



14 APR. 2016



ARD 107002016514

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

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	10700
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Universiteit Maastricht
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	50169181
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Minderbroedersberg 4-6
		Postbus	616
		Postcode en plaats	6200 MD Maastricht
		IBAN	NL04 INGB 0679 5101 68
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Maastricht
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	[Redacted]
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]

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

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |               |
|------------|---------------|
| Startdatum | 1 - 7 - 2016  |
| Einddatum  | 30 - 6 - 2021 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- De ontwikkeling van een kunststof implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |                                 |
|-------------|---------------------------------|
| Naam DEC    | DEC-UM                          |
| Postadres   | Postbus 616, 6200 MD Maastricht |
| E-mailadres |                                 |

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1187,00 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
- 

## 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 1.7). 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	Maastricht
Datum	7 - 4 - 2016
Handtekening	[Redacted]



## Format

### Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

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

Kraakbeenletsel wordt in 63% van de artroscopische knie-exploraties gezien [1,2]. Vaak komt dit kraakbeenletsel voor in patiënten van middelbare leeftijd. Kraakbeenhersteloperaties zijn vaak, gezien de beperkte regeneratieve capaciteit in deze leeftijdsgroep, niet succesvol. Ernstig kraakbeenletsel leidt tot de versnelde ontwikkeling van artrose in de knie, leidend tot veel pijn en vaak invaliditeit [3]. De eindstadiumbehandeling van artrose bestaat uit het vervangen van het kniegewricht door een totale knieprothese (TKP). Momenteel ontvangen elk jaar meer dan 20.000 patiënten in Nederland een TKP. Het RIVM heeft berekend dat in 2030, rekening houdend met de verwachte toenemende vergrijzing en obesitas, dit aantal zal stijgen tot ruim 60.000 knieprothesen per jaar. Knieprothesen gaan momenteel echter maar 10-15 jaar mee voordat ze vervangen moeten worden; ongeveer 3% van alle prothesen falen jaarlijks doordat deze loslaten of door het falen van componenten. Verder moet ongeveer 1-2% van alle prothesen gereviseerd worden vanwege een infectie [3]. Deze revisie operaties (ongeveer 2200 per jaar in Nederland) gaan gepaard met langere operatietijden, langere opnameperiodes, lagere functionele uitkomsten en hogere incidenties van complicaties [4]. Met name de revisie operaties leiden tot een enorme maatschappelijke kostenpost [5], waardoor het van cruciaal belang is om het aantal TKP revisie operaties drastisch te verminderen. De levensduur van de prothese is onder andere sterk afhankelijk van de leeftijd van patiënt bij het plaatsen van de prothese; jongere patiënten zijn actiever waardoor de knieprothese eerder zal slijten en vervangen zal moeten worden. Het is dus van essentieel belang dat de gemiddelde leeftijd waarop een primaire TKP wordt geplaatst wordt verhoogd, om zodoende ook het aantal revisieoperaties populatiebreed drastisch te verminderen. Daarvoor dienen betere behandelingen van kraakbeendefecten ontwikkeld te worden voor patiënten van middelbare leeftijd in het stadium voorafgaand aan artrose.

Op dit moment zijn metalen implantaten de enige keuze voor herstel van kraakbeendefecten in patiënten van middelbare leeftijd. Aangezien de biomechanische eigenschappen van deze metalen implantaten niet overeenkomen met die van kraakbeen, leiden deze implantaten geleidelijk tot meer kraakbeenschade [6,7,8]. Verdere degeneratie van het kraakbeen zal daardoor alsnog tot ernstige artrose leiden, waardoor het vervangen van het kniegewricht door een totale knieprothese als enige optie overblijft. Tevens is na implantatie van deze implantaten diagnostiek middels MRI niet meer mogelijk.

Het doel van dit project is om een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal (bot-kraakbeen) implantaat te ontwikkelen voor de behandeling van kraakbeendefecten. De biomechanische eigenschappen van dit implantaat dienen beter overeen te komen met kraakbeen dan de huidige metalen implantaten, resulterend in een betere klinische uitkomst. Verder moet het materiaal beeldvorming middels MRI toelaten. Het type kunststof dat wordt beoogd voor gebruik [REDACTED] heeft uitstekende eigenschappen met betrekking tot biocompatibiliteit, een hoge vermoeiingssterkte en een hoge slijtvastheid [REDACTED]

[REDACTED] Er zijn dus gegronde indicaties dat dit materiaal geschikt is voor toepassing in gewrichten.

Het implantaat zal in contact komen met twee verschillende weefsels; de onderzijde van het implantaat zal worden vastgedrukt in het onderliggende bot terwijl de bovenkant en de zijkanten van de bovenkant contact hebben met het kraakbeen aan de tegenoverliggende gewrichtszijde en het kraakbeen rondom het implantaat.

Beiden aspecten (contact met bot en contact met kraakbeen) vergen optimalisatie waardoor er voor een stapsgewijze proefopzet is gekozen. Voordat de invloed van het te ontwikkelen implantaat op de gezondheid van het kraakbeen op de lange termijn kan worden beoordeeld, dient de middellange termijn fixatie geoptimaliseerd te zijn. Hierbij is het van cruciaal belang dat het implantaat integreert in het subchondrale bot zonder fibreuse tussenlaag. Hiervoor is actieve in- een aangroei van bot noodzakelijk, hetgeen alleen *in vivo* kan worden beoordeeld. Er zijn verschillende manieren om actieve in- en aangroei van bot te stimuleren. Dit kan door het implantaat te bedekken met een coating aan het oppervlakte of door het aanbrengen van kanalen of poriën in de structuur waardoor het implantaat volledig kan integreren met omringende bot. Daarom zal allereerst de integratie met het onderliggende bot beoordeeld worden voor implantaten met verschillende coatings en poriëmaten.

De invloed van poriematens is eerder bestudeerd voor titanium implantaten [13], echter is dit nog niet eerder gedaan voor kunststof implantaten. Vanwege een groot verschil in de stijfheid (200 MPa versus 200 GPa) kunnen deze resultaten niet zomaar getransleerd worden naar kunststof implantaten. Verder zijn er verschillende manieren van coaten bekend om polymerische implantaten osteoinductief te maken:

[REDACTED] De invloed van het varieëren van de porie-maat en coating op de osteointegratie van een kunststof implantaat zal worden bestudeerd in de eerste fase, waarbij vier verschillende combinaties van deze factoren worden bestudeerd. Een titanium controle groep zal hierbij worden meegenomen. Voorafgaand aan deze fase zal een voorselectie van kandidaat coatings en porie-maten worden gemaakt door middel van *in vitro* onderzoek.

De twee implantaten die het meest geschikt blijken in fase 1 zullen worden bestudeerd in een lange termijn effectiviteitsstudie waarbij de huidige standaard, de metalen implantaten, en een sham geopereerde groep dieren worden meegenomen. De belangrijkste uitkomstparameter in de tweede studie is de lange termijn gezondheid van het omringende en overstaande kraakbeen. Dit zal worden beoordeeld door middel van histopathologische scoringssystemen.

1. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery : official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association*. 1997 Aug;13(4):456-60. PubMed PMID: 9276052.
2. Hjelle K, Solheim E, Strand T, Muri R, Brittberg M. Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies. *Arthroscopy : the journal of arthroscopic & related surgery : official publication of the Arthroscopy Association of North America and the International Arthroscopy Association*. 2002 Sep;18(7):730-4. PubMed PMID: 12209430.
3. Crema, M.D., et al., *Progression of cartilage damage and meniscal pathology over 30 months is associated with an increase in radiographic tibiofemoral joint space narrowing in persons with knee OA--the MOST study*. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014. **22**(10): p. 1743-7.
4. Ritter MA, Carr KD, Keating EM, Faris PN, Bankoff DL, Ireland PM. Revision total joint arthroplasty: does medicare reimbursement justify time spent? *Orthopedics*. 1996 Feb;19(2):137-9. PubMed PMID: 8834288.
5. Lavernia C, Lee DJ, Hernandez VH. The increasing financial burden of knee revision surgery in the United States. *Clinical orthopaedics and related research*. 2006 May;446:221-6. PubMed PMID: 16672891.
6. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Mar;18(3):377-88.
7. Custers RJ, Saris DB, Dhert WJ, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Articular cartilage degeneration following the treatment of focal cartilage defects with ceramic metal implants and compared with microfracture. *J Bone Joint Surg Am*. 2009 Apr;91(4):900-10.
8. Laursen JO, Lind M. Treatment of full-thickness femoral cartilage lesions using condyle resurfacing prosthesis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2015 Jul 29. [Epub ahead of print]

13. Taniguchi N, Fujibayashi S, Takemoto M, Sasaki K, Otsuki B, Nakamura T, Matsushita T, Kokubo T, Matsuda S. Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: An in vivo experiment. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016 Feb 1;59:690-701.

14. [REDACTED]

15.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het doel van dit project is het ontwikkelen en het preklinisch testen van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat, waarvan de biomechanische eigenschappen overeenkomen met die van kraakbeen.

Allereerst dient dit implantaat voldoende gefixeerd te blijven in het subchondrale bot (bot onder het kraakbeen). Het eerste doel is identificatie van de implantaatvariant (combinatie van implantaat porie-maat en coating) waarmee bot in- en aangroei optimaal wordt gestimuleerd om zodoende een optimale middellange termijn fixatie te verkrijgen. Het tweede doel is het aantonen van de effectiviteit van dit implantaat; hierbij zal worden gekeken naar de gezondheid van het kraakbeen na een periode van 26 of 52 weken na het inbrengen van het implantaat.

