

	Inventaris Wob-verzoek W16-13S								
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016426								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x			x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1 en 2			x					
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Advies CCD		x						x
8	Beschikking en vergunning				x		x	x	
9	Mail terugkoppeling DEC 22-4-2016				x		x	x	

AVD 10300206426



18 FEB. 2016

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 10300 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td>[Redacted]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>4 1 0 5 5 6 2 9</td></tr></table>	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									
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>	<table><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Geert Grooteplein</td><td>10</td></tr><tr><td>Postbus</td><td>9101</td><td></td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>6500HB</td><td>Nijmegen</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL90ABNA0231209983</td><td></td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>UMC St Radboud</td><td></td></tr></table>	Straat en huisnummer	Geert Grooteplein	10	Postbus	9101		Postcode en plaats	6500HB	Nijmegen	IBAN	NL90ABNA0231209983		Tenaamstelling van het rekeningnummer	UMC St Radboud	
Straat en huisnummer	Geert Grooteplein	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.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[Redacted]</td><td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	[Redacted]		Afdeling	[Redacted]		Telefoonnummer	[Redacted]		E-mailadres	[Redacted]	
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.															
Functie	[Redacted]																
Afdeling	[Redacted]																
Telefoonnummer	[Redacted]																
E-mailadres	[Redacted]																
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[Redacted]</td><td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>Onderzoeker</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	Onderzoeker		Afdeling	[Redacted]		Telefoonnummer	[Redacted]		E-mailadres	[Redacted]	
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.															
Functie	Onderzoeker																
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 ☒ 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 1 6 . 0 3 . 2 0 1 6
- Einddatum 1 6 . 0 3 . 2 0 2 1
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Drug development for atopic dermatitis
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Geneesmiddelenontwikkeling voor atopisch eczeem
- 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 € 1.187,00 Lege
☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
☐ Via een eenmalige incasso
☒ Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- ☒ Projectvoorstel
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☐ Melding Machtiging
- ☒ DEC advies, *factuur informatie*

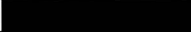
6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam 

Functie 

Plaats Nijmegen

Datum 16 - 03 - 2016

Handtekening 



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).
- 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.	Drug development for atopic dermatitis

2 Categories

2.1	Please tick each of the following boxes that applies to your project.	☐ Basic Research ☒ Translational or applied research ☐ Regulatory use or routine production ☐ Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare dier ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures ☐ Higher education or training
-----	---	--

☐ Forensic enquiries

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

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

General background

It is a regrettable misconception that skin diseases are merely a 'cosmetical' problem. Inflammatory skin diseases such as atopic dermatitis (AD) are quite prevalent in western societies, and have a large impact on patients and their families. Although considerable progress has been made in understanding the genetics and pathogenesis of these diseases, there is still a large unmet medical need. The most widely used topical drugs are corticosteroids ('hormone' creams) that suppress the immune system and inflammation. Chronic use of corticosteroids is not recommended and many parents are reluctant to give steroids to young children, leading to inadequately controlled eczema.

Based on recent findings by a number of investigators, [REDACTED], there are now a number of pathophysiological pathways known that can be exploited for drug design. Our research programme has identified novel disease targets^{1, 2} and this opens the possibility to develop new therapeutics for these targets. [REDACTED]

[REDACTED] The experiments described in this project application aim to translate our finding from genetics and cell biology to two novel drugs that can be applied in AD^{3, 4}.

Approaches by the major pharmaceutical industries are aimed at immunological pathways, and many of them are directed at the generation of extremely expensive (and profitable) biologics. We aim primarily for other, skin-specific targets such as skin barrier and skin microbiome⁵⁻⁷. In this way, our approach is distinct from that of 'big pharma' and we do not duplicate work that is done elsewhere.

Atopic dermatitis is a heterogeneous disease and not every therapeutic approach will work for any given patient. The availability of a broad array of therapeutic options is desirable to achieve a 'personalized medicine' approach for these patients.

Although we can model many aspects of human disease in vitro using reconstructed skin cultures that we have developed, the proposed research requires the use of experimental animals.

Atopic dermatitis

AD is a chronic or chronically relapsing inflammatory skin disease arising from a complex interrelationship of genetic, environmental and immunologic factors.⁸ It is characterized by intense itch leading to repeated scratching, redness, scaling, and loss of the skin barrier function. AD is often the first

manifestation of other common atopic diseases, namely allergic rhinitis and asthma (40%–60% of cases), in a phenomenon known as the atopic march. It is one of the most common skin diseases, with worldwide lifetime prevalence cases ranging from 10%–20% in children, and 1%–3% in adults. AD can significantly impact a patient's ability to carry out daily activities and creates immense challenges during the management of the disease.

The current understanding of the pathophysiology of AD now includes the following characteristic features:

- Th2-cytokine involvement in the initiation phase of the disease, which consequently increases IgE production and downregulates skin barrier protein expression
- Skin barrier dysfunction or dry skin, abnormal lipid metabolism and/or epidermal structural protein formation. The latter is due to genetic factors, including filaggrin null alleles as the strongest contributor⁹.
- An abnormal microbial colonization with pathogenic organisms such as *Staphylococcus aureus*, which subsequently increases the patients' susceptibility to skin infection

A number of topical therapies are available for mild to moderate AD, such as corticosteroids, calcineurin inhibitors and coal tar. For severe AD, systemic therapies (ciclosporin, methotrexate) and UVB-irradiation are used, and biologicals are currently under development. Topical therapeutics for patients with mild to moderate disease have their limitations. Long term use of corticosteroids is clearly contra-indicated because of side effects and calcineurin inhibitors are not very effective. Coal tar is very effective but its smell, staining and phototoxicity make it unattractive and reduce patient compliance. In addition, there are safety concerns on coal tar as it contains polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). Many dermatologists are abandoning this effective therapy for unsubstantiated reasons. The generation of a coal tar preparation that contains less or no PAH, and has more patient-friendly properties, would be a major innovation and contribution to the topical therapies for AD, particularly in young children.

The skin of AD patients is often colonized by *S.aureus*, and in a subset of patients recurrent *S.aureus* infections pose a significant problem. Long term use of broad-spectrum antibiotics is clearly not an option, but antibiotics and antiseptic treatments, however, are widely used in these patients. As resistance against current topical antibiotics is increasing, the development of narrow-spectrum targeted antibiotics is required for these patients.

