tissue response of these networks.

**This experiment is part of a larger project assigned by [REDACTED] and all current research is regularly assessed [REDACTED].**

**This project will be carried out at the [REDACTED] Both laboratories are very well equipped to carry out the proposed research.**

**Specifically [REDACTED] the essential testing equipment, and technical expertise is available. The laboratory is well equipped for tissue processing for histology. The required analytical and technical procedures are carried out according to routine operating procedures. Immunohistochemical procedures are available. The [REDACTED] is up-to-date, and is ISO 9001 : 2008 certified.**

**[REDACTED] dedicated laboratory facilities for the synthesis of biodegradable polymers and their processing into medical devices are available. Characterization methods of oligomers and polymeric materials and their surfaces are operational: DSC, GPC, NMR, end-group analysis, viscometry, FTIR, UV-VIS, AFM, SEM, XPS, surface contact angle measurements, tensile testing, DMA, etc. Conventional and advanced polymer processing and structure characterization methods are present as well: compression molding, injection molding, extrusion, 3D-plotting, SLA, micro-CT.**

### 3.3 Relevance

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

The menisci fulfill key biomechanical functions in the knee joint, distributing loads over two incongruent moving articular surfaces. A meniscus scaffold will act as a temporary replacement of the lost meniscus. After tissue ingrowth and resorption of the polymer, complete restoration of meniscus functionality is achieved. The **degradation rate** of a meniscus scaffold should take long enough time for adequate tissue ingrowth and organization in such way that itself can provide mechanical support. During this tissue ingrowth, the framework of the scaffold itself should provide mechanical support. Too fast degradation, losing the framework before adequate tissue ingrowth and organization, will have deleterious effect of the pursued function of the scaffold-tissue construct.

With respect to the **mode of degradation**, a surface degradation profile (in which size and mass of the scaffold decrease linear in time, whereas molecular weight and mechanical properties of the polymer itself remain unchanged) is required. A bulk degradation profile (in which polymer chain

scission occur throughout the specimen, losing its mechanical properties before its mass, but retaining its external dimensions until disintegration at a critical time point) is not desired.

Next to the evaluation of the degradation rate and **mode of degradation**, we will evaluate the tissue response of the materials after implantation. This is important because material - tissue compatibility (biological safety) is a requisite for future application of a meniscus scaffold in humans.

---

### 3.4 Research Strategy

---

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

---

Implants of three different P(TMC) networks will be prepared, with varying percentages of  $\epsilon$ -Caprolactone. These implants will be implanted subcutaneously on the back of rats, under general anesthesia. Multiple implants will be implanted per rat, which will be used either for evaluation of implant degradation or the evaluation of tissue response.

**In this experiment we will address degradation of the networks subcutaneously instead of addressing it in its intended location of future use (intra-articular in the knee joint). We assume that similar cell mediated processes, triggered by an inflammatory response, responsible for the expected surface degradation will be present in both locations (either subcutaneously as well as in a well vascularized region of the knee joint). So, we assume that the information obtained from the subcutaneous degradation study can be, in part, translated to an intra-articular environment.**

Degradation will have to be assessed at various time points, allowing the characterization of the **mode of degradation**. Moreover, local tissue responses will have to be evaluated relative to the degradation process of the implant at various time points. Therefore, rats will be sacrificed at **five** time points.

We will use both early time points (where there is no or minimal degradation) as well as at late time points (when degradation is taking place and/or when a steady state has been reached resulting in tissue restoration)

The primary outcome measure will be mass loss after subcutaneous implantation in the context of evaluation of degradation. Secondary outcome measures are: loss in thickness of implants, change in mechanical properties of implants (e.g. stiffness, elongation at break, stress at break, yield point), surface visualization by SEM of implants, and tissue response.

These outcomes provide detailed information on rate and **mode** of degradation of the different networks, as well as information on tissue response over time.