De gestelde doelen lijken haalbaar gezien eerdere toepassingen van het materiaal binnen gewrichtsoperaties in preklinische dierenmodellen en ook klinisch bij patiënten. De te evalueren coatings zijn eerder bestudeerd in combinatie met metalen implantaten in andere lichaamsdelen. In verschillende omstandigheden bleken de coatings bot aangroei te stimuleren. Naar verwachting zal de translatie naar een ander implantaat materiaal (kunststof in plaats van metaal) en een andere lichaamsdeel (bot binnen het gewricht in plaats van lange botten) geen effect hebben op de functionaliteit van de verschillende coatings. De praktische uitvoering van het project is ook haalbaar, gezien alle voorradige faciliteiten inclusief operatiekamers, faciliteiten voor het uitvoeren van PET-CT scans, ervaren orthopedische chirurgen en huisvestingsruimtes.

### 3.3 Belang

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

Kraakdefecten op jonge leeftijd geven een grote kans op artrose op latere leeftijd. Bij jonge patiënten worden regeneratieve technieken veelvuldig en succesvol gebruikt voor de behandeling van kraakbeedefecten. Het succes van regeneratieve (stamcel) technieken daalt met toenemende leeftijd [1]. Als regel worden daarom regeneratieve technieken niet meer toegepast bij patiënten boven de 40 jaar oud. Voor deze patiënten zijn metalen implantaten beschikbaar [2]. Het is echter gebleken dat metalen implantaten leiden tot degeneratie van het tegenoverstaande kraakbeen en patiënten last blijven houden van pijn, beiden vermoedelijk als gevolg van een lokale verhoogde mechanische belasting. Dit noodzaakt relatief vaak (23-28% na 2 jaar) revisie chirurgie waarbij alsnog op zeer jonge leeftijd een hemi- of totale knieprothese wordt geplaatst [3-4]. De stijfheid van het kunststof van het nieuwe implantaat komt dicht in de buurt van de stijfheid van kraakbeen [ ] terwijl de stijfheid van metaal typisch een factor 200,000 hoger is dan kraakbeen (200 GPa versus 1 MPa) [5]. Vermoedelijk zal dit verschil in stijfheid leiden tot een hogere overlevingsduur van het nieuwe implantaat en tot betere klinische resultaten.

1. Kreuz PC, Erggelet C, Steinwachs MR, et al. Is microfracture of chondral defects in the knee associated with different results in patients aged 40 years or younger? *Arthroscopy*. 2006;22:1180-6.
2. Bollars P, Bosquet M, Vandekerckhove B, Hardeman F, Bellemans J. Prosthetic inlay resurfacing for the treatment of focal, full thickness cartilage defects of the femoral condyle: a bridge between



biologics and conventional arthroplasty. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 Sep; 20(9): 1753-9.2

3. Laursen JO, Lind M. Treatment of full-thickness femoral cartilage lesions using condyle resurfacing prosthesis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2015 Jul 29. [Epub ahead of print]
4. Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry (2013) Annual report
5. Mansour, JOSEPH M. "Biomechanics of cartilage." *Kinesiology: the mechanics and pathomechanics of human movement* (2003): 66-79.

---

### 3.4 Onderzoeksstrategie

---

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

Het doel van dit project is het ontwikkelen en het preklinisch testen van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat, waarvan de biomechanische eigenschappen overeenkomen met die van kraakbeen.

Initiële fixatie zal voordat er met dierproeven wordt begonnen worden beoordeeld in (dierlijke) kadaver knieën. Zo zal uitvoerig bestudeerd worden welke diameter het geboorde gat moet hebben voor optimale fixatie van een press-fit implantaat. Verder zal gebruik worden gemaakt van een universele gewrichten testmachine om de fysiologische belasting van de (kadaver) knie na te bootsen. Hierdoor zal de chirurgische techniek worden geoefend en zal de volledige korte termijn stabilisatie van het implantaat in kaart kunnen worden gebracht voordat er dierenproeven worden uitgevoerd. De kans op vroege loslating, met falen van het experiment als gevolg, zal daardoor tot een minimum worden beperkt.

Verder zal een grote variatie aan implantaat stukken met combinaties van verschillende coatings en poriematen worden gescreend op botceladhesie en osteoinductie in verschillende *in vitro* modellen. Op deze manier zal er een voorselectie met betrekking tot de soort coating en de porositeit van het implantaat worden gemaakt.

Vier verschillende experimentele implantaten zullen worden ingebracht in de knie van de geit. Na 12 weken zullen de dieren worden opgeofferd en zal de integratie van het implantaat met het bot worden beoordeeld door middel van histopathologie en/of hoge resolutie CT (microCT).

Nadat de optimale manier van fixatie en integratie met het onderliggende bot is ontwikkeld, dient de klinische effectiviteit op lange termijn bestudeerd te worden. In theorie zou het implantaat het aanliggende kraakbeen moeten beschermen tegen verdere beschadiging en tegelijkertijd mag het implantaat niet leiden tot verslechtering van de staat van het tegenoverliggende kraakbeen. Zesentwintig en 52 weken na implantatie zullen de dieren worden opgeofferd en zal de gezondheid van het kraakbeen worden geevalueerd via een histopathologisch scoringssysteem.

---

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

De twee hoofdlijnen van dit onderzoek zijn: (1) bepalen van de oppervlaktebehandeling (combinatie van coating en poriemaat) die leidt tot de optimale fixatie en integratie van het implantaat in het subchondrale bot en (2) bepalen van de mate waarin het implantaat het aangrenzende kraakbeen beschermt tegen verdere beschadiging.

Voor de eerste hoofdlijn zal een middellange termijn dierproef (12 weken) worden uitgevoerd met als primaire uitkomst de mate van osteointegratie (integratie met het subchondrale bot) van verschillende variaties van het implantaat. Voor de tweede hoofdlijn zal een lange termijn dierproef (26 en 52 weken) worden uitgevoerd, waarin de conditie van het aangrenzende kraakbeen na het inbrengen van het te ontwikkelen implantaat zal worden vergeleken met de gezondheid van het aangrenzende kraakbeen na het inbrengen van metalen implantaten, hetgeen de huidige standaard is. Beiden dierenproeven zullen worden uitgevoerd in geiten. De geit is een veelvuldig gebruikt dierenmodel voor het bestuderen van

---

technieken ter behandelings van kraakbeendefecten in de knie [1,2]. De dikte van de kraakbeenlaag, de dikte van de subchondrale botlaag en de verhouding tussen beiden komen het dichtst in de buurt van de mens, waardoor het geitenmodel het meest geschikte model is voor beiden dierproeven binnen dit project.

1. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17: 705–13.
2. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. *Tissue Eng Part B Rev* 2010; 16: 105–15.