It is clear that AD patients are heterogeneous both genetically and clinically. For this reason, personalized therapeutic strategies are required that target specific pathways of the disease such as the immune system, the skin barrier and the microbial component. Development of drugs that strengthen the skin barrier or correct the skin microbiome has not been a priority of pharmaceutical industry so far. Based on our previous fundamental research we have developed drug candidates for preclinical work on these two aspects of the disease. We believe that this might lead to valuable new therapies in the armamentarium for AD.

Previous work on drug development

Here we provide a background for the proposed experiments aiming to develop two novel anti-AD drugs. These two drugs have distinct modes of action and will be applied to subsets of AD patients. They may both replace existing drugs and/or expand the therapeutic options to enable personalized medicine for AD.

1. Coal tar as a source of new therapeutics

Coal tar is one of the oldest dermatological drugs for topical use, and is active both in psoriasis and AD. We have recently elucidated the working mechanism of coal tar at the molecular level³. The demonstration that the arylhydrocarbon receptor (AHR) mediates these effects has drawn a lot of

attention and has caused a re-appreciation of the AHR as a bona fide pharmacological target. Coal tar is a smelly substance that stains clothing and contains PAH. For this reason it is gradually abandoned despite its efficacy. We have fractionated coal tar and managed to obtain biologically active preparations with reduced PAH content, that are more patient-friendly (no smell or color). We are currently preparing animal experiments to progress towards clinical development. Coal tar preparations will be used only for topical application. We think that it will be an effective, safe and affordable alternative to topical corticosteroids.

2. Pantothenate (vitamin B5) derivatives as novel therapeutics

We have identified members of the vanin gene family as potential drug targets in the skin disease psoriasis¹⁰. Vanins are involved in the metabolic route of pantothenic acid (vitamin B5), which is a necessary factor in the biosynthesis of Coenzyme A. Specific vanin inhibitors based on analogues of pantetheine were synthesized and lead optimization, yielded a series of novel chemical entities with IC₅₀ values of 500 nM to 50 mM¹¹ which showed favourable pharmacokinetics (PK). Chemical modifications of these vanin inhibitors (so-called pantothenamides) were found to have anti-microbial activity in vitro against gram-positive bacteria and malaria parasites^{4, 12}. Lead optimization of this compound series yielded antibiotics with very narrow activity profiles against Staphylococci. As *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) is thought to be an important contributing factor in the pathogenesis of AD, and many AD patients suffer from recurrent *S.aureus* infections, we aim to develop these compounds to eliminate *S.aureus* from the skin and other niches of the body (e.g. the nostrils). We will test the anti-*S.aureus* activity of these compounds in models of *S.aureus* colonization/infection and AD-models where *S.aureus* is assumed to play a role. Both topical and systemic use will be investigated. These proposed new small-spectrum antibiotics are positioned to replace current broad spectrum topical antibiotics such as fusidic acid and mupirocin, for which resistance is emerging. When sufficiently potent compounds are obtained, systemic application will be pursued as well.

References

1. de Cid R, Riveira-Munoz E, Zeeuwen PL, Robarge J, Liao W, Dannhauser EN, Giardina E, Stuart PE, Nair R, Helms C, Escaramis G, Ballana E, Martin-Ezquerro G, den Heijer M, Kamsteeg M, Joosten I, Eichler EE, Lazaro C, Pujol RM, Armengol L, Abecasis G, Elder JT, Novelli G, Armour JA, Kwok PY, Bowcock A, Schalkwijk J, Estivill X. Deletion of the late cornified envelope LCE3B and LCE3C genes as a susceptibility factor for psoriasis. **Nat Genet.** 2009;41(2):211-5.
2. Hollox EJ, Huffmeier U, Zeeuwen PL, Palla R, Lascorz J, Rodijk-Olthuis D, van de Kerkhof PC, Traupe H, de Jongh G, den Heijer M, Reis A, Armour JA, Schalkwijk J. Psoriasis is associated with increased beta-defensin genomic copy number. **Nat Genet.** 2008;40(1):23-5.
3. van den Bogaard EH, Bergboer JG, Vonk-Bergers M, van Vlijmen-Willems IM, Hato SV, van der Valk PG, Schroder JM, Joosten I, Zeeuwen PL, Schalkwijk J. Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis. **J Clin Invest.** 2013;123(2):917-27.
4. Jansen PA, Hermkens PH, Zeeuwen PL, Botman PN, Blaauw RH, Burghout P, van Galen PM, Mouton JW, Rutjes FP, Schalkwijk J. Combination of pantothenamides with vanin inhibitors as a novel antibiotic strategy against gram-positive bacteria. **Antimicrob Agents Chemother.** 2013;57(10):4794-800.

5. Zeeuwen PL, Boekhorst J, van den Bogaard EH, de Koning HD, van de Kerkhof PM, Saulnier DM, van S, II, van Hijum SA, Kleerebezem M, Schalkwijk J, Timmerman HM. Microbiome dynamics of human epidermis following skin barrier disruption. **Genome Biol.** 2012;13(11):R101.
6. Kong HH, Oh J, Deming C, Conlan S, Grice EA, Beatson MA, Nomicos E, Polley EC, Komarow HD, Program NCS, Murray PR, Turner ML, Segre JA. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. **Genome Res.** 2012;22(5):850-9.
7. Zeeuwen PL, van Vlijmen-Willems IM, Hendriks W, Merckx GF, Schalkwijk J. A null mutation in the cystatin M/E gene of ichq mice causes juvenile lethality and defects in epidermal cornification. **Hum Mol Genet.** 2002;11(23):2867-75.
8. Bieber T. Atopic dermatitis. **N Engl J Med.** 2008;358(14):1483-94.
9. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant A, Munro CS, El Houate B, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S, McLean WH. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. **Nat Genet.** 2006;38(4):441-6.
10. Jansen PA, Kamsteeg M, Rodijk-Olthuis D, van Vlijmen-Willems IM, de Jongh GJ, Bergers M, Tjabringa GS, Zeeuwen PL, Schalkwijk J. Expression of the vanin gene family in normal and inflamed human skin: induction by proinflammatory cytokines. **J Invest Dermatol.** 2009;129(9):2167-74.
11. Jansen PA, van Diepen JA, Ritzen B, Zeeuwen PL, Cacciatore I, Cornacchia C, van Vlijmen-Willems IM, de Heuvel E, Botman PN, Blaauw RH, Hermkens PH, Rutjes FP, Schalkwijk J. Discovery of small molecule vanin inhibitors: new tools to study metabolism and disease. **ACS Chem Biol.** 2013;8(3):530-4.
12. Pett HE, Jansen PA, Hermkens PH, Botman PN, Beuckens-Schortinghuis CA, Blaauw RH, Graumans W, van de Vegte-Bolmer M, Koolen KM, Rutjes FP, Dechering KJ, Sauerwein RW, Schalkwijk J. Novel pantothenate derivatives for anti-malarial chemotherapy. **Malar J.** 2015;14:169.