---

#### 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.

---

The project proposal encompasses only one component (e.g. one coherent animal experiment). The strategy of this component was addressed in 3.4.1

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

---

The project proposal encompasses only one component (e.g. one coherent animal experiment). The strategy of this component was addressed in 3.4.1

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	1. In vivo degradation and tissue response of poly(TMC) based networks in rats

## Appendix

### Description animal procedures

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

## 1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10300	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen	
1.3	List the different types of animal procedures. <i>Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.</i>	Serial number 1	Type of animal procedure 1. In vivo degradation and tissue response of poly(TMC) based networks in rats

## 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.

---

The main objective of this study is to determine the in vivo degradation behavior of poly(TMC) /  $\epsilon$ -Caprolactone based networks. As a secondary objective, assessed within the same experiment, we want to study the in vivo tissue response of these implants.

Films of three different P(TMC) networks will be prepared, with varying percentages of  $\epsilon$ -Caprolactone. These implants (**dimensions  $\pm 20 \times 10 \times 0.5$  (lxbxh)**) will be implanted subcutaneously in the back of rats, under general anesthesia. Per rat, four subcutaneous pockets will be made. Three films per rat (one of each network) will serve to evaluate in vivo degradation behavior, whereas a fourth implant will be removed complete with its surrounding tissue to evaluate tissue response.

Rats will be sacrificed and implants evaluated after early follow up time points (0-12 weeks) where there is no or minimal degradation, and late follow up time points (24-54 weeks) when degradation is taking place and when a steady state has been reached resulting in tissue restoration.

The primary outcome measure will be mass loss after subcutaneous implantation.

Secondary outcome measures are: loss in thickness, change in mechanical properties (e.g. stiffness, elongation at break, stress at break, yield point), surface visualization by SEM, and tissue response (semi quantitative grading scale).

These outcomes provide detailed information on rate and **mode** of degradation of the different networks, and its tissue response over time.

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

---

The implants will be implanted, under sterile conditions, subcutaneous on the back of the rats, under general anesthesia. After implantation the wounds will be surgically closed, upon which the rats are housed in pairs in standard cages.

Rats will be sacrificed and implants evaluated after early follow up time points (0-12 weeks) where no or minimal degradation is expected (based on pilot studies), and late follow up time points (24-54 weeks) when degradation is expected and when a steady state will have been reached resulting in tissue restoration. **We will apply 5 time points, divided over early and late time points.**

Using different time points of follow up allows the characterization of the **mode** underlying the degradation. Moreover, different time points allow evaluation of local tissue responses relative to the degradation process of the implant

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

Previous experiments demonstrated that it is possible to implant a maximum of 4 implants in four separate non communicating subcutaneous pockets on the back of rats. By implanting several implants per rat we are able to reduce the number of animals needed for the experiment. Moreover, previous experiments showed that we **will need 8 animals per time point (with 5 time points we will need 40 animals in total)** to be able to demonstrate a clinical meaningful loss in mass with statistical significance (a more detailed sample size calculation will be performed prior to the start of the experiment).

## B. The animals

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

Small animals are preferred for this experiment. Of the small animals, rats have the advantage that several implants can be implanted within the same animal. Moreover, we have experience with using rats as the animal model, and it allows comparison of the results with our previous experiments. We will use both male and female rats in our experiment.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
rats	registered breeding facility	40	280-320 gr

## C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

No

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

## D. Replacement, reduction, refinement

---

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

---

Replacement: Because it is not completely understood what processes are responsible for the degradation of the networks, it is still not possible to replicate this process in a bioreactor. Therefore this experiment cannot be performed without in vivo conditions.

Reduction: Reduction will be achieved by performing a statistical sample size calculation prior to the experiment and the placement of multiple implants per animal

Refinement: It is our experience that the rats only experience **moderate** discomfort perioperatively, this will be treated by providing adequate analgesia. Alternatively, reducing the number of implants per rat will increase the total number of rats needed in the experiment. But, since the discomfort is only **moderate**, reducing the number of implants per rat is not necessary.

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

---

Adequate pain relief pre and post operatively. Housing in pairs.