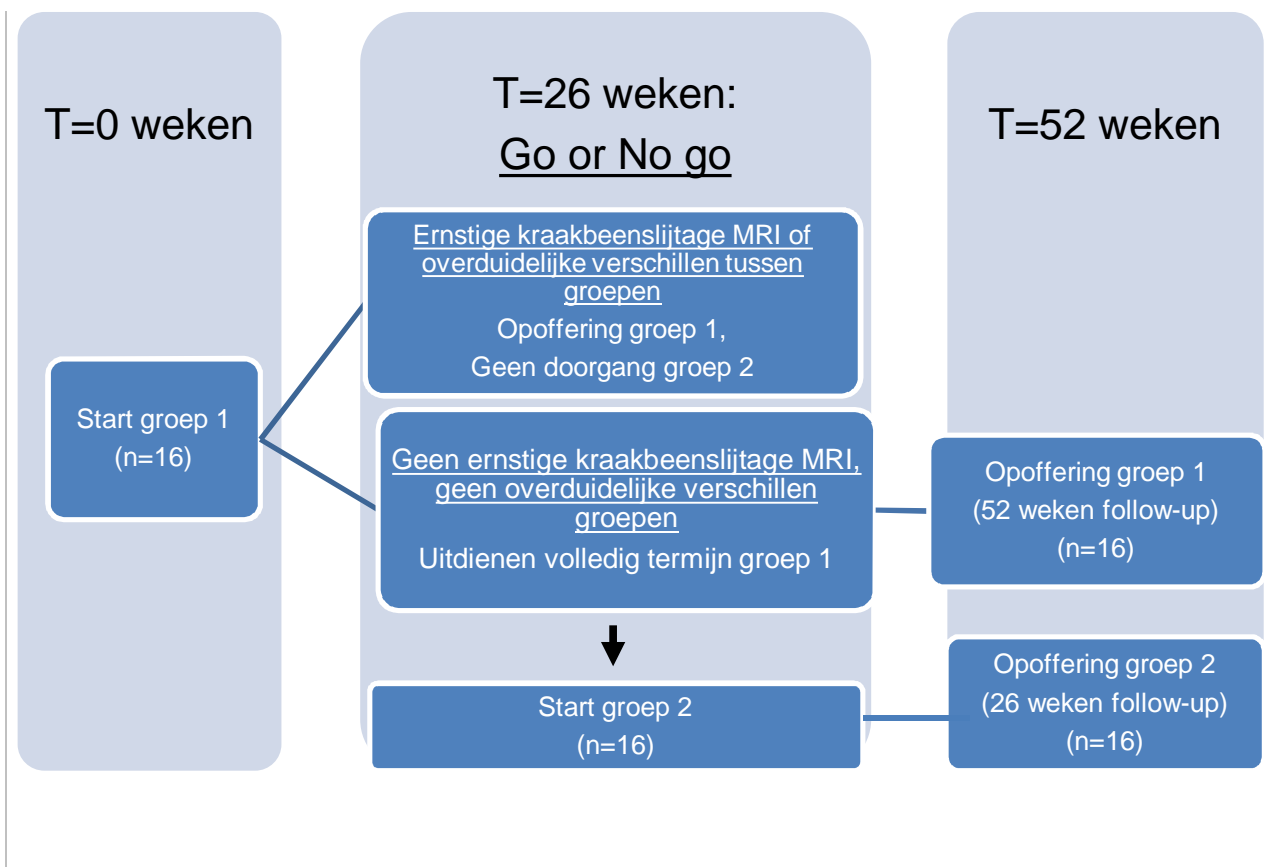
---

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

---

De eerste hoofdlijn heeft als doel de implantaatvariant (combinatie van implantaat porie-maat en coating) te identificeren waarmee bot in- en aangroei optimaal wordt gestimuleerd om zodoende een optimale middellange termijn fixatie te verkrijgen. In deze fase zullen vier implantaten met verschillende combinaties van coating en poriematen worden getest en met elkaar worden vergeleken; twee verschillende coatings en een grove en fijnere poriemaat. Hierbij zal ook een controle groep, bestaande uit metalen implantaten worden meegenomen. Uit deze eerste fase zullen maximaal twee implantaatontwerpen voortvloeien die zullen worden beoordeeld op klinische effectiviteit in fase 2. De twee implantaten waarvan het hoogste implantaat oppervlakte percentage is bedekt met bot, waarbij een ondergrens wordt gesteld, zullen voortvloeien naar fase 2.

De tweede hoofdlijn heeft als doel het te ontwikkelen implantaat te beoordelen op de klinische effectiviteit met als belangrijkste uitkomstparameter de mate waarin het implantaat het aangrenzende kraakbeen beschermt tegen verdere degeneratie. Hierbij zullen dieren op twee verschillende tijdstippen worden opgeofferd (26 en 52 weken) om onderscheid te kunnen maken tussen late en vroege kraakbeenschade. De 52 weken weken groep zal eerst worden ingezet en bij deze dieren zal na 26 weken een MRI scan van de kniegewrichten worden gemaakt. Bij constatering van zeer ernstige, dehabiliterende kraakbeenslijtage of overduidelijke verschillen tussen implantaatgroepen op basis van de MRI beelden zullen de dieren op dit moment worden opgeofferd (26 weken). Indien dit het geval is, zal verder histopathologisch onderzoek plaatsvinden, waardoor het beoordelend vermogen wordt vergroot. Indien blijkt dat het projectdoel al kan worden bereikt op basis van de histopathologische onderzoeken afkomstig van dit tijdstip, zal de tweede groep dieren niet meer worden ingezet. Indien er geen sprake is van zeer ernstige kraakbeenslijtage of er geen duidelijke verschillen tussen de groepen waarneembaar zijn op de MRI beelden, zullen deze dieren pas na 52 weken worden opgeofferd en zal de tweede groep dieren (opoffering 26 weken) worden ingezet. Het nieuwe kunststof osteochondraal implantaat zal vergeleken worden met de huidige standaard (metalen implantaten) en met een sham geopereerde groep.



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

Volgnummer	Type dierproef
1	Geitenstudie: Het effect van oppervlakte structuur en coating op de osteointegratie van een kunststof implantaat ter behandeling van kraakbeendefecten in de knie
2	Geitenstudie: Het lange termijn effect van een kunststof implantaat ter behandeling van kraakbeendefecten op de gezondheid van aan- en omliggend kraakbeen in de knie
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10700	
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Universiteit Maastricht	
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.  <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	Volgnummer	Type dierproef
	1	Geitenstudie: Het effect van oppervlaktestructuur en coating op de osteointegratie van een kunststof implantaat ter behandeling van kraakbeendefecten in de knie

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Vier verschillende kunststof kraakbeenimplantaten met verschillende combinaties van coating en poriemaat en één controle metalen implantaat zullen bilateraal worden geïmplantéerd in de knie van skeletair volwassen geiten (> 1.5 jaar oud). De primaire uitkomstparameter is de mate van integratie van het implantaat met het omliggende bot, gekwantificeerd door het percentage van het implantaatoppervlak in direct contact met bot te beoordelen door gebruik van zowel beeldvormende (microCT) als histopathologische technieken.

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

Een osteochondraal implantaat zal operatief worden ingebracht in beide knieën van de geit. Na een artrotomie zal een cilindervormig gat van gecontroleerde diepte worden geboord door het kraakbeen tot in het subchondrale bot. Het implantaat zal via press-fit vast worden gedrukt in het onderliggende bot. De geboorde cilinder zal daarom iets smaller zijn dan het implantaat voor voldoende fixatie. De dieren zullen op basis van ervaringen met soortgelijke implantaten weinig tot geen last hebben van deze procedure en het implantaat, waardoor het implantaat in beide knieën zal worden geplaatst [1,2]. Op deze manier zullen beide implantaten volledig worden belast. In de eerste week postoperatief zullen de dieren worden gehuisvest in bewegingsbeperkende ruimten om zodoende gecontroleerde belasting op het implantaat toe te laten. Na 2 weken zal de positie van het implantaat door middel van een röntgenfoto worden gecontroleerd onder lichte sedatie en zullen de hechtingen worden verwijderd

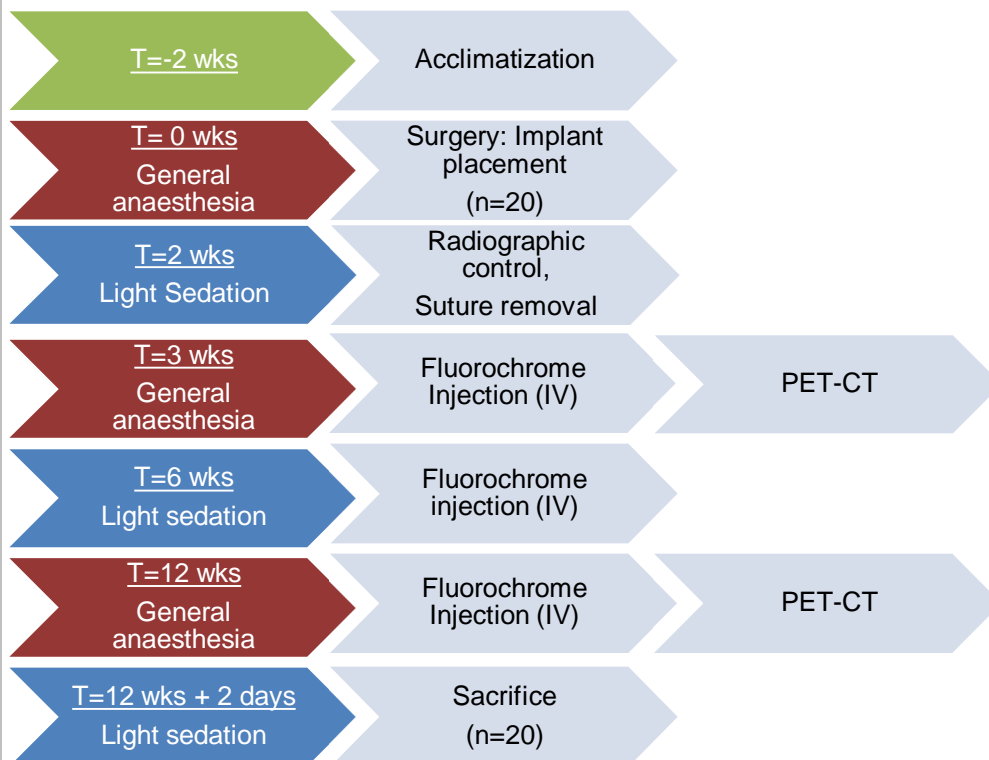
Op drie tijdstippen worden fluorochrome labels intraveneus toegediend onder lichte sedatie danwel volledige narcose (alleen wanneer de injectie wordt gecombineerd met een PET-CT-scan, zie vervolg). Deze fluorochrome labels circuleren ongeveer 24-36 uur in het lichaam en worden ingebouwd in het bot waar op dat moment mineralisatie plaats vindt. Door middel van fluorescente belichting kan op die manier na opoffering een tijdslijn in de histopathologische coupes van het bot worden gevisualiseerd die het incorporatieproces van de fluorochrome labels en dus osteointegratie weergeven. Fluorochrome labeling is een veel gebruikte en efficiënte manier om botmetabolisme op verschillende tijdstippen in een levend dier te meten [3].

Op twee tijdstippen zullen de dieren een PET-CT scan ondergaan onder volledige narcose. Hiervoor zal een  $^{18}\text{F}$ -Fluoride tracer intraveneus worden toegediend. Deze tracer geeft een indicatie van het botmetabolisme rondom het implantaat en biedt potentiële mogelijkheden voor vroegtijdige diagnostisering van falende implantaten in de kliniek in de toekomst [4]. Binnen deze studie zal worden onderzocht of het PET-CT beeld correleert met botaanmaak en stabiliteit van het implantaat, zoals achteraf zal worden beoordeeld op basis van histopathologische technieken.

Enkele dagen na de PET-CT scan op 12 weken zullen de dieren worden geëuthaniseerd. Er is gekozen voor enkele dagen tussen de PET-CT scan en euthansie om volledig verval van de radioactieve tracer op te laten treden om te voorkomen dat mensen in contact komen met mogelijk radioactief besmet materiaal.

1. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Mar;18(3):377-88.
2. Leng P, Wang YZ, Zhang HN. Repair of large osteochondral defects with mix-mosaicplasty in a goat model. *Orthopedics*. 2013 Mar;36(3):e331-6.
3. van Gaalen SM, Kruyt MC, Geuze RE, de Bruijn JD, Alblas J, Dhert WJ. Use of fluorochrome labels in in vivo bone tissue engineering research. *Tissue Eng Part B Rev*. 2010 Apr;16(2):209-17
4. Peters M, Willems P, Weijers R, Wierth R, Jutten L, Urbach C, Arts C, van Rhijn L, Brans B. Pseudarthrosis after lumbar spinal fusion: the role of  $^{18}\text{F}$ -fluoride PET/CT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015 Nov;42(12):1891-8.

#### Tijdslijn osteointegratiestudie



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

Implantaten zullen bilateraal worden geïmplanteerd in de knie (twee implantaten per dier) om het benodigde aantal dieren tot een minimum te beperken.

Om het aantal benodigde proefdieren te bepalen is een berekening gedaan om de groepsgrootte te bepalen. De belangrijkste uitkomstmaat is het percentage van het implantaat dat direct in contact is met bot. Vergelijkbare studies leveren een indicatie voor de spreiding en de effectgrootte [1].

1. Custers RJ, Dhert WJ, van Rijen MH, Verbout AJ, Creemers LB, Saris DB. Articular damage caused by metal plugs in a rabbit model for treatment of localized cartilage defects. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 Aug; 15(8):937-45.

## B. De dieren

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

Vrouwelijke geiten zullen worden gebruikt voor deze studie omdat deze vanwege de commerciële houderijsystemen veel makkelijker te verkrijgen zijn en omdat vrouwelijke geiten binnen één groep kunnen worden gehuisvest [1]. Het gebruik van alleen vrouwelijke dieren zal naar verwachting geen invloed hebben op de resultaten van de studie en de belasting van de knie (de belangrijkste factor van invloed op de uitkomstmaten). **Het gebruik van alleen vrouwelijke dieren is een veelvuldig gemaakte- en breed geaccepteerde keuze in preklinische studies naar verschillende kraakbeenherstel technieken [2-5].**

Er is gekozen voor een grote diersoort omdat er een implantaat wordt getest dat is ontworpen voor humaan gebruik; het implantaat moet passen in het te testen gewricht. Er is gekozen voor geiten omdat de anatomie van de geitenknie gelijkenis toont met de humane knie [6] en omdat de dikte van het kraakbeen het dichtst in de buurt komt bij die van de mens [6,7]. In studies waarbij andere osteochondrale implantaten (veelal resorbeerbare implantaten of metalen implantaten) worden getest, wordt ook veelvuldig gebruik gemaakt van de geit [6-8]. De dieren dienen skeletair volwassen te zijn (>1.5 jaar). De voorkeur gaat meteen ook uit naar geiten van 1.5-2 jaar oud, omdat geiten van nature slijtage van het kraakbeen vertonen en dat erger wordt met toenemende leeftijd.

Vijf groepen (vier varianten van het kunststof implantaat en één groep metalen implantaten) bestaande uit elk 8 implantaten zullen worden geïncludeerd in deze studie (8x5=40 kniën, inclusief mogelijke uitval). Omdat de implantaten bilateraal (2 kniën per geit) worden geïmplanteerd, zal het aantal 20 dieren bedragen (40 kniën/2=20 dieren).

1. Fulton LK, Clarke MS, Farris HE, Farm Animals in Biomedical Research-Part Two: The Goat as a Model for Biomedical Research and Teaching *ILAR J* (1994) 36 (2): 21-29 doi:10.1093/ilar.36.2.21
2. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Mar; 18(3): 377-88
3. Vrancken AC, Madej W, Hannink G, Verdonschot N, van Tienen TG, Buma P. Short Term Evaluation of an Anatomically Shaped Polycarbonate Urethane Total Meniscus Replacement in a Goat Model. *PLoS One*. 2015 Jul 20; 10(7):e0133138.
4. Brehm W, Aklin B, Yamashita T, Rieser F, Trüb T, Jakob RP, Mainil-Varlet P. Repair of superficial osteochondral defects with an autologous scaffold-free cartilage construct in a caprine model: implantation method and short-term results. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 Dec; 14(12):1214-26. Epub 2006 Jul 3.
5. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study. *J Bone Joint Surg Am*. 2001 Jan; 83-A(1):53-64.
6. Kon E, Filardo G, Shani J, Altschuler N, Levy A, Zaslav K, Eisman JE, Robinson D. Osteochondral regeneration with a novel aragonite-hyaluronate biphasic scaffold: up to 12-month follow-up study in a goat model. *J Orthop Surg Res*. 2015 May 28; 10:81. doi: 10.1186/s13018-015-0211-y.
7. Hurtig MB, Buschmann MD, Fortier LA, Hoemann CD, Hunziker EB, Jurvelin JS, Mainil-Varlet P, McIlwraith CW, Sah RL, Whiteside RA. Preclinical Studies for Cartilage Repair: Recommendations from the International Cartilage Repair Society. *Cartilage*. 2011 Apr; 2(2):137-52.
8. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage* 2009; 17: 705-13.

9. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. Tissue Eng Part B Rev 2010; 16: 105–15.

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

### D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Initiële fixatie zal vantevoren worden beoordeeld in (dierlijke) kadaver knieën. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een universele gewrichten testmachine. Dit apparaat zal worden gebruikt om fysiologische belasting van de (kadaver-) knie na te bootsen.

Hierdoor zal de volledige korte termijn stabilisatie van het implantaat in kaart kunnen worden gebracht voordat er dierenproeven worden uitgevoerd. De kans op vroege loslating, met falen van het experiment als gevolg, zal daardoor tot een minimum worden beperkt. Verder zal een grote variatie aan implantaatstukken met combinaties van verschillende coatings en poriematen worden gescreend op botceladhesie en osteoinductie in verschillende *in vitro* modellen. Op deze manier zal er een voorselectie met betrekking tot de soort coating en de porositeit van het implantaat worden gemaakt.

Vermindering: Implantaten zullen bilateraal operatief worden geplaatst. Dit zal leiden tot een halvering van het benodigde aantal dieren. Het bilateraal plaatsen van implantaten ter behandeling van kraakbeen defecten is eerder gedaan met soortgelijke osteochondrale implantaten [1,2] waardoor deze aanpak is gerechtvaardigd. Adequate anaesthesie en analgesie protocollen zullen worden samengesteld in overleg met een veterinaire anaesthesioloog om pijn zoveel mogelijk te verminderen. Het postoperatieve beleid is erop gericht om dieren zo snel mogelijk weer ambulante te krijgen, met minimale ervaring van stress. Combinaties van verschillende implantaten in de linker en rechter knieën zullen worden gevarieerd om potentiële bias te voorkomen.

Verfijning: Door het injecteren van fluorochrome labels op verschillende tijdstippen is het mogelijk de staat van botaanmaak of remodelering op deze momenten achteraf te visualiseren. Dit geeft inzicht in het proces van osteointegratie in de loop van de tijd, zonder dat er dieren op tussentijden opgeofferd dienen te worden. Er is gekozen voor een grote diersoort in plaats van een lagere diersoort zoals een konijn omdat kleine diersoorten over een grotere intrinsieke reparatiecapaciteit van kraakbeen beschikken en omdat de anatomie en mechanische belasting in de knie moeilijker te vergelijken is met de mens [3-5]. Tevens kan een kleine diersoort zoals een konijn een vertekend beeld van de resultaten geven daar het implantaat zo goed als gelijk moet liggen met het omliggende kraakbeen en bij een klein dier met een dunne laag kraakbeen dus sneller relatief grote fouten worden gemaakt.

1. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. Osteoarthritis Cartilage. 2010 Mar; 18(3): 377-88.
2. Leng P, Wang YZ, Zhang HN. Repair of large osteochondral defects with mix-mosaicplasty in a goat

model. Orthopedics. 2013 Mar; 36(3):e331-6.

3. Hurtig MB, Buschmann MD, Fortier LA, Hoemann CD, Hunziker EB, Jurvelin JS, Mainil-Varlet P, McIlwraith CW, Sah RL, Whiteside RA. Preclinical Studies for Cartilage Repair: Recommendations from the International Cartilage Repair Society. Cartilage. 2011 Apr; 2(2):137-52.
4. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. Osteoarthritis Cartilage 2009; 17: 705–13.
5. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. Tissue Eng Part B Rev 2010; 16: 105–15.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Dieren zullen buiten de postoperatieve fase in groepen worden gehuisvest uit sociaal oogpunt om zodoende angst en eenzaamheid tot een minimum te beperken. De dieren zullen protocollair worden voorbereid, geopereerd en postoperatief worden nabehandeld. Anaesthesie, peroperatieve pijnbestrijding, antibiotica en postoperatieve analgetica zullen daarbij lege artis worden toegepast.

Na de operatie worden de dieren niet door middel van een spalk of sling beperkt in mobiliteit. Dieren zullen de eerste weken na de operatie wel individueel (of samen met andere net geopereerde geiten) worden gehuisvest in een beperkte ruimte om geleidelijk aan beweging toe te laten. Tijdens deze periode zal de bedding eventueel worden aangepast naar behoefte. Individueel gehuisveste dieren zullen in dezelfde ruimte en naast andere geiten verblijven (in direct contact) uit sociaal oogpunt. Dieren zullen direct worden terug geplaatst in de groep wanneer ze volledig ambulant zijn zonder claudicatie.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

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

Het implantaat dat zal worden getest is een uniek en nieuw ontwikkeld implantaat, waarmee nog geen eerdere dierenproeven uitgevoerd zijn geweest.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

Individuele huisvesting (of huisvesting in paren) zal plaats vinden na de operatie zodat dieren voorzichtig weer gaan bewegen. De geiten zullen in dezelfde ruimte en naast andere geiten (in direct contact) verblijven uit sociaal oogpunt. Dieren zullen direct worden terug geplaatst in de groep wanneer ze volledig ambulant zijn zonder claudicatie.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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



---

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

Peri- en postoperatief (minimaal drie dagen) zal pijnstilling worden toegediend. De dieren moeten volledig zelfstandig ambulantly zijn voordat de pijnstilling zal worden gestopt.