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 objective of the project is to apply basic knowledge on biology of skin and cutaneous host defense to develop new, effective and safe drugs for AD. These include compounds that promote epidermal barrier function and antimicrobial compounds that aim to correct the skin microbiome. As indicated above, these novel drugs are derived from two classes of compounds: pantothenate derivatives and coal tar components.

We think that these ambitions are timely and achievable. [REDACTED] is home to excellent, state-of-the-art core facilities, including “omics”, advanced microscopy, and flow-cytometry platforms. All animal experiments will be performed at the [REDACTED] and [REDACTED] personnel will be involved in all the experiments and the animal care-taking. The senior team members have years of expertise in drug research for skin diseases. They will be involved with in all aspects of the project and will maintain the overview ensuring that significant progress will be made through prioritizing promising tracks and abandoning “dead-ends”. The drug testing experiments will be done in close collaboration with international experts on CoA biosynthesis. The project is well funded a (ZonMW, Top sectoren, private sector) and has so far generated 2 patents on the pantothenamide compound class. The proposed objectives are achievable within the time frame of the project. More specifically we aim to develop pantothenate derivatives either for systemic use or topical use as a cream or ointment. Lead optimization of candidate compounds is aimed to generate compounds that have antimicrobial properties that target the microbial coenzyme-A biosynthetic pathway.

The coal tar based preparations are extracts or fractions obtained by chromatography that have a vastly improved profile with respect to color/smell properties and safety, whilst retaining the clinical efficacy. The pharmacological target is the AHR, whose activation will be used as an important readout.

3.3 Relevance

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

Inflammatory skin diseases such as AD are highly prevalent, as outlined above, and a considerable unmet medical need still exists. Basic research over the past decade has uncovered important disease mechanisms of AD. Now is the time to translate these insights into mechanism-based therapeutics.

3.4 Research Strategy

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

Overall strategy to achieve the major objectives

Drug development, as a rule, has a number of phases, some of which include the use of experimental animals. We obtained a number of lead compounds, which need to be optimized before they can enter the final preclinical phase and subsequent clinical phases. The overall strategy here is to perform efficacy studies of the lead compounds and to improve the compounds in subsequent rounds of medicinal chemistry. This is an iterative process which includes studies on pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) and mechanism of action (MoA) of the compounds. Efficacy studies are aimed at evaluation of clinical parameters in relevant animal models for a given disease. All these steps include the use of experimental animals.

Figure 1 shows a flow chart of the proposed strategy. From this scheme it is evident that there will be several rounds of lead optimization before clinical candidates are identified. We expect that within the project duration of 5 years we will identify such candidates. In case that the stage of progression to toxicological screening and clinical evaluation is reached earlier, the number of experimental animals will be according lower. The numbers indicated here are maximum numbers.

PK studies will be outsourced and are not part of this application. PK parameters such as bioavailability and clearance of the drugs will be assessed in wild type control animals (mice and rats). This will drive the chemical synthesis (lead optimization) to generate compounds with more favourable PK profiles. MoA studies will be performed *in vitro* and *in vivo*. *In vivo* MoA studies will be both in wild type control animals and animal models for disease, to obtain a more detailed insight in the physiological and biochemical actions of the drug at the level of the organism.

We will use animal models that are relevant for certain aspects of the disease. The effect of the drugs will be monitored on the readout parameters (biological, clinical) to investigate the efficacy of our compounds, the mechanism of action (MoA) and the potential side effects. These models may use genetically modified animals (mice) with a disease phenotype, or use wild type animals (mice, rats) where skin inflammation or infection will be induced by external agents.

Our lab has been involved in drug development for a number of years and we filed a number of patents that cover the use of pantothenamides as anti-inflammatory and antibiotic agents. We are part of consortia from academic and private partners that are developing the pantothenamides and coal tar for clinical applications.

Sequence of experiments and go/no-go points

Drug development is an iterative process, where the outcome of PK and efficacy studies guides the medicinal chemistry efforts (lead optimization). This may lead to improved compounds which are again subjected to PK and efficacy studies. Pharmacokinetics of promising lead compounds will be performed before *in vivo* efficacy tests in experimental animals will be undertaken. When *in vivo* levels are expected to be insufficient for clinical activity, based on extrapolation of *in vitro* data, medicinal chemistry efforts will be directed at improving PK of the compounds.

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.

Mice are the preferred animal species in the model systems used here because of the extensive literature data on models for skin inflammation and AD. All studies to study efficacy of coal tar derivatives will be performed in mice.

Pantothenamide-derivatives that show competition with endogenous pantothenate cannot be adequately tested in mice due to the high plasma pantothenate levels (20 micromolar), which will obscure efficacy. For these compounds we will use rats, which have a plasma pantothenate level that is similar to humans (1-2 micromolar).

1. Efficacy and MoA studies of anti-AD drugs

Drugs will be administered to rats or mice in relevant models that mimic (parts of) the disease phenotype. These models include transgenic or knockout mice with a relevant phenotype such as the arylhydrocarbon receptor (AHR) knockout mouse. These mice are available both via commercial breeders and academic collaboration. We will import these mice to set up a colony for experiments. Other models concern animals that are exposed to external stimuli to elicit an inflammatory response or infection. These are all well known eczema models such as the application of a

contact sensitizer (FITC) or immunization by ovalbumine and subsequent epicutaneous exposure. As infection with *S.aureus* is a relevant disease feature of AD, pantothenamide compounds will be tested in models for infection per se (local or systemic) or AD models with an infectious component. The development of the disease or infection in all these models is monitored by clinical features, microbiology and blood chemistry. Animals are sacrificed at the end of the experiments for analysis of the tissues by histology and molecular biology (qPCR). Drugs for topical use will be administered in a cream or ointment 1 to 3 times daily for up to 4 weeks. Drugs for systemic application will be administered by oral gavage once daily. In case that PK properties of the compounds are unfavourable, we will dose twice daily for up to 1 week, or by administration in the drinking water for prolonged periods up to 4 weeks.