## 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.

---

not applicable

## Accommodation and care

### F. 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.





#### 4) The purpose of the experiment has been reached;

The responsible investigator should contact the animal welfare body if criteria 1, 2, 3 and / or 4 are applicable and the animal is not taken out of experiment.

If criteria 1, 2 and / or 3 are applicable, and the responsible investigator is unreachable, than the decision to take an animal out of the experiment is made by an animal caretaker/ biotechnical assistant/ related investigator, preferably after consultation.

Indicate the likely incidence.

---

**The risk for developing an infection is limited, therefore the expected incidence of humane endpoints is smaller than 1%.**

#### 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 ).

---

**moderate**

## End of experiment

#### L. Method of killing

---

Will the animals be killed during or after the procedures?

---

No

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

---

Of the four implants that will be implanted on the back of every rat, one of these implants will be used to evaluate the tissue response to the implants. For this purpose, we need to explant this implant completely with its surrounding skin and tissue. This creates a irreparable transdermal defect which is not compatibe with life.

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 2015-0087
2. Titel van het project: A study to identify the best suited material for meniscus tissue engineering
3. Titel van de NTS: Een studie naar het juiste materiaal voor meniscusimplantaten
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: 21-07-2015
  - aanvraag compleet
  - in vergadering besproken: 04-08-2015 en
  - anderszins behandeld
  - termijnonderbreking(en) van 13-08-2015 tot 02-09-2015 en van 15-09-2015 tot 16-09-2015
  - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
  - aanpassing aanvraag: 02-09-2015 en 16-09-2015
  - advies aan CCD:09-10-2015
7. Eventueel horen van aanvrager
  - Datum
  - Plaats
  - Aantal aanwezige DEC-leden
  - Aanwezige (namens) aanvrager
  - Strekking van de vraag / vragen
  - Strekking van het (de) antwoord(en)
  - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
  - Datum: 13-08-2015
  - Strekking van de vragen:  
**Niet-technische samenvatting:**  
4.2 Het woord 'niet' staat ten onrechte in deze zin.  
3.5 De verwachte ernst is voor 100% van de dieren matig i.p.v. licht.

### Project Proposal:

-3.1 De aard van het materiaal is onvoldoende beschreven in de tekst. De onderzoekers worden verzocht dit toe te voegen, inclusief verwijzingen naar literatuur hierover.

-3.1 en 3.2 De laatste alinea van onderdeel 3.1 gaat over de haalbaarheid van het project, en dient verplaatst te worden naar onderdeel 3.2.

3.3 De commissie is van mening dat niet het mechanisme maar de wijze (mode) van degradatie wordt onderzocht. De onderzoekers worden verzocht dit in de hele aanvraag aan te passen.

-3.3 Is subcutane plaatsing een goede voorspeller voor degradatie in het kniegewricht? De dikte van het implantaat zal hier ook een rol in spelen. De onderzoekers worden verzocht beter te onderbouwen waarom ectopische plaatsing relevante informatie oplevert.

#### **Description of Animal Procedures:**

-A De afmetingen van het implantaat ontbreken.

-B Het is onduidelijk waarom er 40 dieren nodig zijn voor dit experiment. Kunnen de onderzoekers aangeven en onderbouwen welke tijdstippen zij willen onderzoeken, en vermelden hoeveel dieren er per tijdstip nodig zijn?

-H. De onderzoekers dienen hier de middelen te noemen die gebruikt worden voor anesthesie en pijnbestrijding (vermelding van concentraties e.d. is niet nodig). Vervolgens mag inderdaad naar het gebruik van standaard protocollen verwezen worden.

-J. De incidentie van humane eindpunten is niet ingevuld. Het risico op infecties is zeer klein, hetgeen zal leiden tot een incidentie van humane eindpunten kleiner dan 1%.

-K. Het ongerief van een dier dat onder narcose geopereerd wordt en daarna weer ontwaakt is matig i.p.v. licht.

- Datum antwoord: 02-09-2015
- Strekking van de antwoorden:

#### **Niet-technische samenvatting:**

4.2 Reactie: Het woord 'niet' staat inderdaad te onrechte in deze zin.

Actie: "...om zo te voorkomen dat ~~niet~~ meer dieren gebruikt worden dan noodzakelijk."