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Loslating van het implantaat of afstoting door het lichaam kan optreden.  
Postoperatieve wondinfectie blijft een risico na elke chirurgische ingreep.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Mogelijke oorzaken van postoperatieve wondinfectie zijn: niet geheel steriel werken, niet voldoende steriel afdekken of onvoldoende prepareren van het chirurgische gebied en steriele materialen die niet aan de eisen voldoen. Loslating van het implantaat kan optreden vanwege mechanisch falen, implantaatinfectie leidend tot osteomyelitis met botresorptie danwel afstoting van het lichaam.

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

Profylactische antibiotica zal pre- en postoperatief worden toegediend. Strikte maatregelen zullen worden genomen om de steriliteit tijdens de procedure te waarborgen. Eventueel zal de wond postoperatief worden afgedekt met een jodiumfilm om contaminatie na de operatie te voorkomen. Een ervaren orthopedische chirurg (kniespecialist) met tevens chirurgische ervaring in geiten zal de operaties uitvoeren.

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Niet belasten van de poot of blijvende claudicatie ondanks analgesie zijn de meest voor de hand liggende complicaties. Dit kan leiden tot spieratrofie. Loslating van het implantaat (evt door afstoting) kan hier een oorzaak van zijn. Blijvende claudicatie wordt derhalve beschouwd als humaan eindpunt.

Postoperatieve wondinfectie, leidend tot volledige gewrichtsontsteking en algehele malaise die niet onder controle is te krijgen door middel van antibiotica toediening, wordt ook beschouwd als humaan eindpunt.

Langdurige postoperative zwakte, waarbij het dier niet zelfstandig kan staan.

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

Niet belasten van de poot of blijvende claudicatie wordt niet vaak beschreven in de literatuur bij vergelijkbare studies. Omdat dit een nieuw te ontwikkelen implantaat betreft, wordt voor de zekerheid een kans van 5% aangehouden.

---

Minder dan 1% van de patiënten loopt kans op een postoperative infectie na autologe kraakbeen transplantatie, een ingreep die vergelijkbaar is met deze proef qua invasiviteit en duur [1]. In één studie beschreven door Saw et al. [2], ontwikkelde 1 van de 15 geiten (6.7%) een postoperatieve infectie in de knie. In vele andere soortgelijke studies bij geiten worden echter geen infecties gemeld. Daaruit concluderen we dat kans op infecties bij geiten na kraakbeen operaties soortgelijk is als bij de mens. De kans op langdurige postoperative zwakte lijkt zeer beperkt. De kans op optreden van een van deze beide complicaties wordt op 5% geschat.

1. Harris JD, Siston RA, Brophy RH, Lattermann C, Carey JL, Flanigan DC. Failures, re-operations, and complications after autologous chondrocyte implantation--a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011 Jul; 19(7): 779-91.
2. Saw KY, Hussin P, Loke SC, Azam M, Chen HC, Tay YG, Low S, Wallin KL, Ragavanaidu K. Articular cartilage regeneration with autologous marrow aspirate and hyaluronic Acid: an experimental study in a goat model. *Arthroscopy*. 2009 Dec; 25(12): 1391-400.

### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De dieren zullen eenmalig een operatieve ingreep ondergaan, waarvoor ze onder algehele anaesthesie worden gebracht. Het onder anaesthesie brengen en ontwaken hieruit kan tot enige vorm van stress leiden. De operatieve ingreep kan leiden tot moeilijke ambulatie, hetgeen stress en pijn kan veroorzaken. Om vroege loslating te voorkomen zullen de dieren de eerste dagen na de operatie individueel of in paren worden gehuisvest. Gedurende deze periode zullen herstellende dieren wel in direct contact blijven met andere geiten en zullen de dieren direct worden terug geplaatst in de groep zodra ze volledig ambulant zijn zonder claudicatie.

Verder zullen dieren nog tweemaal onder algehele anaesthesie worden gebracht om het uitvoeren van een PET-CT-scan mogelijk te maken. Dit kan wederom leiden tot enige vorm van stress tijdens het narcotiseren of de ontwaking uit narcose. Ten tijde van deze volledige narcose zullen de dieren via een intraveneuze injectie de fluorochrome labels krijgen toegediend. Eenmalig, wanneer er geen PET-CT wordt gemaakt, zal een dergelijke injectie worden gedaan onder lichte sedatie.

Uiteindelijk classificeren we het totaal ongerief als matig, vanwege de mogelijke pijn en stress.

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

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

Nee

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

De belangrijkste uitkomstparameter is de mate van integratie van het implantaat met het onderliggende en omringende bot en zal gekwantificeerd worden op basis van histopathologische scoringsysteem. Hiervoor is het noodzakelijk om het dier te euthaniseren.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10700	
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Universiteit Maastricht	
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.  <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	Volgnummer	Type dierproef
	2	Geitenstudie: Het effect van een kunststof implantaat ter behandeling van kraakbeendefecten op de gezondheid van aan- en tegenoverliggende kraakbeen op lange termijn in de knie

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

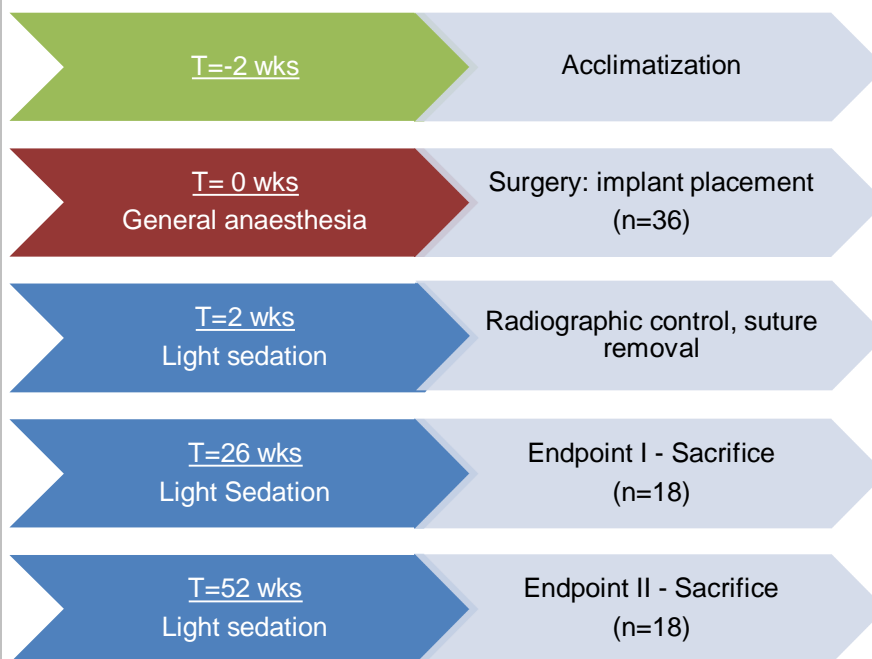
Verschillende kunststof implantaten ter behandeling van kraakbeendefecten in de knie zullen bilateraal worden geïmplanteerd in de mediale zijden van skeletair volwassen geitenknieën (> 1.5 jaar oud). Een groep met de huidige standaard, metalen implantaten, en een sham geopereerde groep zullen worden meegenomen als controlegroepen. De primaire uitkomstparameter is de conditie van het tegenoverliggende en aanliggende kraakbeen op twee tijdstippen. De gezondheid van het kraakbeen zal worden gescoord op basis van zowel beeldvormende (MRI) als histopathologische technieken, met de histopathologische scores als belangrijkste uitkomstmaat (volgens het OsteoArthritis Research Society International (OARSI) Cartilage Histopathological Assessment System (OOCHAS) volgens Pritzker et al. 2006). Klinische parameters zoals pijn en beweeglijkheid zijn moeilijk te beoordelen in de geit en hier zijn geen gevalideerde scoringssystemen voor, waardoor dit geen primaire uitkomstmaten zijn.

1. Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier JP, Revell PA, Salter D, van den Berg WB. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*. 2006 Jan; 14(1): 13-29.

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

Een osteochondraal implantaat zal operatief worden ingebracht in beide knieën van de geit. Na een

artrotomie zal een cilindervormig gat van gecontroleerde diepte worden geboord door het kraakbeen heen tot in het subchondrale bot. Het implantaat zal middels press-fit in het bot worden vastgedrukt. Het geboorde gat zal iets smaller zijn dan het implantaat voor voldoende fixatie. De dieren zullen op basis van ervaringen met soortgelijke implantaten weinig tot geen last hebben van deze procedure en het implantaat, waardoor het implantaat in beide knieën zal worden geplaatst [1,2]. Op deze manier wordt er ook gegarandeerd dat de implantaten volledig worden belast. In de eerste week postoperatief zullen de dieren worden gehuisvestigd in bewegingsbeperkende ruimten om zodoende gecontroleerde belasting op het implantaat toe te laten. Na 2 weken zal de positie van het implantaat door middel van een röntgenfoto worden gecontroleerd onder lichte sedatie en zullen de hechtingen worden verwijderd. Een groep dieren zal na 26 weken worden opgeofferd en een groep na 52 weken.