2. Experimental animals required for research tools and setting up of the model systems

In some of the experiments, animal material is required to perform in vitro experiments that cannot be done with cell lines. These experiments include the use of rat or mouse dorsal root ganglion (DRG) cells. These are used to study neuron-skin interaction in the context of itch, which is a hallmark of AD. We have evidence that coal tar preparations act on itch circuits, which will be investigated in vitro with these DRG cells. Another example of animal tissue that may be used are normal rat or mouse liver cells. These cells are cultured and used to test the effect of pantothenate-derivatives and coal tar products on biotransformation and toxicity.

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

All activities of the project are focused on the objective of drug development for AD (see figure 1). The project includes two major compound classes, pantothenate-derivatives and coal tar components, that are developed by previous basic research. The different steps of the project (PK, efficacy testing, medicinal chemistry) are interdependent, and may be repeated up to the phase of clinical development.

Figure 1

Main objective: drug development for atopic dermatitis

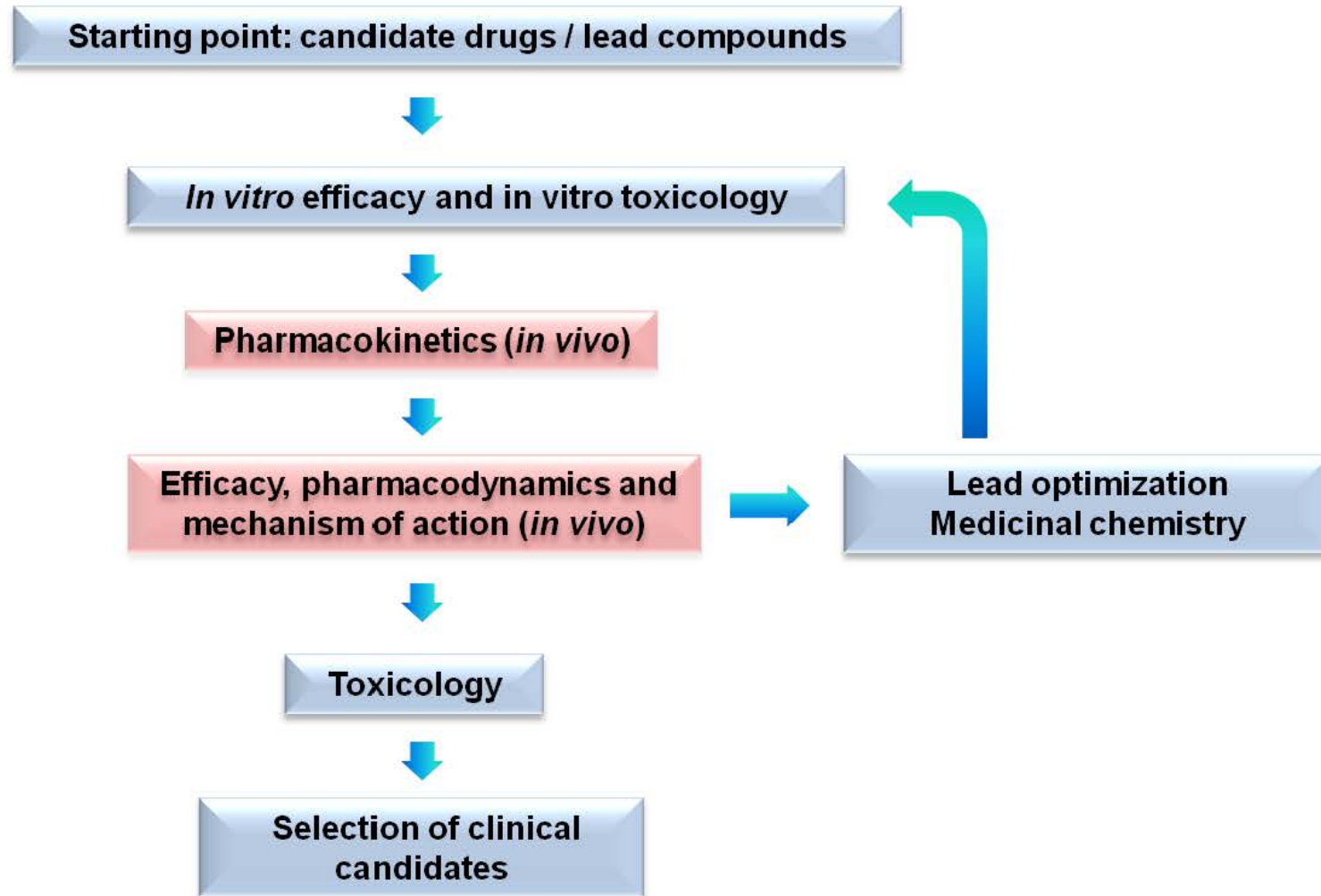


Figure 1: Flow chart of drug development. Red boxes indicate parts that involve experimental animals in the current project. Toxicology is not part of the project. Lead compounds with anti-AD properties *in vitro* are investigated for PK properties (*in vivo*). Efficacy is evaluated by *in vivo* models that mimic aspects of the disease. Candidate compounds are subjected to multiple rounds of lead optimization until progression to the clinical phase.

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	Drug efficacy studies
2	Animals required for research tools

Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	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 Drug efficacy studies

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 efficacy of topical or systemic drugs to suppress clinical, immunological, microbiological and biochemical parameters will be investigated in animals models that mimic aspects of AD, such as barrier disruption, skin inflammation and infection. These models use a genetically modified mouse (the AHR knockout mouse) with a disease-related phenotype, or use wild type animals (mice, rats) where AD features such as skin inflammation, poor barrier function or infection by *S.aureus* will be induced by external agents.

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

Administration of drugs

Drugs will be administered in a therapeutic regimen, topically in the AD models and systemically in the *S.aureus* infection/colonization models. We will assess macroscopic (clinical) appearance, microscopic features (histopathology of skin), molecular/biochemical parameters (gene expression, enzyme activity), biophysical parameters such as transepidermal water loss (TEWL) and microbial status (bacterial diversity and numbers). Preferably we will use animals of 2 to 6 months of age. In all cases, the animals will be sacrificed at the end of the experiment to collect skin, organs and blood. Animals will be killed by conventional methods like CO2 asphyxiation or cervical dislocation. The choice of the readout parameters is driven by the known abnormalities found in AD.