3.5 Reactie: Indien het ongerief van een dier dat onder narcose geopereerd wordt en daarna weer ontwaakt matig i.p.v. licht is (ongeacht de duur en de aard van de ingreep) nemen we deze aanbeveling graag over. (zie ook: Animal procedures, sectie K)

Actie: Indeling naar de verwachte ernst: 100% matig

#### **Project Proposal:**

-3.1 Reactie: Achtergrond informatie betreffende het materiaal ontbreekt inderdaad. Hierbij moet worden vermeld dat de materialen in het huidige experiment nieuw ontwikkelde materialen zijn met een chemische samenstelling die niet eerder, of slechts in beperkte mate, beschreven zijn. Tegemoetkomend aan het verzoek van de commissie beschrijven we de aard van het materiaal beter. Naast verwijzingen naar de literatuur zijn we genoodzaakt ook te verwijzen naar nog niet gepubliceerd (eigen) onderzoek.

Actie: tekst toegevoegd:

Linear poly- 1,3-trimethylene carbonate (i.e. PTMC) is a flexible, biocompatible polymer that has been shown to degrade by surface erosion in vivo without the formation of acidic compounds.[ref 2, 3] Crosslinking of PTMC macromers (methacrylate functionalized oligomers) results in form-stable and creep resistant elastomeric networks with a high

stiffness.[ref 3] Network properties can be varied by varying the molecular weight of the initial PTMC macromer, allowing the creation of structures with any desired stiffness and strength.[ref 3] Rigid and brittle materials can be obtained by crosslinking macromers with low molecular weight, while crosslinking of macromers with relatively high molecular weight will result in flexible, rubber-like elastomers. [ref 4]

Photo crosslinked networks of PTMC demonstrated good cell biocompatibility and good tissue tolerance after subcutaneous implantation in rats (own research, manuscript in preparation). The tissue response was characterized by a mild foreign body reaction resulting in encapsulation of the implants (own research, manuscript in preparation). However, the rate of degradation was observed to be too slow for these PTMC networks to be used as a biomaterial to prepare a meniscus scaffold. (own research, manuscript in preparation). Preparing photo crosslinked networks of copolymers of PTMC and either caprolactone or D,L-lactide (DLLA) provide means to tune the degradation rate of the networks. In their linear form (e.g. not crosslinked and not processed via stereolithography) both PTMC copolymers are biodegradable and biocompatible materials.[ref 3]

Preliminary in vitro studies (unpublished data, own research) demonstrated that photo crosslinked networks of copolymers of PTMC and DLLA degraded too fast and via bulk degradation (unpublished data, own research), and are therefore believed unsuitable for meniscus tissue engineering. On the other hand, networks of copolymers of PTMC and caprolactone demonstrated a more suitable degradation profile in vitro, making them attractive candidates for meniscus tissue engineering. However, the suitability of these materials will have to be further evaluated in vivo in a clinically relevant animal model.

[Ref 2.] Bat E, Harmsen MC, Plantinga JA, van Luyn MJ, Feijen J, Grijpma DW. Flexible scaffolds based on poly(trimethylene carbonate) networks for cardiac tissue engineering. *J Control Release*. 2010;148(1):e74-76.

[Ref 3.] Pego AP, Van Luyn MJ, Brouwer LA, et al. In vivo behavior of poly(1,3-trimethylene carbonate) and copolymers of 1,3-trimethylene carbonate with D,L-lactide or epsilon-caprolactone: Degradation and tissue response. *J Biomed Mater Res A*. 2003;67(3):1044-1054.

[Ref 4.] Schuller-Ravoo S, Feijen J, Grijpma DW. Flexible, elastic and tear-resistant networks prepared by photo-crosslinking poly(trimethylene carbonate) macromers. *Acta Biomaterialia*. 2012;8(10):3576-3585.