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

Implantaten zullen bilateraal worden geïmplanteerd in de knie (twee implantaten per dier) om het benodigde aantal dieren tot een minimum te beperken.

Om het aantal benodigde proefdieren te bepalen is een berekening gedaan om de groepsgrootte te bepalen. De belangrijkste uitkomstmaat is de OCHAS score. Vergelijkbare studies leveren een indicatie voor de spreiding en de effectgrootte (Custers et al. 2010).

1. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Mar; 18(3): 377-88.

## B. De dieren

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

Vrouwelijke geiten zullen worden gebruikt voor deze studie omdat deze vanwege de commerciële houderijsystemen veel makkelijker te verkrijgen zijn en omdat vrouwelijke geiten binnen één groep kunnen worden gehuisvest [1]. Het gebruik van alleen vrouwelijke dieren zal naar verwachting geen invloed hebben op de resultaten van de studie en de belasting van de knie (de belangrijkste factor van invloed op de uitkomstmaten). Het gebruik van alleen vrouwelijke dieren is een veelvuldig gemaakte- en breed geaccepteerde keuze in preklinische studies naar verschillende kraakbeenherstel technieken [2-5].

Er is gekozen voor een grote diersoort omdat er een implantaat wordt getest dat is ontworpen voor humaan gebruik; het implantaat moet passen in het te testen gewricht. Er is gekozen voor geiten omdat de anatomie van de geitenknie gelijkenis toont met de humane knie [6] en omdat de dikte van het kraakbeen het dichtst in de buurt komt bij die van de mens [6,7]. In studies waarbij andere osteochondrale implantaten (veelal resorbeerbare implantaten of metalen implantaten) worden getest, wordt ook veelvuldig gebruik gemaakt van de geit [6-8]. De dieren dienen skeletair volwassen te zijn (>1.5 jaar). De voorkeur gaat meteen ook uit naar geiten van 1.5-2 jaar oud, omdat geiten van nature slijtage van het kraakbeen vertonen en dat erger wordt met toenemende leeftijd.

Vier groepen bestaande uit elk 8 stuks (inclusief mogelijke uitval) zullen worden geïncubeerd in deze studie. De vier verschillende groepen bestaan uit: twee varianten van het kunststof implantaat, één groep met metalen implantaten en één groep sham geopereerde knieën. Er zijn twee tijdstippen van opoffering (8 stuks x 4 groepen x 2 tijdstippen=64 knieën). Omdat de implantaten bilateraal worden geïmplanteerd, zal het aantal 32 dieren bedragen (64 knieën / 2 knieën per dier = 32 dieren).

1. Fulton LK, Clarke MS, Farris HE, Farm Animals in Biomedical Research-Part Two: The Goat as a Model for Biomedical Research and Teaching ILAR J (1994) 36 (2): 21-29 doi:10.1093/ilar.36.2.21
2. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. Osteoarthritis Cartilage. 2010 Mar;18(3):377-88
3. Vrancken AC, Madej W, Hannink G, Verdonschot N, van Tienen TG, Buma P. Short Term Evaluation of an Anatomically Shaped Polycarbonate Urethane Total Meniscus Replacement in a Goat Model. PLoS One. 2015 Jul 20;10(7):e0133138.
4. Brehm W, Aklin B, Yamashita T, Rieser F, Trüb T, Jakob RP, Mainil-Varlet P. Repair of superficial osteochondral defects with an autologous scaffold-free cartilage construct in a caprine model: implantation method and short-term results. Osteoarthritis Cartilage. 2006 Dec;14(12):1214-26. Epub 2006 Jul 3.
5. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study. J Bone Joint Surg Am. 2001 Jan;83-A(1):53-64.
6. Kon E, Filardo G, Shani J, Altschuler N, Levy A, Zaslav K, Eisman JE, Robinson D. Osteochondral regeneration with a novel aragonite-hyaluronate biphasic scaffold: up to 12-month follow-up study in a goat model. J Orthop Surg Res. 2015 May 28;10:81. doi: 10.1186/s13018-015-0211-y.
7. Hurtig MB, Buschmann MD, Fortier LA, Hoemann CD, Hunziker EB, Jurvelin JS, Mainil-Varlet P, McIlwraith CW, Sah RL, Whiteside RA. Preclinical Studies for Cartilage Repair: Recommendations from the International Cartilage Repair Society. Cartilage. 2011 Apr;2(2):137-52.
8. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. Osteoarthritis Cartilage 2009;17: 705–13.
9. Chu CR, Szczydry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. Tissue Eng Part B Rev 2010;16: 105–15.

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

### D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: Initiële fixatie zal vantevoren worden beoordeeld in (dierlijke) kadaverknieën. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een universele gewrichten testmachine. Dit apparaat zal worden gebruikt om fysiologische belasting van de (kadaver) knie na te bootsen. Hierdoor zal de volledige korte termijn

stabilisatie van het implantaat in kaart kunnen worden gebracht voordat er dierenproeven worden uitgevoerd. De kans op vroege loslating, met falen van het experiment als gevolg, zal daardoor tot een minimum worden beperkt. Verder zal een grote variatie aan implantaat stukken met combinaties van verschillende coatings en poriematen worden gescreend op botceladhesie en osteoinductie in verschillende *in vitro* modellen. Op deze manier zal er een voorselectie met betrekking tot de soort coating en de porositeit van het implantaat worden gemaakt.

Vermindering: Implantaten zullen bilateraal operatief worden geplaatst. Dit zal leiden tot een halvering van het benodigde aantal dieren. Het bilateraal plaatsen van implantaten ter behandeling van kraakbeen defecten is eerder gedaan met soortgelijke osteochondrale implantaten [1,2] waardoor deze aanpak is gerechtvaardigd. Adequate anaesthesie en analgesie protocollen zullen worden samengesteld in overleg met een veterinaire anaesthesioloog om pijn zoveel mogelijk te verminderen. Het postoperatieve beleid is erop gericht om dieren zo snel mogelijk weer ambulante te krijgen, met minimale ervaring van stress. Combinaties van verschillende implantaten in de linker en rechter knieën zullen worden gevarieerd om potentiële bias te voorkomen.

Verfijning: Optimale, lege artis en protocollair uitgevoerde peri- en postoperatieve zorg middels anesthesie en analgesie zullen ervoor zorgen dat de dieren zo min mogelijk pijn ondervinden van de chirurgische interventie. Er is gekozen voor een grote diersoort in plaats van een lagere diersoort zoals een konijn omdat kleine diersoorten over een grotere intrinsieke reparatie capaciteit van kraakbeen beschikken en omdat de anatomie en mechanische belasting in de knie moeilijker te vergelijken is met de mens [3-5].

1. Custers RJ, Dhert WJ, Saris DB, Verbout AJ, van Rijen MH, Mastbergen SC, Lafeber FP, Creemers LB. Cartilage degeneration in the goat knee caused by treating localized cartilage defects with metal implants. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Mar;18(3):377-88.
2. Leng P, Wang YZ, Zhang HN. Repair of large osteochondral defects with mix-mosaicplasty in a goat model. *Orthopedics*. 2013 Mar;36(3):e331-6.
3. Hurtig MB, Buschmann MD, Fortier LA, Hoemann CD, Hunziker EB, Jurvelin JS, Mainil-Varlet P, McIlwraith CW, Sah RL, Whiteside RA. Preclinical Studies for Cartilage Repair: Recommendations from the International Cartilage Repair Society. *Cartilage*. 2011 Apr;2(2):137-52.
4. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:705-13.
5. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. Animal models for cartilage regeneration and repair. *Tissue Eng Part B Rev* 2010;16:105-15.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Dieren zullen buiten de postoperatieve fase in groepen worden gehuisvest uit sociaal oogpunt om zodoende angst en eenzaamheid tot een minimum te beperken. De dieren zullen protocollair worden voorbereid, geopereerd en postoperatief worden nabehandeld. Anaesthesie, peroperatieve pijnbestrijding, antibiotica en postoperatieve analgetica zullen daarbij lege artis worden toegepast.

Na de operatie worden de dieren niet door middel van een spalk of sling beperkt in mobiliteit. Dieren zullen de eerste weken na de operatie wel individueel (of samen met andere net geopereerde geiten) worden gehuisvest in een beperkte ruimte om geleidelijk aan beweging toe te laten. Tijdens deze periode zullen de bedding eventueel worden aangepast naar behoefte. Individueel gehuisveste dieren zullen in dezelfde ruimte en naast andere geiten verblijven (in direct contact) uit sociaal oogpunt. Dieren zullen direct worden terug geplaatst in de groep wanneer ze volledig ambulante zijn zonder claudicatie.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

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

Het implantaat dat zal worden getest is een uniek en nieuw ontwikkeld implantaat, waarmee nog geen eerdere dierenproeven uitgevoerd zijn geweest.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

Individuele huisvesting (of huisvesting in paren) zal plaats vinden na de operatie zodat dieren voorzichtig weer gaan bewegen. De geiten zullen in dezelfde ruimte en naast andere geiten (in direct contact) verblijven uit sociaal oogpunt. Dieren zullen direct worden terug geplaatst in de groep wanneer ze volledig ambulantly zijn zonder claudicatie.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

Peri- en postoperatief (minimaal drie dagen) zal pijnstilling worden toegediend. De dieren moeten volledig zelfstandig ambulantly zijn voordat de pijnstilling zal worden gestopt.

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Loslating van het implantaat of afstoting door het lichaam kan optreden.