The drugs that we are currently developing include (1) pantothenate derivatives that are used systemically or topically, and have anti-microbial activity, or (2) coal tar derivatives which are typically used for topical application. Topical drugs are applied in ointment-based formulations at the back, tail and/or ears of the mice. Application will be up to 3 times daily, for a maximum period of 4 weeks. The systemic compounds will in general be administered once daily by oral gavage, at doses up to 500 mg/kg, or in the drinking water, for a maximum of 2 weeks. Only when the pharmacokinetic properties are unfavourable, compounds will be administered twice daily, up to one week.

Readout of interventions in the animal models

Biophysical skin properties will be measured by TEWL as an indication of skin barrier function, which is compromised in AD. TEWL measurement involves positioning of an external probe to the skin to monitor the water vapour flux during 1-2 minutes. Animals need to remain motionless, hence the application of anesthesia. TEWL is non-invasive and is not associated with significant discomfort.

Microbiome sampling involves rubbing a shaven area of the skin with a cotton swab (20 times) that is wetted in buffer. This can be done without anesthesia when possible. The fluid collected from the swab contains bacteria that are used for DNA extraction and sequence analysis. This is non-invasive procedure, with mild to moderate discomfort. Microbiome sampling may be performed sequentially as the microbiome continuously changes when the mice develop an AD phenotype.

At the end of the experiments the mice will be sacrificed under anesthesia for collection of skin, blood and organs for histology and biochemical analyses.

Genetic animal models

The arylhydrocarbon receptor (AHR) knockout mouse will be used to monitor the effects of drugs on disease parameters associated with AD. The general procedure will be to breed a sufficiently large number of animals to obtain 10 mice per group for each drug concentration. Only topical preparations will be used for these mice. We have no indication for sex differences in drug response so far, and we will use both males and females.

Non-genetic models

Wild type mice or rats will be subjected to the following model situations for inflammation and infection:

- The mouse tail model: normal mice have different areas of cornification on their tails, some of which resemble normal human skin and others resemble disturbed differentiation seen in human disease. Coal tar preparations will be applied topically to the mouse tail skin to test the effects on skin barrier proteins and morphology. Application will be 3 times daily for 5 days.
- The ovalbumin (OVA)-induced AD model involves epicutaneous (EC) sensitization of tape-stripped skin with ovalbumin [1]. Briefly, the back skin of mice is shaved and tape-stripped 6 times, mimicking skin injury caused by scratching in AD patients. Mice are sensitized with OVA (100 µg) or saline applied in 100 µl to a sterile patch secured to the skin with a transparent bioocclusive dressing. Experiments are performed at the end of the third sensitization. EC sensitized mice develop increased scratching behavior and their skin develops human-like AD lesions. The required seven-week protocol of EC sensitization is necessary to mimic exacerbation of AD over time. Animals will be treated by topical drugs as indicated above, and subjected to the analyses indicated above.
- The Fluorescein isothiocyanate (FITC)-induced contact dermatitis model is characterized by a Th2 immune cell mediated inflammation and exhibits many of the hallmarks of atopic dermatitis [2]. To induce AD-like skin lesions, FITC in dibutyl phthalate mixed 1:1 with acetone will be applied on shaven abdomens and footpads. Thereafter, mice are challenged once a week for 8 weeks with FITC applied to the shaved back skin. After 5 weeks, treatment may be initiated on fully developed lesions. To determine ear swelling as a parameter for inflammation, mice will be sensitized by painting FITC on the shaved abdomen repetitively on day 0, 1, 7 and 8. On day 14, mice are challenged once with FITC on both sides of the ear. Ear swelling will be measured 24 h after the challenge. Animals will be treated by topical drugs as indicated above, and subjected to the analyses indicated above.
- To investigate *S.aureus* targeting drugs on a *S.aureus* infection, the rodent thigh model described by Zhang *et al* [3] will be used. Mice or rats will be rendered neutropenic by i.p. injection of cyclophosphamide before infection. *S.aureus* infection is established by i.m. injection of bacteria in each thigh. Within 24-48 hours after injection of bacteria the antibiotics will be administered systemically and the animals will be sacrificed within 48 hours. The effect of the antibiotic treatment will be monitored by analysis of bacterial numbers (colony forming units) in tissue homogenates.

References1. Spergel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, Martin TR, Bhan AK, Geha RS. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. **J Clin Invest.** 1998;101(8):1614-22.

2. Dearman RJ, Kimber I. Role of CD4(+) T helper 2-type cells in cutaneous inflammatory responses induced by fluorescein isothiocyanate. **Immunology**. 2000;101(4):442-51.
3. Zhang H, Kalkeri G, Mani N, Grossman TH. Development and validation of a multi-dose neutropenic rat thigh infection model using real-time monitoring of *Staphylococcus aureus* growth *in vivo*. **In Vivo**. 2008;22(6):667-72.

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

At present we do not have information on the variance of the clinical and laboratory parameters of some of the models that we will use, as they need to be implemented (the ovalbumin and FITC models). We will first perform pilot experiments to get an estimate on the biological variation of the output parameters of the models. Based on previous experiments we know that for these analyses 8-10 animals per group are a sufficient number to analyse meaningful differences between the groups (power = 0.8, alpha = 0.05).

B. The animals

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

Mice are the preferred animal due to the availability of genetically modified animals and the large body of data in the literature on AD models in mice. Mice are available commercially from EU registered breeders (wild type mice), or via collaboration with other investigators (AHR mice). The numbers of mice to be used for the efficacy studies of both drug classes (pantothenamide and coal tar) are based on 3 experiments per year for the 3 models (mouse tail-OVA-FITC), using 4 groups of 10 mice per experiment. These are extrapolated to a 5 year project period. We need 600 AHR mice for drug testing experiments. WT mice: 3000 for drug testing in the 3 AD models and 600 for the infection model. An additional 450 AHR mice are required for breeding. We need 20 mice per year (100 for 5 years) for pilot experiments to optimize and test practical procedures such as drug application and non-invasive measurements.