-3.1 en 3.2 Reactie: Deze informatie over de haalbaarheid van het project behoort inderdaad onder onderdeel 3.2

Actie: De laatste alinea van onderdeel 3.1 werd verplaatst naar onderdeel 3.2

3.3 Reactie: Strikt gesproken wordt er inderdaad gekeken naar de manier/wijze/mode e.d. waarop de netwerken degraderen en niet naar het mechanisme dat daar aan ten grondslag ligt.

Actie: In de gehele aanvraag is aangepast dat het gaat om de wijze van degradatie i.p.v. het mechanisme van degradatie.

3.2 purpose: "... degradation behavior (rate and underlying mode of degradation)..."

3.3 Relevance: "With respect to the mode of degradation, ..."

3.3 Relevance; “Next to the evaluation of the degradation rate and mode of degradation...”

3.4.1 research strategy: “”...characterization of the mode of degradation”

3.4.1 research strategy: “...on rate and mode of degradation..”

A.1 : “...on rate and mode of degradation...”

A.2 ”...characterization of the mode underlying the degradation...”

3.3 Reactie: Met het oog op de toepassing waarvoor de huidige materialen worden onderzocht, heeft het theoretisch de voorkeur om de degradatie te bepalen binnen de specifieke situatie waarvoor en waarin het uiteindelijke biomateriaal geplaatst zal worden. Dit impliceert een degradatiestudie van een poreuze structuur, met anatomisch correcte afmetingen, binnen het kniegewricht, onder belastende omstandigheden. Dit experiment zal echter, vanwege praktische overwegingen, plaats moeten vinden in een groter diermodel, waarnaast er ook meer dieren gebruikt zullen moeten worden in verband met de beperkte plaatsingsmogelijkheden van de verschillende materialen. De vraag is of dit recht doet aan de te beantwoorden vraag/vragen en of we niet af kunnen met een simplistisch(er) (dier-)model.

Onze, te toetsen, verwachting is dat de netwerken degraderen via oppervlakte degradatie. Deze oppervlakte degradatie zal verlopen via enzymatische processen waarvoor cellen verantwoordelijk zijn die worden aangetrokken tijdens een inflammatoire respons. Het type en de omvang van deze cellulaire response is voor een deel afhankelijk van het biomateriaal zelf en niet louter van de locatie, of dit nu ectopisch plaats vindt of intra-articular (in een gevasculariseerd gebied). We verwachten dus dat, hoewel ectopische plaatsing van de implantaten theoretisch niet het meest ideaal is, dit wel degelijk kan worden beschouwd als een voorspeller van de degradatie in het kniegewricht. De dikte van het implantaat is voor het gedrag/mode/wijze van degradatie minder van belang dan bij een oppervlak degradatie in vergelijking met een bulk degradatie. Het is inderdaad wel zo dat het oppervlak (in verhouding tot het volume) wel een rol zal spelen bij de absolute snelheid van de degradatie. Daarnaast is het voordeel van ectopische plaatsing dat 1) de resultaten beter vergeleken kunnen worden met andere, eerder geteste, biomaterialen en 2) de resultaten beter gebruikt kunnen worden mocht er overwogen worden het geteste biomateriaal te gebruiken binnen andere toepassingen.

Actie: toegevoegd in sectie 3.4.1: In this experiment we will address degradation of the networks subcutaneously instead of addressing it in its intended location of future use (intra-articular in the knee joint). We assume that similar cell mediated processes, triggered by an inflammatory response, responsible for the expected surface degradation will be present in both locations (either subcutaneously as well as in a well vascularized region of the knee joint). So, we assume that the information obtained from the subcutaneous degradation study can be, in part, translated to an intra-articular environment.

#### **Description of Animal Procedures:**

-A Reactie: De precieze afmetingen van het implantaat ontbreken momenteel in de huidige beschrijving en een schatting van de te gebruiken afmetingen zal worden toegevoegd.