Postoperatieve wondinfectie blijft een risico na elke chirurgische ingreep.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Loslating van het implantaat kan optreden vanwege mechanisch falen, implantaatinfectie leidend tot osteomyelitis met botresorptie, danwel afstoting van het lichaam.

Mogelijke oorzaken van postoperatieve wondinfectie zijn: niet geheel steriel werken, niet voldoende steriel afdekken of onvoldoende prepareren van het chirurgische gebied.

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

Profylactische antibiotica zal pre- en postoperatief worden toegediend. Stricte maatregelen zullen worden genomen om de steriliteit tijdens de procedure te waarborgen. Eventueel zal de wond postoperatief worden afgedekt met een jodium film om blootstelling aan bacteriën na de operatie te voorkomen. Een ervaren orthopedische chirurg (knie-specialist) zal de operaties uitvoeren.

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Niet belasten van de poot of blijvende claudicatie ondanks analgesie zijn de meest voor de hand liggende complicaties. Dit kan leiden tot spieratrofie. Loslating van het implantaat (evt door afstoting) kan hier een oorzaak van zijn. Blijvende claudicatie wordt derhalve beschouwd als humaan eindpunt.

Postoperatieve wondinfectie, leidend tot volledige gewrichtsontsteking en algehele malaise die niet onder controle is te krijgen door middel van antibiotica toediening, wordt ook beschouwd als humaan eindpunt.

Langdurige postoperative zwakte, waarbij het dier niet zelfstandig kan staan.

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

Niet belasten van de poot of blijvende claudicatie wordt niet vaak beschreven in de literatuur bij vergelijkbare studies. Omdat dit een nieuw te ontwikkelen implantaat betreft, wordt voor de zekerheid een kans van 5% aangehouden.

Minder dan 1% van de patiënten loopt kans op een postoperatieve infectie na autologe kraakbeen transplantatie, een ingreep die vergelijkbaar is met deze proef qua invasiviteit en duur [1]. In één studie beschreven door Saw et al. [2], ontwikkelde 1 van de 15 geiten (6.7%) een postoperatieve infectie in de knie. In vele andere soortgelijke studies bij geiten worden echter geen infecties gemeld. Daaruit concluderen we dat kans op infecties bij geiten na kraakbeen operaties soortgelijk is als bij de mens. De kans op langdurige postoperatieve zwakte lijkt zeer beperkt. De kans op optreden van een van deze beide complicaties wordt op 5% geschat.

1. Harris JD, Siston RA, Brophy RH, Lattermann C, Carey JL, Flanigan DC. Failures, re-operations, and complications after autologous chondrocyte implantation--a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011 Jul;19(7):779-91.
2. Saw KY, Hussin P, Loke SC, Azam M, Chen HC, Tay YG, Low S, Wallin KL, Ragavanaidu K. Articular cartilage regeneration with autologous marrow aspirate and hyaluronic Acid: an experimental study in a goat model. *Arthroscopy*. 2009 Dec;25(12):1391-400.

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De dieren zullen eenmalig een operatieve ingreep ondergaan, waarvoor ze onder algehele anaesthesie worden gebracht. Het onder anaesthesie brengen en ontwaken hieruit kan tot enige vorm van stress leiden. De operatieve ingreep kan leiden tot moeilijke ambulatie, hetgeen stress en pijn kan veroorzaken. Om vroege loslating te voorkomen zullen de dieren de eerste dagen na de operatie individueel of in paren worden gehuisvest. Gedurende deze periode zullen herstellende dieren wel in direct contact blijven met andere geiten en zullen de dieren direct worden terug geplaatst in de groep zodra ze volledig ambulant zijn zonder claudicatie.

Uiteindelijk classificeren we het totaal ongerief als matig, vanwege de mogelijke pijn en stress.

**Einde experiment**



## L. Wijze van doden

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

Nee

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

De belangrijkste uitkomstmaat is de conditie van het aanliggende en overstaande kraakbeen rondom het implantaat. Hiervoor is histopathologisch onderzoek noodzakelijk via OCHAS, de conditie van het kraakbeen kan macroscopisch moeilijk worden vergeleken. Hiervoor zal het dier moeten worden geëuthanaseerd.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

DEC-advies PV-2015-018- [REDACTED]

dd. 07-04-2016

---

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer; 2015-018

Titel van het project; *De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie.*

2. Titel van de NTS; *De ontwikkeling van een kunststof implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie.*

3. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
- wijziging van vergunning met nummer

4. Contactgegevens DEC:

- naam DEC; DEC-UM
- telefoonnummer contactpersoon; [REDACTED]  
[REDACTED]
- mailadres contactpersoon;  
[REDACTED]

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

- ontvangen door DEC; 08-03-2016
- aanvraag compleet
- in vergadering besproken; 18-03-2016
- anderszins behandeld
- termijnonderbreking van 24-03 tot 31-03-2016 en van 05-04-2016 tot
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
- aanpassing aanvraag
- advies aan CCD

6. Eventueel horen van aanvrager **NVT**

7. Correspondentie met de aanvrager

- **Datum 24-03-2016**

- **Strekking van de vragen:**

- De DEC-UM wenst een wetenschappelijke onderbouwing voor het gebruik van vrouwen.
- De voorkeur gaat kennelijk uit naar vrouwelijke dieren. Evenals bij andere herkauwers hebben vrouwelijke geiten een calciumstofwisseling, die rond de partus balanceert op het scherpst van de snede. Is dit van belang bij de selectie/inclusie van dieren in relatie tot de geringe omvang van de groepsgroottes van acht dieren?

- **Datum antwoord 31-03-2016**

- **Strekking van de antwoorden:**

- De gevraagde verduidelijkingen zijn verwerkt in het projectvoorstel en de bijlages.

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **JA**

**NTS is dd. 05-04-2016 retour gestuurd naar onderzoeker met commentaar.**

Retour ontvangen dd. 06-04-2016

8. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **NVT**

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet); **JA**
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren; **JA**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering; **NVT**

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

1. Het project is: **X** uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. NVT
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**.
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. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Ja, dit wordt ondermeer geïllustreerd door het injecteren van fluorochrome labels op twee verschillende tijdstippen, waardoor herhaald kan worden gemeten aan hetzelfde dier.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. **Ja**, door toepassing van de universele gewrichtentestmachine kan de volledige korte termijn stabilisatie van het implantaat in kaart worden gebracht voordat er dierproeven worden uitgevoerd, waardoor de kans op vroege loslating, met toename van het ongerief en falen van het experiment als gevolg tot een minimum wordt beperkt.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd

## **D. Ethische afweging**

De DEC-UM heeft het projectvoorstel “*De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie*” bestudeerd. Het doel is het ontwikkelen en preklinisch testen van een kunststof implantaat, dat voldoende gefixeerd blijft en effectief is, en waarvan de biomechanische eigenschappen overeenkomen met die van kraakbeen. Het project behelst experimenten gedurende 5 jaar, met in totaal 52 geiten, die matig ongerief zullen ondervinden en na de experimenten worden opgeofferd. Anderzijds onderschrijft de DEC-UM de intrinsieke waarde van het dier.

De DEC-UM is overtuigd van de wetenschappelijke kwaliteit en het maatschappelijke belang van het voorgestelde onderzoeksproject. De opzet van het onderzoeksproject is helder, logisch en navolgbaar. De doelstellingen van de diverse onderdelen en de stapsgewijze aanpak, te beginnen met kadaverknieën, *in vitro* modellen en uiteindelijk met levende dieren, zijn overtuigend. De aanvrager beschikt over de benodigde wetenschappelijke kennis en technische expertise. Er is geen sprake van duplicatie.

De gewenste uitkomsten lijken relevant en haalbaar.

Kraakbeenletsel aan de knie is een veel voorkomende aandoening bij mensen van middelbare leeftijd en ouder. Dit kan leiden tot artrose, pijn en invaliditeit en uiteindelijk de noodzakelijke vervanging van het kniegewricht door een knieprothese, die ook slechts een beperkte levensduur heeft. Voor deze, door de vergrijzing groeiende, categorie patiënten zou een betere behandeling dan de huidige met metalen implantaten en uitstel van de noodzaak van een knieprothese, wenselijk zijn.

Resultaten van dit onderzoek zijn derhalve belangrijk voor grote aantallen 40-plussers en hun naasten. De DEC-UM acht derhalve de doelstelling van dit onderzoek van substantieel belang.

In de gekozen strategie, technieken en diermodel wordt op bevredigende wijze tegemoet gekomen aan de vereisten op het gebied van vervanging, vermindering en verfijning. Onderzoekers kiezen op pragmatische gronden voor het gebruik van alleen vrouwelijke dieren. Zij gaan ervan uit dat het gebruik van één sexe geen invloed heeft op de resultaten. De DEC-UM is ervan overtuigd dat er geen alternatieven zijn, waardoor deze dierproef met minder geiten zou kunnen worden uitgevoerd, dan wel het gebruik van levende dieren zou kunnen worden vermeden.

Op grond van deze argumenten acht de DEC-UM in haar ethische afweging het belang van project 2015-018 *“De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie”* van zwaarder gewicht dan de voorziene schade, matig ongerief en dood, voor de maximaal 52 betrokken dieren.

De DEC-UM beschouwt de voorgestelde dierproeven derhalve als ethisch gerechtvaardigd en voorziet het projectvoorstel *“De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie”* van een positief advies.