In total we need: 600+3000+600+450+100=4750 mice for drug efficacy studies in the models indicated above.

Rats (*Rattus sp.*) will be used for particular drugs as outlined above. Rats are available commercially from EU registered breeders. The numbers of rats to be used for the efficacy studies of both drug classes (pantothenamide and coal tar) are based on 3 experiments per year for each model, using 4 groups of 10 rats per experiment. These are extrapolated to a 5 year project period. We need 1200 rats for drug testing in 2 AD models and 600 for the infection model. We need 20 rats per year (100 for 5 years) for pilot experiments to optimize and test practical procedures such as drug application and non-invasive measurements. In total we need: 1200+600+100=1900 rats for efficacy studies.

In general we will use adult animals (from 8 weeks onwards). The numbers of animals indicated above are maximum numbers. The numbers include animals required for breeding and for the actual experiments. We have no indication that there are sex differences for the parameters studied, so we will use either males or females.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
AHR mouse	Own breeding	450	Conservational breeding
AHR mouse	Own breeding	600	Young

WT mice	Regular breeding	3700	Young
WT rats	Regular breeding	1900	Young

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

We have introduced several *in vitro* skin models to mimic human diseases. Some of these models may replace transgenic and knockout approaches when there is a simple epidermal phenotype. For a complex disease as AD, this will not be completely possible.

Reduction

We have introduced several *in vitro* skin models to mimic human diseases, including AD. These can be used to investigate certain aspects of the disease but cannot mimic the dynamics and complexity of responses to infection and inflammation.

Refinement

In the *S.aureus* thigh infection model, which will be associated with severe discomfort when left untreated, we will carefully monitor the health status of the animals. The animals will be sacrificed before severe discomfort is evident.

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

1) Animal welfare will be monitored daily. The research team has many years of experience in breeding and maintaining transgenic mouse models and PK studies. The experiments will be terminated and the animals sacrificed according to pre-specified conditions (see humane endpoints for more details).

2) There are no measurable adverse effects on the environment.

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. Our research strategy is unique as far as we are aware.

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.

G. Location where the animals procedures are performed

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.

The level of discomfort experienced by the animals in the skin inflammation models is considered to be moderate. Eczema in humans is not painful but causes irritation and itch, and we expect this to be true for the animals as well. The use of analgesics is not required. Infection by *S.aureus* bacteria will cause pain at the site of infection (muscle). We will try to prevent pain as much as possible by early termination of the infection experiment. Pain relief will not be applied as this is likely to interfere with the experiment.

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

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

The animals will experience stress due to the experimental procedures and skin irritation/itch as a result from the eczema models.

Explain why these effects may emerge.

The levels of discomfort are caused by the experimental procedures, such as the induction of skin inflammation, collection of blood samples or the application of anaesthetics.

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

Since the levels of discomfort result from the experimental procedures they cannot be prevented. The severity is minimized by closely monitoring the experiment and termination of the experiment if necessary.

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.

We do not expect severe clinical features associated with the proposed tests that would require humane endpoints. The *S.aureus* infection model may cause severe discomfort but the experiment will be terminated before that stage is reached. In case that infection is more vigorous than expected, humane endpoints will be applied. Rapid weight loss, severe distress/pain and abnormal behaviour may be signs of a severe infection and will serve as criteria for euthanasia.

Indicate the likely incidence.

There is a slight risk (estimated <10%) that mice of the *S.aureus* infection model may have an unanticipated severe infection that requires termination based on the humane endpoint.

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).

Some experimental procedures are mild to moderate (blood sampling, TEWL, tapestripping, skin swabs, breeding of AHR mice). The experimental inflammation models by ovalbumin or FITC sensitization and experimental *S.aureus* infections cause moderate discomfort. Severe discomfort will be

prevented by application of humane endpoints. In all cases the animals will be sacrificed at the end of the experiments. Mice: 10% mild (animals used for breeding), 90% moderate discomfort. Rats: 100% moderate discomfort.

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.

Organs and blood need to be collected for further studies. Therefore, all animals will be sacrificed, either by terminal retro-orbital or intracardial bleeding under adequate general anaesthesia, or by cervical dislocation.

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.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 2	Type of animal procedure Animals required for research tools

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.

Itch is a prominent feature of atopic dermatitis, which we will try to model in vitro. For in vitro atopic dermatitis skin models we study itch responses by coculture of skin cells and dorsal root ganglion (DRG) cells. DRG cells are in general obtained from suitable animals (mice, rats) that are superfluous or unused by other experiments, either from our own or from other investigators. In case that these animals are not available, we will purchase normal mice or rats for this purpose. The animals are sacrificed according to standard procedures and the tissue of interest is dissected to obtain the DRG cells. Rat DRG will be used mostly as these are the preferred animal based on literature studies. An additional advantage is that the cell yield is bigger than for mice. DRG cells will be used to make skin constructs. One rat will yield about 30 DRG (106 cells in total) which are used for one skin construct. We estimate that we will generate a maximum of 50 skin constructs per year (250 rats in 5 years). In certain cases when mouse specific reagents will be used in the in vitro systems, we will use mouse DRG up to an estimated maximum of 50 mice per year (250 in 5 years).

We will occasionally need rat liver cells e.g. to study biotransformation of drugs in vitro. For this reason we will sacrifice normal rats to dissect the livers. (a maximum of 50 rats in 5 years). Cells will be cultured and drug metabolism in vitro will be studied by LC-MS.

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

Anesthesia followed by euthanasia.

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

Not applicable

B. The animals

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

Rodent ganglion cells have been used in the past by us to set up the model, and they are the preferred source as human DRG cells are not available. Rat liver cells are the preferred cell type to study drug biotransformation *in vitro*. We will use young animals of either sex.

We need a maximum of 100 rats and 100 mice per year for DRG cell isolation. We need 10 rats per year for liver cell isolation. This adds up to 550 rats and 500 mice for the 5 year project.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
WT mice	Regular breeding	250	Young
WT rats	Regular breeding	300	Young

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

The *in vitro* assays are in itself a replacement of *in vivo* animal studies. We need the rodent DRG cells as human cells are not available, nor suitable cell lines.

Reduction

Not applicable

Refinement

Not applicable

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

- 1) Not applicable
- 2) There are no measurable adverse effects on the environment

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.

This is a novel and unique research project

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.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

The animals will experience stress.