Actie: toegevoegd in sectie A1: (dimensions  $\pm$  20x10x0.5 mm (lxbxh))

-B Reactie: Bij het schrijven van het project proposal zijn we voor het bepalen van het aantal benodigde dieren uit gegaan van onze eerdere ervaringen met soortgelijke experimenten. Waarbij we bij het opstellen van het werkprotocol een gedegen sample size berekening zullen uitvoeren. De onderbouwing voor het gebruik van verschillende tijdstippen wordt beschreven in sectie A2 binnen animal procedures. Hoeveel tijdstippen we uiteindelijk willen hanteren ontbreekt hier inderdaad. In het huidige experiment zullen er vijf tijdstippen zijn, per tijdstip zullen we naar schatting 8 ratten nodig hebben om een relevante afname in massa aan te kunnen tonen tussen twee onafhankelijke metingen op verschillende tijdstippen.

Actie:

-toevoegen aan sectie A2: We will apply 5 time points, divided over early and late time points.

-Veranderen aan sectie A3: will need 8 animals per time point (with 5 time points we will need 40 animals in total) to be able to demonstrate a clinical meaningful loss in mass with statistical significance (a more detailed sample size calculation will be performed prior to the start of the experiment).

-H. Reactie: We gebruiken isoflurane als anesthesia en carprofen als analgesie.

Actie: toegevoegd in sectie H3: (anesthesia by using isofluraan, and perioperative pain management by using carprofen)

-J. Reactie: De incidentie van humane eindpunten was niet ingevuld omdat we naast de standaard humane eindpunten geen experiment specifieke eindpunten verwachten. De standaard humane eindpunten worden uiteraard meegenomen. Dit zal alsnog expliciet worden vermeld in de aanvraag, waarin we ook meenemen dat de verwachte incidentie ervan lager is dan 1%.

Actie: J1: Yes

J2: We will apply general humane endpoints according to 'OECD Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation' (OECD Guidance Document 19, 2000)

J3: The risk for developing an infection is limited, therefore the expected incidence of humane endpoints is smaller than 1%.

-K. Reactie: Indien het ongerief van een dier dat onder narcose geopereerd wordt en daarna weer ontwaakt matig i.p.v. licht is (ongeacht de duur en de aard van de ingreep) nemen we deze aanbeveling graag over.

Actie: K1: moderate

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
- Datum: 15-09-2015
- Strekking van de vragen:
- U verwijst voor de humane eindpunten naar 'OECD Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in



Safety Evaluation'. De humane eindpunten die hierin beschreven zijn liggen erg ver weg, en in de meeste gevallen is het niet te rechtvaardigen om de dieren te laten zitten totdat het zo wordt. Zou u met de IvD willen overleggen over de te hanteren humane eindpunten en deze aanpassen?

Datum antwoord: 16-09-2015

- Strekking van de antwoorden:
  - De te hanteren humane eindpunten zijn in overleg met de IvD aangepast.
  - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)
- Aard expertise
  - Deskundigheid expert
  - Datum verzoek
  - Strekking van het verzoek
  - Datum expert advies
  - Expert advies

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

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

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:
  - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling, namelijk 'to determine the in vivo degradation behavior (rate and underlying mode of degradation) of poly (TMC) / e-caprolactone based networks' en 'to study the in vivo tissue response of these networks'. Een beschadigde meniscus leidt vaak tot pijn en vocht in de knie en onbeweeglijkheid van het kniegewricht. Een therapie waarbij de meniscus behouden blijft (zoals hechten) geeft de beste resultaten op de lange termijn, maar is meestal niet mogelijk. De meest toegepaste therapie, namelijk (gedeeltelijke) verwijdering van de meniscus, leidt tot kraakbeenslijtage waardoor op de lange termijn een knieprothese nodig kan zijn. De te behalen onderzoeksresultaten zullen duidelijk maken of de onderzochte polymeer netwerken mogelijk toegepast kunnen worden om (delen van) een meniscus tijdelijk te vervangen totdat de meniscus weer is aangegroeid. Deze resultaten kunnen op termijn leiden tot de ontwikkeling van effectievere therapieën voor mensen met een beschadigde meniscus. Gezien de hoge prevalentie van deze aandoening en de ermee gepaard gaande invaliditeit acht de DEC het belang van de doelstelling substantieel.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak 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 gekozen aanpak leidt tot betrouwbare uitspraken over de biocompatibiliteit en de wijze van degradatie van de polymeer netwerken, en geeft een indicatie van de mogelijke toepasbaarheid als tijdelijke vervanging van (delen van) een meniscus.