## E. Advies

### 1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

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

**Op grond van alle voor de afweging relevante argumenten komt de DEC-UM tot de conclusie dat dit onderzoek ethisch toelaatbaar is.**

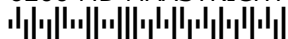


> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Maastricht

Postbus 616

6200 MD MAASTRICHT



**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  
AVD107002016514

**Bijlagen**

2

Datum 11 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 11 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD107002016514. 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 aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 10700  
Naam instelling of organisatie: Universiteit Maastricht  
Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde: [REDACTED]  
KvK-nummer: 50169181  
Straat en huisnummer: Minderbroedersberg 4-6  
Postbus: 616  
Postcode en plaats: 6200 MD MAASTRICHT  
IBAN: NL04 INGB 0679 5101 68  
Tenaamstelling van het  
rekeningnummer: Universiteit Maastricht

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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



Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

**Over uw aanvraag**

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

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 juli 2016  
Geplande einddatum: 30 juni 2021  
Titel project: De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie  
Titel niet-technische samenvatting: De ontwikkeling van een kunststof implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie  
Naam DEC: DEC-UM  
Postadres DEC: Postbus 616, 6200 MD Maastricht  
E-mailadres DEC: [REDACTED]

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 1.187,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

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

**Ondertekening**

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Maastricht

Datum:

7 april 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Maastricht



Postbus 616

6200 MD MAASTRICHT



**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  
AVD107002016514

**Bijlagen**

2

Datum 11 april 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 11 april 2016

Vervaldatum: 11 mei 2016

Factuurnummer: 16700514

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD107002016514	€ 1.187,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Maastricht

Postbus 616

6200 MD MAASTRICHT



**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

AVD107002016514

**Bijlagen**

1

09 JUN 2016

Datum

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 11 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie" met aanvraagnummer AVD107002016514. 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 1 sub a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 juli 2016 tot en met 30 juni 2021.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-UM gevoegd. Dit advies is opgesteld op 7 april 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

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

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

### **Bezwaar**

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

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

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



Bijlagen:

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

## **Projectvergunning**

### **gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven**

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Universiteit Maastricht  
Adres: Postbus 616  
Postcode en plaats: 6200 MD MAASTRICHT  
Deelnemersnummer: 10700

deze projectvergunning voor het tijdvak 01 juli 2016 tot en met 30 juni 2021, voor het project "De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie" met aanvraagnummer AVD107002016514, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-UM. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Stafid orthopedie, orthopedisch chirurg.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 11 april 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 11 april 2016;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 11 april 2016;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 7 april 2016, ontvangen op 11 april 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
1: Geitenstudie: Het effect van oppervlaktestructuur en coating op de osteointegratie van een kunststof implantaat ter behandeling van kraakbeendefecten in de knie	Geiten ( <i>Capra aegagrus hircus</i> ) / melkgeiten, commercieel verkregen	20	Matig	De dieren worden anders dan in Bijlage III van de richtlijn gehuisvest en verzorgd: Individuele huisvesting (of huisvesting in paren) zal plaats vinden na de operatie zodat dieren voorzichtig weer gaan bewegen. De geiten zullen in dezelfde ruimte en naast andere geiten (in direct contact) verblijven uit sociaal oogpunt. Dieren zullen direct worden terug geplaatst in de groep wanneer ze volledig ambuland zijn zonder claudicatie.

2: Geitenstudie: Het effect van een kunststof implantaat ter behandeling van kraakbeendefecten op de gezondheid van aan- en tegenoverliggende kraakbeen op lange termijn in de knie	Geiten ( <i>Capra aegagrus hircus</i> ) / melkgeiten, commercieel verkregen	32	Matig	De dieren worden anders dan in Bijlage III van de Richtlijn gehuisvest en verzorgd: Individuele huisvesting (of huisvesting in paren) zal plaats vinden na de operatie zodat dieren voorzichtig weer gaan bewegen. De geiten zullen in dezelfde ruimte en naast andere geiten (in direct contact) verblijven uit sociaal oogpunt. Dieren zullen direct worden terug geplaatst in de groep wanneer ze volledig ambuland zijn zonder claudicatie.
---	---	----	-------	---

#### **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 blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

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

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

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

DEC-advies PV-2015-018- [REDACTED]

dd. 07-04-2016

---

## A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer; 2015-018

Titel van het project; *De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie.*

2. Titel van de NTS; *De ontwikkeling van een kunststof implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie.*

3. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
- wijziging van vergunning met nummer

4. Contactgegevens DEC:

- naam DEC; DEC-UM
- telefoonnummer contactpersoon; [REDACTED]  
[REDACTED]
- mailadres contactpersoon;  
[REDACTED]

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

- ontvangen door DEC; 08-03-2016
- aanvraag compleet
- in vergadering besproken; 18-03-2016
- anderszins behandeld
- termijnonderbreking van 24-03 tot 31-03-2016 en van 05-04-2016 tot
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
- aanpassing aanvraag
- advies aan CCD

6. Eventueel horen van aanvrager **NVT**

7. Correspondentie met de aanvrager

- **Datum 24-03-2016**
- **Strekking van de vragen:**
- De DEC-UM wenst een wetenschappelijke onderbouwing voor het gebruik van vrouwen.
- De voorkeur gaat kennelijk uit naar vrouwelijke dieren. Evenals bij andere herkauwers hebben vrouwelijke geiten een calciumstofwisseling, die rond de partus balanceert op het scherpst van de snede. Is dit van belang bij de selectie/inclusie van dieren in relatie tot de geringe omvang van de groepsgroottes van acht dieren?
  
- **Datum antwoord 31-03-2016**
- **Strekking van de antwoorden:**
- De gevraagde verduidelijkingen zijn verwerkt in het projectvoorstel en de bijlages.
  
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: **JA**

NTS is dd. 05-04-2016 retour gestuurd naar onderzoeker met commentaar.  
Retour ontvangen dd. 06-04-2016

8. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **NVT**

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet); **JA**
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren; **JA**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering; **NVT**

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

1. Het project is: **X** uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. NVT
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**.
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. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Ja, dit wordt ondermeer geïllustreerd door het injecteren van fluorochrome labels op twee verschillende tijdstippen, waardoor herhaald kan worden gemeten aan hetzelfde dier.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. **Ja**, door toepassing van de universele gewrichtentestmachine kan de volledige korte termijn stabilisatie van het implantaat in kaart worden gebracht voordat er dierproeven worden uitgevoerd, waardoor de kans op vroege loslating, met toename van het ongerief en falen van het experiment als gevolg tot een minimum wordt beperkt.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd

#### **d. Ethische afweging**

De DEC-UM heeft het projectvoorstel "*De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie*" bestudeerd. Het doel is het ontwikkelen en preklinisch testen van een kunststof implantaat, dat voldoende gefixeerd blijft en effectief is, en waarvan de biomechanische eigenschappen overeenkomen met die van kraakbeen. Het project behelst experimenten gedurende 5 jaar, met in totaal 52 geiten, die matig ongerief zullen ondervinden en na de experimenten worden opgeofferd. Anderzijds onderschrijft de DEC-UM de intrinsieke waarde van het dier.

De DEC-UM is overtuigd van de wetenschappelijke kwaliteit en het maatschappelijke belang van het voorgestelde onderzoeksproject. De opzet van het onderzoeksproject is helder, logisch en navolgbaar. De doelstellingen van de diverse onderdelen en de stapsgewijze aanpak, te beginnen met kadaverknieën, *in vitro* modellen en uiteindelijk met levende dieren, zijn overtuigend. De aanvrager beschikt over de benodigde wetenschappelijke kennis en technische expertise. Er is geen sprake van duplicatie. De gewenste uitkomsten lijken relevant en haalbaar.

Kraakbeenletsel aan de knie is een veel voorkomende aandoening bij mensen van middelbare leeftijd en ouder. Dit kan leiden tot artrose, pijn en invaliditeit en uiteindelijk de noodzakelijke vervanging van het kniegewricht door een knieprothese, die ook slechts een beperkte levensduur heeft. Voor deze, door de vergrijzing groeiende, categorie patiënten zou een betere behandeling dan de huidige met metalen implantaten en uitstel van de noodzaak van een knieprothese, wenselijk zijn. Resultaten van dit onderzoek zijn derhalve belangrijk voor grote aantallen 40-plussers en hun naasten. De DEC-UM acht derhalve de doelstelling van dit onderzoek van substantieel belang.

In de gekozen strategie, technieken en diermodel wordt op bevredigende wijze tegemoet gekomen aan de vereisten op het gebied van vervanging, vermindering en verfijning. Onderzoekers kiezen op pragmatische gronden voor het gebruik van alleen vrouwelijke dieren. Zij gaan ervan uit dat het gebruik van één sexe geen invloed heeft op de resultaten. De DEC-UM is ervan overtuigd dat er geen alternatieven zijn, waardoor deze dierproef met minder geiten zou kunnen worden uitgevoerd, dan wel het gebruik van levende dieren zou kunnen worden vermeden.

Op grond van deze argumenten acht de DEC-UM in haar ethische afweging het belang van project 2015-018 "*De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie*" van zwaarder gewicht dan de voorziene schade, matig ongerief en dood, voor de maximaal 52 betrokken dieren.

De DEC-UM beschouwt de voorgestelde dierproeven derhalve als ethisch gerechtvaardigd en voorziet het projectvoorstel "*De ontwikkeling van een niet-resorbeerbaar, kunststof osteochondraal implantaat voor de behandeling van kraakbeendefecten in de knie*" van een positief advies.

## **E. Advies**

### 1. Advies aan de CCD

**X** De DEC adviseert de vergunning te verlenen

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

**Op grond van alle voor de afweging relevante argumenten komt de DEC-UM tot de conclusie dat dit onderzoek ethisch toelaatbaar is.**