Explain why these effects may emerge.

The animals will experience stress due to anesthesia.

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

Since the levels of discomfort result from the experimental procedures they cannot be prevented.

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.

Indicate the likely incidence.

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).

Most of the animals will experience mild discomfort as they will be anesthetized before they are killed for organ collection.

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.

Animals are killed to obtain the desired material.

| 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 2015-0174
2. Titel van het project: Drug development for atopic dermatitis
3. Titel van de NTS: Geneesmiddelenontwikkeling voor atopisch eczeem
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: 22-12-2015
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☐ in vergadering besproken: 05-01-2016
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van 13-01-2016 tot 20-01-2016
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag: 20-01-2016 en 09-02-2016
 - ☐ advies aan CCD: 15-02-2016
7. Eventueel horen van aanvrager
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Strekking van de vraag / vragen
 - Strekking van het (de) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 13-01-2016
 - Strekking van de vragen:

Project Proposal:

-3.1 De onderzoekers willen twee verschillende medicijnen ontwikkelen voor hetzelfde doel. Kunnen zij aannemelijk maken waarom er meerdere medicijnen ontwikkeld moeten worden? Zijn de medicijnen uit de twee onderscheiden klassen bijvoorbeeld gericht op verschillende patiëntenpopulaties? Wanneer de twee medicijnen na elkaar onderzocht zouden worden, zou men het onderzoek naar het tweede medicijn achterwege kunnen laten indien het eerste medicijn effectief blijkt te zijn. Hierdoor wordt een flinke vermindering van het aantal proefdieren gerealiseerd.

-3.1 Eén van beide medicijnen is een afgeleide van een al bestaand effectief medicijn. De commissie vindt de gegeven redenen voor het ontwikkelen van dit afgeleide medicijn uitsluitend van cosmetische aard, en vraagt zich af of deze redenen wel voldoende zwaarwegend zijn voor het doen van dierproeven. Indien de onderzoekers menen dat er wel degelijk zwaarder wegende redenen zijn voor dit onderzoek, dan worden zij verzocht deze goed te omschrijven.

Description of Animal Procedures:

DAP1

-D: Het aantal dieren bij onderdeel B is berekend op groepen van 3, terwijl hier groepen van 2 dieren worden beschreven. De onderzoekers worden verzocht de groeps grootte in overeenstemming met elkaar brengen en het totaal aantal dieren aan te passen indien groepen van 2 dieren worden gebruikt.

DAP2

-A: Driemaal daags een orale gavage levert behoorlijk wat ongerief voor de dieren. De onderzoekers worden verzocht het aantal gavages te beperken tot één per dag, of een andere toedieningsroute te gebruiken.

-J, tweede vraag: Een geschat percentage van de incidentie ontbreekt nog

-K: Er is sprake van licht ongerief voor 10% van de muizen. Kunnen de onderzoekers aangeven welke muizen zij hiermee bedoelen?

DAP4

-B.:De onderzoekers vragen 100 dieren per jaar voor het isoleren van DRG cellen. Kunnen zij met een berekening aannemelijk maken waarom zij deze aantallen nodig hebben? Deze berekening bevat bij voorkeur het aantal DRG cellen dat nodig is voor het in vitro model en het aantal DRG cellen dat uit een dier geoogst kan worden.

- Datum antwoord: 09-02-2016
- Strekking van de antwoorden:

Project Proposal:

-3.1 NTS en de PP zijn drastisch herschreven om de lezer er op te wijzen dat a) huidziekten geen cosmetisch probleem zijn, b) er vanuit het oogpunt van de heterogeniteit in oorzaak en ernst van de ziekte behoefte is aan meerdere therapeutische opties (personalized medicine !). Er wordt één ziekte (eczeem) bestudeerd waarvan voor twee aspecten van de aandoening een nieuwe therapeutische benadering wordt onderzocht.

-3.1 In de PP wordt nu uitgelegd wat het probleem is met koolteer als therapie, en waarom de modificaties die de onderzoekers voorstaan niet van 'cosmetische' aard zijn. Het gaat om het verhogen van de veiligheid (minder PAKs) en patiëntvriendelijkheid. Door gebrek aan compliance van patiënten dreigt een effectieve en goedkope therapie te verdwijnen. Koolteer wordt in Nederland als een geneesmiddel beschouwd en modificaties daarvan zullen aan de daarmee gepaard gaande eisen van effectiviteit en veiligheid moeten voldoen.

Description of Animal Procedures:

DAP1

-DAP1 (PK) is vervallen

DAP2

-A: De PK bij knaagdieren is vaak zodanig dat éénmaal daags doseren niet genoeg is om therapeutische spiegels te bereiken. Wij zullen in voorkomende gevallen toch 2x daags doseren.

-J, gedaan

-K: Dit zijn de muizen die nodig zijn voor de fok (450 stuks)

DAP4

-B.: Dit is nu DAP2 geworden. Aantal is gebaseerd op ervaring met celopbrengst en gewenste aantallen huidconstructen. Berekening is toegevoegd.

- 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.
4. Er is geen betrokkenheid van DEC-leden bij deze projectaanvraag, waardoor onafhankelijkheid en onpartijdigheid zijn gewaarborgd.

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 develop new, effective, and safe drugs for AD.' De onderzoekers focussen daarbij op het ondersteunen van de barrièrefunctie van de huid en correctie van het microbioom van de huid door pantothenaat derivaten en teerzalf extracten. Het werkingsmechanisme van deze stoffen zal op moleculair niveau onderzocht worden. Deze kennis zal bijdragen aan het ontwerpen van effectieve medicijnen voor atopische dermatitis. Maatschappelijk is dit onderzoek van belang, omdat atopische dermatitis veel voorkomt bij jonge kinderen en niet alleen tot ernstige klachten kan leiden, maar ook een grote impact heeft op het sociaal functioneren van patiënten en hun naasten. De tot nu toe beschikbare medicijnen kunnen niet langdurig gebruikt worden, bevatten giftige componenten, of hebben andere beperkingen in het gebruik. De DEC acht de ontwikkeling van nieuwe medicijnen voor gebruik bij atopische dermatitis van substantieel belang.
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. Zij hebben belangrijke samenwerkingsverbanden met internationale experts op het gebied van Co-enzym-A biosynthese. Ook hebben zij voldoende financiering voor het bereiken van de doelstelling. De gekozen aanpak leidt tot betrouwbare inzichten in het werkingsmechanisme van teerzalfextracten en (varianten van) pantothenamides bij muizen en ratten, waardoor effectieve medicijnen ontwikkeld kunnen worden voor atopische dermatitis.