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 bepaald door de subcutane plaatsing van biomaterialen en het herstel daarvan. De DEC schat het ongerief als gevolg van de benodigde operatie onder algehele anesthesie in als matig, met daarbij de opmerking dat het een relatief lichte ingreep betreft, die normaal gesproken gevolgd wordt door een ongecompliceerd herstel. Het ongerief als gevolg van het doden onder anesthesie is terminaal. Het cumulatief ongerief voor de ratten in de beschreven vergunningaanvraag is dus juist ingeschat als matig voor alle dieren.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De doelstelling van het project kan niet gerealiseerd worden zonder proefdieren of door gebruik van minder complexe diersoorten. De degradatie van polymeer netwerken kan niet nagebootst worden in vitro omdat nog niet bekend is welke processen hierbij betrokken zijn.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en proportioneel ten opzichte van de gekozen strategie en de looptijd. De DEC is het eens met het beschreven onderzoeksmodel en de onderbouwing van het aantal benodigde dieren. Door meerdere implantaten per rat aan te brengen wordt onnodig gebruik van proefdieren voorkomen. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 40 ratten.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven. De experimentele handelingen bij de dieren zullen worden uitgevoerd door hierin getrainde onderzoekers, waardoor de stress voor de dieren zoveel mogelijk wordt beperkt. Dagelijkse controles van de dieren zorgen ervoor dat bij onverwacht optredend ongerief tijdig kan worden ingegrepen. De dieren krijgen adequate pijnbestrijding, en worden in tweetallen gehuisvest. Wanneer de onderzoekers minder implantaten per dier zouden aanbrengen, zou het ongerief voor een individueel dier wel iets afnemen, maar niet substantieel verminderen. Tegelijkertijd zouden er meer dieren nodig zijn om dezelfde onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden. De commissie is het eens met de keuze die de onderzoekers hierin hebben gemaakt ten faveure van vermindering van dierproeven. De onderzoekers hebben verder op grond van goede argumenten besloten om hun onderzoeksvraag te beantwoorden door het subcutaan implanteren van de materialen. Plaatsing van de implantaten in het kniegewricht zou tot aanzienlijk meer ongerief leiden. Ook in dat opzicht is er sprake van verfijning. 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 de biocompatibiliteit en wijze van degradatie van de polymeer netwerken bij ratten. De resultaten zullen onder andere een indicatie geven of deze polymeer netwerken op termijn gebruikt kunnen worden als tijdelijke vervanging van (delen van) een meniscus. Het belang van de ontwikkeling van nieuwe biomaterialen ter ondersteuning van de regeneratie van menisci acht de DEC substantieel,

gezien de prevalentie van meniscusschade en de daarmee gepaard gaande invaliditeit op korte en langere termijn.

Tegenover dit substantiële belang staat het gegeven dat alle dieren matig ongerief zullen ondervinden als gevolg van de onderhuidse implantatie van de polymeer netwerken en de benodigde handelingen. 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 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

**2.** Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

**Radboud universitair medisch centrum**  
Concernstaf, sectie Kwaliteit en Veiligheid

Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen

Geert Groteplein 10

[www.radboudumc.nl](http://www.radboudumc.nl)

KvK 41055629/4

Geert Groteplein 10  
Postbus 9101,  
6500 HB Nijmegen

Datum  
12-10-2015

Onderwerp  
Factuurinformatie Projectaanvraag

Geachte CCD,

Hierbij sturen wij u de administratieve gegevens behorend bij de ingediende projectaanvraag. Wij verzoeken u de factuur te versturen naar [redacted] als gemachtigde van de vergunninghouder. Hiervoor AUB het bij u bekend e-mailadres [redacted] en **hierboven vermelde postadres** te gebruiken.

Om verwerking door de financiële afdeling mogelijk te maken verzoeken wij u **op de factuur** de volgende gegevens te vermelden:

**Factuuradres:** Radboudumc  
28 F&A crediteuren  
Postbus 9101  
6500HB, Nijmegen  
**Kostenplaats en kostensoort:** 040823-461220  
**CDL projectnummer:** 2015-0087  
**Verantwoordelijk onderzoeker:** [redacted]

Bij voorbaat dank.

Met vriendelijke groeten

[redacted]  
[redacted]  
[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  
AVD103002015275

**Bijlagen**

2

Datum 14 oktober 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 12 oktober 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD103002015275. 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](http://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 verantwoordelijke uitvoering proces

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

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]  
Naam: [REDACTED]  
Postbus: 9101  
Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN(628)  
Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

**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: 8 november 2015  
Geplande einddatum: 8 november 2017  
Titel project: In vivo degradation and tissue response of poly(TMC)-E-caprolacton based networks  
Titel niet-technische samenvatting: Een studie naar de onderhuidse weefselreactie op, en de afbraak van, poly(TMC)-E-capr  
Naam DEC: RU DEC  
Postadres DEC: Postbus 9101, 6500 HB 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:



Functie:



Plaats:

Nijmegen

Datum:

12 oktober 2015

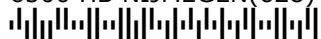


> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

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  
AVD103002015275

**Bijlagen**

2

Datum 14 oktober 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 14 oktober 2015

Vervaldatum: 13 november 2015

Factuurnummer: 15700275

Ordernummer: 040823/461220/2015-0087

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD103002015275	€ 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  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD103002015275

03 DEC 2015

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 12 oktober 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "In vivo degradation and tissue response of poly(TMC)-E-caprolacton based networks" met aanvraagnummer AVD103002015275. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij geldt de voorwaarde zoals genoemd in de vergunning. Deze voorwaarde is een algemene voorwaarde. U kunt met uw project "In vivo degradation and tissue response of poly(TMC)-E-caprolacton based networks" starten. De vergunning wordt afgegeven van 3 december 2015 tot en met 8 november 2017. Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie RU DEC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 9 oktober 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. 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](http://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:



mr. drs. H.M. van der Gaag-Halbertsma  
plv 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 3 december 2015 tot en met 8 november 2017, voor het project "In vivo degradation and tissue response of poly(TMC)-E-caprolacton based networks" met aanvraagnummer AVD103002015275, volgens advies van Dierexperimentencommissie RU DEC.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is arts onderzoeker in opleiding. Voor de uitvoering van het project is Instantievoor Dierenwelzijn verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 14 oktober 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 december 2015;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 december 2015;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 9 oktober 2015, ontvangen op 12 oktober 2015.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
In vivo degradation and tissue response of poly(TMC) based networks in rats	Ratten ( <i>Rattus norvegicus</i> ) / niet vermeld	40	Matig / moderate	

### Voorwaarden

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

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

het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

# Weergave wet- en regelgeving

## **Dit project en wijzigingen**

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

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister 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 aanneemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijven schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

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

Uit artikel 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.





**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** donderdag 3 december 2015 10:49  
**Aan:** [Redacted]  
**CC:** [Redacted]  
**Onderwerp:** Beschikking 275  
**Bijlagen:** DEC advies.pdf; Beschikking 275.pdf

Geachte heer, mevrouw,

Deze beschikking is ook per post verzonden.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)



.....  
[Redacted] | Den Haag Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag  
.....

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** maandag 7 december 2015 16:07  
**Aan:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** Terugkoppeling aanvraag AVD103002015275

Beste DEC,  
Enige tijd geleden ontvingen wij een advies van u betreffende aanvraag AVD103002015275 (A study to identify the best suited material for meniscus tissue engineering).

Bedankt voor uw heldere en goed onderbouwde advies.

De CCD heeft uw advies opgevolgd en het project vergund, met enkel toevoeging van een algemene voorwaarde (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.

Deze e-mail is ter informatie, u hoeft niets te doen.

met vriendelijke groet,