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 voor de muizen en ratten wordt hoofdzakelijk bepaald door de gebruikte modellen voor dermatitis. De DEC schat het ongerief als gevolg van de benodigde toediening van medicijnen gedurende maximaal twee weken p.o. (maximaal tweemaal per dag), i.v., i.p., s.c. of op de huid, het meten van het vochtverlies door de huid onder anesthesie, het nemen van microbiom samples, het doden onder anesthesie, en de i.m. toediening van *S. aureus* in als licht. De DEC schat het ongerief als gevolg van het aanbrengen van het OVA-model, het FITC-model en het gebruikte intramusculaire *S. Aureus* model in als matig. De DEC is van mening dat de combinatie van deze factoren tot maximaal matig ongerief voor de dieren leidt. Het cumulatief ongerief voor de muizen en ratten in de beschreven vergunningaanvraag is dus juist ingeschat als licht voor 14% van de muizen en 14% van de ratten, en matig voor 86% van de muizen en 86% van de ratten.
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 immunoreactie in de huid bij atopische dermatitis is dermate complex, dat het effect van medicatie alleen *in vivo* goed bestudeerd kan worden. De toxiciteit van de medicijnen wordt in *in vitro* modellen bepaald, zodat hiervoor geen proefdieren worden ingezet. De onderdelen van het onderzoek die *in vitro* uitgevoerd kunnen worden, zijn al uitgevoerd of zullen *in vitro* uitgevoerd worden. Voor de resterende onderzoeksvragen is het gebruik van proefdieren noodzakelijk.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat 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 het inbouwen van relevante go/no go momenten en door de stapsgewijze aanpak waarin de resultaten uit eerdere proeven worden gebruikt voor het design van vervollexperimenten wordt onnodig gebruik van proefdieren voorkomen. De DEC is van oordeel dat het project kan worden uitgevoerd met maximaal 5000 muizen en 2200 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. Door de toxiciteit van nieuwe medicijnen eerst *in vitro* uit te testen, wordt het risico op onverwachte bijwerkingen verkleind. 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 werkingsmechanisme van teerzalfextracten en (varianten van) pantothenamides bij muizen of ratten, waardoor effectieve medicijnen ontwikkeld kunnen worden voor atopische dermatitis. Het belang van meer inzicht in de moleculaire werkingsmechanismen van deze stoffen en het beschikbaar komen van nieuwe medicijnen voor atopische dermatitis acht de DEC substantieel, gezien de prevalentie van atopische dermatitis en de impact van deze aandoening op patiënten en hun directe omgeving. De huidige medicijnen voor deze aandoening kunnen namelijk niet langdurig gebruikt worden, bevatten giftige componenten of hebben andere beperkingen in het gebruik.

Tegenover dit substantiële belang staat het gegeven dat 14% van de muizen en 14% van de ratten licht ongerief zullen ondervinden en 86% van de muizen en 86% van de ratten matig ongerief zullen ondervinden als gevolg van de gebruikte modellen voor dermatitis in combinatie met 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.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Postbus 9101

6500 HB (628) 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
AVD103002016426

Bijlagen

2

Datum 17 februari 2016

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 17 februari 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD103002016426. 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: Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 41055629
Straat en huisnummer: Geert Grooteplein 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: Onderzoeker
Afdeling: [REDACTED]
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

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 (628) NIJMEGEN

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: 16 maart 2016
Geplande einddatum: 16 maart 2021
Titel project: Drug development for atopic dermatitis
Titel niet-technische samenvatting: Geneesmiddelenontwikkeling voor atopisch eczeem
Naam DEC: RU DEC
Postadres DEC: Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen ([REDACTED])
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1187,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Nijmegen
Datum: 16 maart 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Instantie voor Dierwelzijn
Postbus 9101, [REDACTED]
6500 HB NIJMEGEN
[Barcode]

**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
AVD103002016426
Bijlagen
2

Datum 17 februari 2016
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 17 februari 2016
Vervaldatum: 18 maart 2016
Factuurnummer: 16700426
Ordernummer: 040823-461220/2015-0174/[REDACTED]

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD103002016426	€ 1187,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS0569996317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Postbus 9101

6500 HB (628) 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
AVD103002016426

Bijlagen

1

Datum 8 april 2016

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 17 februari 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Drug development for atopic dermatitis" met aanvraagnummer AVD103002016426. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene 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 "Drug development for atopic dermatitis" starten. De vergunning wordt afgegeven van 8 april 2016 tot en met 31 maart 2021. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag omdat de aanvraagdatum in het verleden ligt.

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 15 februari 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie, nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

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

Bezwaar

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

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

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


J. 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: Stichting Katholieke Universiteit Nijmegen

Adres: Postbus 9101

Postcode en plaats: 6500 HB NIJMEGEN

Deelnemersnummer: 10300

deze projectvergunning voor het tijdvak 08 april 2016 tot en met 31 maart 2021, voor het project "Drug development for atopic dermatitis" met aanvraagnummer AVD103002016426, volgens advies van Dierexperimentencommissie RU DEC. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

[REDACTED] Voor de uitvoering van het project is Instantie voor Dierenwelzijn verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 17 februari 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 17 februari 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 17 februari 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 15 februari 2016, ontvangen op 13 april 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Drug efficacy studies	Muizen (<i>Mus musculus</i>) / wt en ahr muizen	4750	100% Matig	
Drug efficacy studies	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / wild type	1900	100% Matig	
Animals required for research tools	Muizen (<i>Mus musculus</i>) / wild type	250	100% Licht	
Animals required for research tools	Ratten (<i>Rattus norvegicus</i>) / wild type	300	100% Licht	

Voorwaarden

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

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

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

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

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

Einde van een dierproef

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

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

Uit artikel 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.

Van: Info-zbo
Verzonden: vrijdag 22 april 2016 11:36
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningsaanvraag AVD103002016426

Geachte RU DEC,

Op 17-02-2016 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Drug development for atopic dermatitis' met aanvraagnummer AVD103002016426.

De CCD heeft de aanvrager geen aanvullende vragen gesteld.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

.....
T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl