

		Inventaris Wob-verzoek W17-12								
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.		document NTS 20172364	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1		Origineel aanvraagformulier				x		x	x	
2		NTS	x							
3		Projectvoorstel			x					
4		Bijlage beschrijving dierproeven			x					
5		DEC-advies				x		x	x	
6		Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7		Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x	
8		Adviesnota CCD		x						x
9		Beschikking en vergunning				x		x	x	

2364

1.

Centrale Commissie Dierproeven



12 JULI 2017

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 of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 50400 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>Triskelion BV</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td></td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>51382997</td></tr><tr><td>Straat en huisnummer</td><td></td></tr><tr><td>Postbus</td><td>844</td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>3704 HE Zeist</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL101NGB0654470189</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>Triskelion B.V.</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Triskelion BV	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde		KvK-nummer	51382997	Straat en huisnummer		Postbus	844	Postcode en plaats	3704 HE Zeist	IBAN	NL101NGB0654470189	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Triskelion B.V.
Naam instelling of organisatie	Triskelion BV																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde																		
KvK-nummer	51382997																	
Straat en huisnummer																		
Postbus	844																	
Postcode en plaats	3704 HE Zeist																	
IBAN	NL101NGB0654470189																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Triskelion B.V.																	
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>																	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td></td><td>☐ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td></td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td></td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☐ Mw.	Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres			
(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☐ Mw.																
Functie																		
Afdeling																		
Telefoonnummer																		
E-mailadres																		
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Functie</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td></td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td></td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters			Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres			
(Titel) Naam en voorletters																		
Functie																		
Afdeling																		
Telefoonnummer																		
E-mailadres																		

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.

(Titel) Naam en voorletters

☐ Dhr. ☐ Mw.

Functie

Afdeling

Telefoonnummer

E-mailadres

- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?

☒ Ja > Stuur dan het Ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag

☐ Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?

☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3

☐ Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2

☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3

- 2.2 Is dit een wijziging voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?

☐ Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier

☐ Nee > Ga verder met vraag 3

- 2.3 Is dit een melding voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?

☐ Nee > Ga verder met vraag 3

☐ Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?

Startdatum 01 - 01 - 2018

Einddatum 01 - 01 - 2023

- 3.2 Wat is de titel van het project?

In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies.

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Dierstudies in het kader van ontwikkeling van nieuwe en verbeterde anti-kanker immuno-therapieën.

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC DEC-TNO

Postadres 96800 2509 JE DEN HAAG

E-mailadres

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning €1035,00 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
 s.v.p. uw factuur o.v.v. 'vooruitbetaling' en het bestelnummer 56001154 indienen via e-mail bij [redacted] adres:
 Triskelion BV T.a.v Crediteurenadministratie
 Postbus 844, 3700 AV, Zeist
 + Triskelion bestelnummer 56001154

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 Den Haag
 Datum 27 - 06 - 2017
 Handtekening [redacted]

Form

Project proposal

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 50400
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Triskelion B.V.
- 1.3 Provide the title of the project. *In vivo* research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies.

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- ☐ Basic research
- ☒ Translational or applied research
- ☐ Regulatory use or routine production
- ☐ Research into environmental protection in the interest of human or
- ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- ☐ Higher education or training
- ☐ Forensic enquiries
- ☐ Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

The World Health Organization states that cancer is one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide, with approximately 14 million new cases and 8.2 million cancer related deaths in 2012. The number of new cases is expected to rise by about 70% over the next 2 decades. Because the average age of men and women will increase in the future, the number of people who die of cancer will greatly

increase. The most occurring types of cancer at this moment are lung cancer, liver cancer, cancer of the gastrointestinal tract, breast or prostate cancer. In total more than 100 different types of cancer exist, and each type requires a different diagnosis and treatment strategy.

The established anti-cancer treatment methods, i.e. chemotherapy and radiotherapy, have been shown to be insufficiently effective in treating cancer patients, and improvement or new anti-cancer therapies are needed. World-wide, pharmaceutical companies, the medical world and scientists are now focussing on a new anti-cancer therapy, namely immunotherapy.

Immunotherapy has been proclaimed to be the most promising anti-cancer treatment of 2013/2014 (Science and the European Journal of Cancer). Recent publications in the European Journal of Cancer and Science show promising results, i.e. that the immune system is able to recognize and attack tumors, thereby treating cancers. The importance of the immune system in eradicating tumors was already known for years, however the biggest breakthroughs were made after the availability of animal models in tumor immunity. In general this has led to the inception of a theory of immune surveillance of cancer ('immunoediting'), indicating that lymphocytes act as sentinels in recognizing and eliminating continuously arising, initial transformed cells. Immunoediting is characterized by changes in the immunogenicity of tumors due to the anti-tumor response of the immune system, resulting in the emergence of immune-resistant variants. It consists of the "3 E's" as most important phases, namely elimination, equilibrium and escape.

During the elimination phase, immune effector cells (innate and/or adaptive) are activated to recognize and eliminate tumor cells. In the equilibrium phase, the tumor cells that have escaped the elimination phase and have a non-immunogenic phenotype are selected for growth. During this period, new tumor cell variants emerge with various mutations that further increase overall resistance to immune attack.

During the escape phase, these new tumor cell variants have breached the host organism's immune defences, with various genetic and epigenetic changes causing further resistance to immune detection. The crosstalk between the immune system and tumor cells determine whether the tumor cells will be a) eliminated, or b) an equilibrium is reached between growth of the tumor and elimination by the immune system, or c) whether the tumor cells escape the immune system and keep growing.

The new anti-cancer immunotherapies are targeting the crosstalk between immune cells and tumor cells. Examples are the clinical successes of the US FDA-approved therapeutic antibody ipilimumab and nivolumab, which are successfully used in the clinic in cancer patients. These immunotherapies focus on optimal activation of the immune system and/or reduce immune suppression by tumor cells. Overall, the patient's own immune system will be activated to attack tumors, and thereby increasing the elimination phase of immunoediting.

The progress and great successes of cancer immunotherapy have led to the development of immunotherapeutic treatments for a subset of patients with advanced cancer. Despite the great successes a part of the patients remain refractory to these treatments and in some cancer types the treatments are not working, indicating a need for improvement and new medication. This has triggered a substantial growth of current animal studies in immunotherapy and clinical trials for a wide variety of cancers. These therapies are based on several approaches such as cell transfer, immune modulating antibodies, cytokines and vaccines; all improving tumor cell recognition and immune cell activation.

This research project is mainly focussing on the preclinical and discovery/developmental phase of new anti-cancer medication. To develop these new anti-cancer strategies the use of *in vivo* mouse tumor models is necessary.

Much has been written about the translation of animal tumor models into diagnostic and clinical applications. Preclinical drug development is limited by the restricted availability of suitable animal tumor models that adequately mimic the dynamics in the human situation. However, in general it is still widely accepted that mouse models are able to provide useful pre-clinical and mechanistic information about novel immunotherapies and cancer therapies (Budhu. S., *Curr.Opin.Genet.Dev.* 2014, 24: 46-51 and Böck B.C., *Cancer Res.* 2014, 74(17); 4671-5). The ultimate model would be a humanized mouse tumor

model with a human tumor and a full human immune system. The goal is to use a mouse for this ultimate model because the mouse is the best organism which can be humanized. However, these kinds of models are still under development and not yet available. At this moment the existing models are the best option (see below).

An argument that is often brought up is that animal studies are uninformative because they are not predictive for results in humans. Inadequacies in experimental designs may have accounted for the failure for translation towards the clinic. Regardless of which type of preclinical model one selects, it is vital to ensure that the proposed models recapitulate and mimic the human disease as closely as possible (e.g. pathology, metastatic potential, stage of disease, angiogenesis, influence of immune cells, microenvironment, pharmacokinetics or -dynamics). Furthermore, the selected model should be able to answer the stated research goal. If these aspects are taken into account at selection of the model, animal tumor models are able to provide useful pre-clinical and mechanistic information about novel immunotherapies and cancer therapies.

The available mouse tumor models can be clustered into two types of models, syngeneic tumor models and xenograft tumor models. These two types of models can be subdivided into three different categories: (i) transplantable tumor models, (ii) genetically engineered (transgenic) models, and (iii) humanized tumor models. Each of these three categories has its own advantages and disadvantages. We have selected two of the three subcategories, namely transplantable tumor models and humanized tumor models (both for the syngeneic and xenograft tumor models).

Genetically engineered (transgenic) models are mostly focussing on the genetic lesions (oncogenes and/or inactivation of suppressor genes) causing tumor development. Our research goal is not focussing on these questions, and are therefore not included in this application.

The focus of this application, as written above, is on immune therapies for cancer. These medications/therapeutics are targeting and influencing the immune system in such a way that it will influence tumor growth and development. As mentioned before these new medications will influence the three different phases of immunoediting. Because these new medications/therapeutics are targeting the immune system, we need models in which the immune system is present.

Syngeneic models are good models because they are based on the implantation of mouse cancer cells into mice with an existing mouse immune system. These models were therefore selected by our department as suitable models. The syngeneic models are mostly selected for new treatments that are still in the developing phase, in which the compound is directed against mouse targets.

Xenograft models are based on the implantation of human cancer cells or patient tumor tissue into immunodeficient mice. Because these immunodeficient mice lack an immune system, human immune cells can be introduced in the mice. These models are mostly used in studies in which the human medication is available. In these models the part of the immune system is introduced that is of interest for the new therapeutic.

3.2 Purpose

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

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

The main objective of this project is to contribute to the development and improvement of new immunotherapies for the treatment of cancer, by using animal tumor models.

For this purpose the following sub-objectives will be focussed on:

- Provide the information on efficacy and systemical mode of action of the new compounds
 - For each tested therapeutic an appropriate animal tumor model will be selected, based on the research question. (detailed information on translatability is given in section 3.4)
 - Continuous validation and optimisation/improvement of the used models
-

This project is highly achievable because Triskelion employs scientists with expertise in Oncology and Immunology. These scientists have worked for many years at different academic groups within the Netherlands with highly appreciated professors in the field of oncology. During these years the scientists worked with several different tumor cell lines and with different parts of the immune system. A lot of experience is present on the action of immunotherapeutics. This knowledge has been used to train our personnel at the animal facility to perform tumor studies. A lot of experience is present on the selected animal tumor models, and several animal tumor models are successfully up and running. We will be able to advise sponsors/sponsors in their choice for testing new immunotherapeutics.

3.3 Relevance

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

According to the World Health Organization is cancer the second leading cause of death globally and accounted for 8.8 million death in 2015. Lung, prostate, colorectal, stomach and liver cancer are the most common types of cancer in men, while breast, colorectal, lung, cervix and stomach cancer are the most common among women. Because the average age of men and women will increase in the future, the number of people who develop cancer will greatly increase. The number of new cases is expected to rise by about 70% over the next 2 decades.

The commonly known and used anti-cancer therapies, like chemotherapy, radiotherapy or surgery, are in most cases insufficient and/or have serious side effects. For example, with chemotherapy or radiotherapy not only cancer cells/tissues are affected, but also the healthy cells/tissues will be affected.

Chemotherapy can also cause severe illnesses, fatigue, and/or noxiousness. Secondly, surgery is not always possible (depending on the site of the tumor). Furthermore, metastasis is not always known and repeating treatments may be required. Therefore new therapies are needed that decrease the negative side effects.

For preclinical research concerning the development, improvement and validation of new immunotherapies, the use of animal models is still needed. The first phases in the development of a new anti-cancer therapy are done by using *in vitro* models (e.g. therapeutic selection), however the systemic efficacy and ability to decrease tumor growth needs to be tested in *in vivo* models. These *in vivo* models are at this moment the best option for predicting the efficacy in humans.

Furthermore, with the information gained from these animal models, pharmaceutical companies are able to get their new anti-cancer immunotherapeutic into clinical trials. Therefore, these animal studies are of very high importance to get new immunotherapeutics into the clinic.

3.4 Research strategy

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

In general, in each model (syngeneic or xenograft) different tumor cells can be selected. We have selected for a limited number of tumor cell lines.

We selected our models by first doing literature research. A list was made of the mostly used tumor cell lines described in literature. This list of tumor cell lines have been shown to 5 pharmaceutical companies and academic researchers. We asked them to select the tumor cell lines which are of interest for them and/or with the most importance for testing in the upcoming field of immunotherapeutics. From this list we made our selection. We selected five different cell lines, representing three tumor types, and including both aggressive and non-aggressive tumors. Aggressive tumors react differently to immunotherapy than non-aggressive tumors. The immune system needs to be more efficient to eradicate aggressive tumors compared to non-aggressive tumors. Because of our selection a sponsor is able to test their new immunotherapeutic in both aggressive and non-aggressive tumor settings. This enables a sponsor to test the same medication in two different tumor types. In addition we also based our choice for these cell lines on the in-depth knowledge of these cell lines by our scientists and technicians. Our employees have several years of experience in the tumor immunology field. In these years they have worked with several of these cell lines and can use this knowledge in consulting sponsors and in-house trainings.

In addition, we are convinced that these different selected tumor types are representative to use in new immunotherapeutics. Most immunotherapeutics target the immune system, whereas other immunotherapeutics act on the tumor tissue itself, however thereby also indirectly acting on the immune

system. Our mouse models can be used for any immunotherapeutic because the mechanisms in tumor development is independent of the tissue it develops in.

Our selected tumor models are:

For the syngeneic models:

- melanoma B16F10 (aggressive fast growing tumor)
- colon carcinoma CT26 (nonaggressive slow growing tumor)
- prostate cancer TRAMP-C2 (nonaggressive slow growing tumor)

For the xenograft (humanized) models:

- melanoma MV3 (aggressive fast growing tumor)
- B-cell lymphoma Daudi (nonaggressive slow growing tumor)

If in the future sponsors need other tumor cells than the ones mentioned above, we will carefully consider if this is really necessary. For example if a new immunotherapeutic is based on the characteristics of a specific tumor type (e.g. presence of a specific molecule, specific immune suppressive function of a tumor type, etc). We will discuss the use of a new cell line with the animal welfare body (AWB).

Most studies that will be performed under this application will be efficacy studies of new and improved anti-cancer immunotherapeutics. The other part (about 20%) of the studies will focus on (i) improvement of our models (e.g. improvement of tumor measurement, prediction of tumor growth, refinement of animal models, etc), or (ii) setting up new tumor models (e.g. usage of other tumor cell lines).

Before each study is initiated, the need for an animal study will be evaluated in a project team which consists of (senior) scientists, biostatisticians and/or pharmacologists. The project team will evaluate the historical data (provided by the sponsor) and make recommendations on the number of animals per treatment group, doses used, and also on the need for an animal study, etc., to maintain the scientific quality of the project. As a contract research organization, most of this work will be performed by the sponsor. However, in all cases, upon receipt of a study request, a study director (SD, project leader) is appointed, who will form a project team and the project proposal will be discussed scientifically and ethically with the sponsor. The animal welfare body and the designated veterinarian will be consulted on issues of animal welfare. For most studies a 'pre-study briefing' is performed by the study director to ensure understanding of the study objectives and design by the staff involved. During the study, any adverse effects or other concerns concerning animal welfare will be monitored by the study director and discussed with relevant staff.

The information needed to evaluate the need for animal study is collected by doing literature research and discussions with the sponsor. For this purpose information will be gathered from our sponsors about historical data on the compound of interest (e.g. what is done on in vitro studies, and other animal studies). In this way unnecessary use of animals will be prevented.

Secondly the appropriate mouse model will be selected. Which of the two tumor mouse models is selected is based on the following aspects:

- 1) The syngeneic tumor models make use of a mouse, that will be injected with mouse tumor cells. These tumor cells will develop into tumors with a normal functional immune system present. Advantages are: model in full organism, consistency within the model, ideal for rapid screening of new agents and fully characterized in literature/at our experience. A disadvantage is that the tested therapeutics need to be murine based. Therefore most of these models are used in an early stage in therapeutic development.
- 2) The xenograft tumor models make use of an immunodeficient mouse, that will be injected with human tumor cells. These tumor cells will develop into tumors without a normal functional immune system present (immunodeficient mice). Advantages are; model contains human tumor cells, more translatable to humans compared to syngeneic tumor models, and higher diversity of tumor cells can be used. A (partial) human immune system can be introduced (directly injected or introduced by injecting hematopoietic precursor cells) in these animals, if needed. A disadvantage is that the medication needs to be human based. These models are therefore

mostly used in a later stage in therapeutic development.

Thirdly, the mode of action by the compound of interest is of importance in selecting a specific model or a specific cell line. If the immunotherapeutic acts on the immune system, the appropriate immune cell needs to be present in the animal. In the syngeneic models an immune system is present, and in the xenograft models the specific human immune cell/composition need to be introduced in the animal. If the immunotherapeutic acts on the tumor cell itself, the appropriate tumor cell needs to be present in the model. This will influence the selection of a tumor cell line. Furthermore, the (predicted) mode of action of the compound will also determine whether an aggressive or non-aggressive tumor cell line can be used. In general it is very difficult to influence the growth/development of aggressive tumors, though therefore the need for an adequate medication is very high. In the early phase or within the first *in vivo* tests, mostly non-aggressive tumors will be selected. In these models the proof of principle can be tested. The influence of a new immunotherapeutic on the tumor growth of a non-aggressive tumor will give an idea if it will work in an aggressive tumor setting.

The most appropriate study design will be determined, based on the information in table 1.

Table 1.

Question	Answer	Model
1. Is the therapeutic human or mouse origin?	a) Human b) Mouse	a) Xenograft tumor model b) Syngeneic tumor model
2. What is the mode of action of the therapeutic?	a) Acts on immune system b) Acts on tumor cells	a) Model needs to have immune system. b) Model needs to have the appropriated tumor present.
3. Which specific kind of tumor is needed for the objective?	Aggressive tumor versus non-aggressive tumor	
4. How should the tumor cells be injected (location)?	a) Primary tumor b) Metastasis	a) s.c. tumor injection b) i.v. tumor injection

In both models (Syngeneic and Xenograft) the tumor cells can be injected subcutaneously or intravenously. Injection of the tumor cells i.v. is mainly used for a model in which the efficacy of the medication is correlated to metastasis of the tumor. We estimate that 90% of the animal studies will include the subcutaneous models and about 10% the intravenous models.

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

The project consists of 3 different components, namely:

- 1) Tumor models for testing anti-cancer therapeutics with subcutaneous injection; A lot of new anti-cancer immunotherapies are developed by the pharmaceutical industry. These sponsors do not have the capacity, knowledge and expertise to perform these tumor studies themselves. With our knowledge and expertise we are able to help them in the development of new therapeutics, and providing information needed to take a next step (for example getting the medication into clinical trials).
The first question these sponsors have is, is the compound of interest able to inhibit/decrease tumor growth. What is the efficacy and what is the mode of action? This can easily be studied in a subcutaneous injected tumor model.
- 2) Tumor models for testing anti-cancer therapeutics with intravenous injection; Besides the injection of tumors subcutaneously, tumors can also be injected intravenously. If a sponsor has proven that their compound of interest is positively influencing tumor growth, they might also be interested in whether these therapeutics have comparable efficacy in metastasis.

- 3) Set-up, validation, training and improvement of tumor models; Triskelion is constantly following literature, and new ideas on this area. Therefore it is important to be able to improve the models that are running at this moment, and train/keep training employees. In addition, once in a while a sponsor is asking for a new tumor type that is not running at this moment. As written above, good consideration and evaluation of the asked model is done. When the use of a new tumor cell line is needed and approved by the AWB and our in-house scientists, a new model will be set-up/tested

In all components tumor cells will be injected into mice. These mice will then be studied for the outgrowth of a tumor with or without treatment. The treatment can be given prophylactic or therapeutic, as single treatment or in combination with other treatments. At the end of the study additional assays (e.g. immunological analysis, histology) can be done ex vivo to give more information on the therapeutics tested.

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

The subcutaneous, intravenous and validation studies are closely linked together. An intravenous model is a logical step after a subcutaneous model. The subcutaneous models are used as primary tumor models and the intravenous models are used for metastatic tumor models. When a compound is able to inhibit tumor growth of the primary tumor, the sponsor will also be interested in the capacity to inhibit metastatic tumors. In both tumor models (subcutaneous and intravenous) constant validation and refinement of these models are needed.

In case a model is already up and running or is successfully set-up, an efficacy study will be done. In this study a syngeneic or xenograft tumor experiment will be done in which therapeutics can be evaluated. In case a new tumor cell lines/a new model is needed for a study, first a set-up/validation/refinement study will be done. After this is finalized, a 'go/no go' decision will be made whether or not an efficacy study will be done. Examples of criteria for a 'no go' decision might be no/low tumor induction, no validated model, etc.

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Tumor models for immunotherapeutics
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	50400	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Triskelion B.V.	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number	Type of animal procedure
		1	Tumor models for immunotherapeutics

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

The project consists of different components:

Efficacy studies, prophylactic or therapeutic studies with immunotherapeutics in either the syngeneic or xenograft tumor models and in some cases the set-up and validation of new tumor models, improvement of tumor models.

The outline of the animal procedures is comparable for these components. In general, in all studies the animals will be injected with tumor cells. The animals will receive or not receive a treatment that decreases tumor growth. The tumor growth will be monitored by measuring the tumor size and/or bodyweight loss and/or presence of clinical symptoms.

A study design contains:

- Tumor cells will be injected into the mice, i.e. subcutaneously or intravenously (depending on the model).
- These injected tumor cells will be allowed to grow into a tumor, which will be monitored. In the case of subcutaneous injection tumor growth will be monitored by determining tumor volume (e.g. in mm³). Tumor volume/tumor growth will be the primary parameter. Secondly, clinical symptoms and body weight will be monitored. In the case of intravenous injection measurement of tumor growth is not a primary parameter because the tumors will mainly develop in the liver and lungs. In these intravenous models, the clinical symptoms and body weight will be the primary readout. Both parameters will therefore be closely monitored and/or measured. With these parameters examples of main focus will be respiration capacity, jaundice, etc. Furthermore, with i.v. models literature research will be done to determine whether there are more monitoring possibilities, and those will be discussed with the AWB.

- After injection of the tumor cells the animals can be treated with the selected treatments. The treatment can be given either therapeutically or prophylactic. Which treatment strategy will be used, is depending on the treatment (the drug type) and the tumor type (e.g. aggressive or non-aggressive tumor).
- The animals will be taken out of the study before or immediately when reaching a humane endpoint (see section J). In case of intravenous injection, new humane endpoints will be established (as described in "Code of practice for cancer research").
- After the animal is taken out of the study, tumor tissues and/or other organs (e.g. lymphoid organs, lungs) can be collected for further analysis.

At any given moment during the study a human immune system (human immune cells) might be introduced (injected) into the mice. How the human immune system will be injected will always be in compliance of the Code of Practice of Diehl, (*Journal of applied toxicology*, 2001; 21: 15-23) and will be communicated/discussed with the AWB.

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

In total, two different classes of groups can be specified in these studies, namely "Untreated groups" and "Treated groups".

The animal procedures will be described for these two classifications. In each experiment only one group will be untreated. The number of treatment groups may differ per experiment and will be communicated with the AWB. For example, in efficacy studies at least one group will be treated with a positive control, and the number of new therapeutics might differ. However a maximum of 12 groups will be used in these experiments. This maximum is based on ensuring a good model and monitoring quality with the current staff capacity and possibilities.

In the case of a set-up study, different concentrations of tumor cells can be injected. The number of different concentrations will be determined on the basis of literature research. Another example is that in a validation study, multiple possible positive controls can be tested, depending on the number of positive control therapeutics which are available, literature research will help in selecting treatments to validate the model, etc. However, from historical data it is envisaged that an average of about 6 groups will be used in these experiments. These groups will include a positive control, negative control, and 2-3 different cell concentrations.

General study design:

Group	Animals/ group	Tumor cell injection	Treatment	Measurement tumor volume	Blood sampling	Euthanasia
1-X	8-10	Day 0	Day -x to x	minimal 2x/week	Day -x to x	End of the study or when reaching HEP
Control group	8-10	Day 0	Day -x to x	minimal 2x/week	Day -x to x	End of the study or when reaching HEP

Additional information on the study design:

- day -x until day 0:
~ min. 1x/week measurement bodyweight
~ min. 1x/day observing clin.signs
- day 0 until end of the study:
~ min. 1x/week measuring body weight
~ min. 1x/day observing clin.signs
- After euthanasia several tissues (like tumor tissue, lymphoid organs, blood) can be isolated for further analysis.
- Shaving of one of the legs before tumor cell injection.

- Tumor injection will be done either subcutaneously or intravenously.
- Tumor injection will be done under anesthesia (isofluorane) in case of s.c. injected tumors
- The design of treatment regime, dose and route will be in line with "Code of Practice" by Diehl, and communicated with the AWB.
- Blood withdrawal might be done via one of the accepted methods in line with "Code of Practice" by Diehl (route, volume, frequency) and communicated with the AWB.
- Humane endpoints will be in line with Code of Practice in cancer research, and communicated with the AWB.
- Euthanasia of the animals according to the European directive 2010/63/EU annex IV

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

The total number of animals per group will be based on historical data (in the case of improvement/efficacy studies), and based on literature research (in the case of a set-up and validation study).

Furthermore, a statistical analysis plan will be part of the protocol/study plan to determine the number of animals needed (a 'Power Analysis'). This is calculated with the sample size calculations tool made available by the University of Boston (<http://www.bu.edu/orccommittees/iacuc/policies-and-guidelines/sample-size-calculations/>).

Literature research will help in minimizing the number of animals used in both efficacy and set-up/validation studies. This is also written in part A, where we state that literature research is done, for example to determine the concentration of injected cells. Or for example to first determine cell growth *in vitro*, determining whether the cells selected are the right cells, show good growth, have the right genetic profile, etc.

Also, the knowledge on the experimental variation within the tumor model, built-up during the set-up/validation studies will be used for sample calculation, and the statistical analysis plan.

B. The animals

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

In these studies mice will be used. The strain and gender of the mice depends on the tumor model and/or the tumor cell line which is used. In all studies, the cells need to be injected into the same strain and/or gender as the background of the tumor cells (for syngeneic models). The xenograft models are injected into immune deficient animals. The details of the mouse strain and sexe will be provided to the AWB. In general the following mouse strains will be used:

- For syngeneic models: Balb/c, C57Bl/6 (all immune competent mouse strains)
- For xenograft models: NSG, NOD.Cg-*Prkdc*^{scid} *Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ, BNX, Nude (all immunodeficient mouse strains)

All selected animals (species) will be obtained from a registered animal supplier.

The studies are always conducted in young adult animals, about 6-8 weeks old at tumor cell injection. If the age of the mice at tumor cell injection need to be different arguments will be provided to and discussed with the AWB.

Based on number of studies performed in the last years, the following number of animals will be used for the upcoming 5 years:

Based on historical data, the number of mice per group is estimated at 8-12 mice per group. Exact numbers per group necessary in a study will be verified with power calculations. For the estimation of the total number of animals used the following calculations are made:

For the set-up studies, an average of 60 animals per study is used. In general, 3 different cell concentrations injected with or without treatment with a positive control. This gives 6 groups of average 10 mice. For the efficacy studies, an average of 120 animals per study is used. Having about 12 groups

of 10 mice.

An estimation of the total number of animals used will be 6600 mice;

- in total about 2 set-up/validation/improvement studies a year with a maximum of 60 mice per study = 600 mice in 5 years
- in total about 10 efficacy studies a year with a maximum of 120 mice per study = 6000 mice in 5 years

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

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

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

☐ No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement: Before each study is initiated a consideration will be done on the historical data whether or not an animal study should be the next step or if in vitro assays are more appropriate.

Reduction: Before each study is initiated, detailed information will be gathered to determine the best model. Literature research will be done to select the right cell line, treatment for positive control, and method. This will decrease the number of groups and number of studies. Furthermore, each cell line will be cultured and analysed in vitro before injection into the animals.

Refinement: When injecting a new tumor cell line, it will be unknown which clinical signs can be expected. The animal caretakers will focus and register all observed clinical signs. These signs will be communicated with the veterinarian and study director. Immediate actions will be taken to decrease any arising suffering, pain or discomfort. When a second or follow up study is done using this new cell line, a plan will be made to avoid the suffering, pain or discomfort of the animal observed in the first study. If needed the humane endpoints will be adjusted.

The clinical signs that surfaced in the set-up/validation studies and showed to be important signs for monitoring animal health, will be recorded. The animal caretakers will focus and register these recorded clinical signs. If the signs are observed, immediate actions will be taken to decrease the suffering, pain or discomfort. If needed the humane endpoints will be used.

At this moment tumor measurement by using the Caliper is the best option for subcutaneous tumors. New methods are under development and if possible we will test these methods. If a new method is decreasing the animal discomfort we will change to this method. In addition tumors can be measured by using scanning methods. This can only be done using genetically changed tumor cell lines. If these cell lines are available to us we will also consider to use these methods when possible.

In addition, the animals will be placed under anaesthesia (conform the code of practice by Diehl) when injecting the tumor cells in subcutaneous models. This will assure that the cells are indeed injected at the right site, therefore decreasing the spread in tumor take/outgrowth.

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

Animal suffering

Animal suffering is minimised by avoiding, as much as possible, pain caused by a large growing tumor. In the early phases of tumor growth the tumor will not cause suffering/pain. Only when the tumor becomes very large (about a volume of 2000mm³, which is determined to be HEP). Concerning the humane endpoint and pain, the guidelines are followed of "Code of practice in cancer research" (Inspectie V&W, 1999). If needed pain relief is given, or the animals are taken out of the study. Furthermore, tumor specific endpoints as determined during set-up of the model will be implemented in follow up studies. If needed the animals are taken out of the study.

Environment

For research with Genetically Modified Organism (GMO) organisms (for example GMO animal strains) and viral vectors, the facility meets the requirements up to ML-II, DM-II and BSL-III.

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

☒ No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

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

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

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

Procedures may warrant anesthesia and/or analgesia, e.g. injection of tumor cells. In those instances, the AWB is informed on the use of appropriate anaesthesia and/or analgesia.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Each new tumor model might give new/other adverse effects. Literature research will be done to determine the most likely adverse effects that can be expected. Before a study is initiated a specific plan will be made to minimize the known adverse effects.

When using immune-deficient animals, measures will be taken such as the use of individually ventilated cages, changing stations, using protective clothing by the animal caretakers.

Each therapy might give unexpected adverse effects, if adverse effects are presented in the animals, immediate actions will be taken and discussed with the AWB and veterinarian.

Explain why these effects may emerge.

Tumor growth can not be totally controlled. It might be possible that during tumor growth blood vessels will be formed at the tumor site, and thereby the possibility that a few tumor cells might travel to other places in the body than only staying at the site of injection. If this happens additional adverse effects can appear when these cells form tumors at different sites. We will learn from these adverse effects and use them to make a more specific/detailed plan for future studies, to be able to decrease the adverse effects for these animals.

Because each therapy may be accompanied by adverse effects that have not been observed in the model with other therapeutics.

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

In the studies of a new model or with a new immunotherapeutic, these possible adverse effects will be closely monitored to determine if and which signs are seen. Animals will be closely monitored to make sure that measures will be taken to relieve discomfort or to humanely sacrifice the animal.

J. Humane endpoints

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

☐ No > Continue with question K.

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

An animal will be sacrificed when the humane endpoint is reached. The following criteria will be used to determine a humane endpoint. (All according to the "Code of Practice in Cancer studies"):

a) Reduction in bodyweight of:

i) > 15% in 1-2 days

ii) > 20% compared to starting weight

b) Tumor:

i) size $\geq$ 10% of the initial bodyweight of the mouse

ii) maximum size of 2000 mm³ (in case of subcutaneous injected tumors)

iii) causes severe impairment in normal behavior and movement (for example piloerection; hunched posture, paralysis or leg lameness)

iiii) shows ulcerative wounds/signs (in case of subcutaneous injected tumors)

c) The animal shows severe circulation- and breathing difficulties (in case of intravenously injected tumors)

d) The animal is likely to die within a short time.

These endpoints will constantly/frequently be adjusted if tumor specific clinical signs are observed or when new insight is gained in the discomfort of the animals.

Indicate the likely incidence.

Incidence:

- a) In the case of subcutaneous injected set up studies determining cell concentrations = 0%; for the outgrowth of a tumor it is sufficient to stop the study at a volume of $\sim 1500\text{mm}^3$. By the time a tumor reaches 1500mm^3 enough information is gathered about the growth of the tumor. Therefore it is not needed to wait for the tumor to reach humane endpoint.
- b) In the case of intravenous injected set up studies determining cell concentrations = 50-90%; because the humane endpoints need to be determined during these studies, most animals might reach humane endpoint. However, intensive literature research will be done to determine upfront the most expected clinical signs. Therefore a plan will be made before the study starts determining humane endpoint based on literature. When a new tumor cell line (tumor model) is tested in the first pilot study, a plan will be made on which additional possible clinical signs can be expected (e.g. in case of lung tumors for example breathing difficulty). A possible expected clinical symptoms will be closely monitored and registered. At the end of the pilot study a consideration will be made if the HEP need to be altered or not.
- c) Validation/Efficacy studies =
Incidence: $\sim 30\text{-}50\%$ of the animals might reach humane endpoint, depending on the efficacy of the treatment; for the validation it is important that sufficient information is gathered about the possibility of a treatment regime to decrease tumor growth. Therefore the untreated and/or vehicle control animals need to be followed until a volume of 1900 mm^3 is reached. To ensure that a minimum number of animals will reach humane endpoint, animals will be monitored daily when reaching a volume of $\sim 1300\text{ mm}^3$ and taken out of the study starting at a volume of 1900 mm^3 . However, even if the growth is monitored daily, humane endpoints will be reached because tumor growth is not always predictable. Therefore it might happen that humane endpoint is reached in these groups of mice, though this occurrence will be minimized as much as possible.

K. Classification of severity of procedures

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

Procedures	Frequency	Level of discomfort
Tumor cell injection (under isoflurane anesthesia)	1x	Mild
Shaving of leg	1x	Mild
Outgrowth of the tumor	About 56 days	Mild or Moderate
Measuring tumor growth (in s.c. tumors)	Minimally 2x/week	Mild
Measuring body weight	Minimally 2x/week	Mild
Treatment with compound	Weekly or daily	Mild or Moderate

Cumulative discomfort: Approximately 90% of the animals will reach 'mild', 9% will reach 'moderate' and 1% will reach 'severe' (severe is based on the side effects/clinical symptoms caused by the tumor, in many cases this will be avoided as much as possible and when severe is reached the animal will immediately be taken out of the study). These indications are based on historical data from the last two years.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

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

Animals may be killed for the collection of tissues (like tumors, lymphoid organs, etc) or blood, or the animals might be killed for ethical reasons concerning reaching humane endpoint.

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

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

☒ Yes

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer :

2. Titel van het project: *In vivo* research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer therapies.

3. Titel van de NTS : Dierstudies in het kader van ontwikkeling van nieuwe en verbeterde anti-kanker immuno-therapieën.

4. Type aanvraag:

- ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
☐ wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC: DEC TNO

Telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]

Emailadres contactpersoon: [REDACTED]

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

- ☒ ontvangen door DEC: 4-5-2017
☒ aanvraag compleet: 4-5-2017
☒ in vergadering besproken: 11-5-2017
☐ anderszins behandeld:
☒ termijnonderbreking(en) van / tot : van 15-5-2017 tot 8-6-2017
☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
☒ aanpassing aanvraag: 8-6-2017
☒ advies aan CCD: 26-6-2017

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

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

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
- Het horen van de aanvrager heeft niet geleid tot aanpassing van de aanvraag. n.v.t

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 15-5-2017
- Datum antwoord: 8-6-2017
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
- Gestelde vragen en antwoorden:

1. De DEC heeft een vraag bij 3.4, Onderzoeksstrategie. Onderaan de pagina vermeldt u: "Immune systems target the immune system, not the tumor itself." Wij verzoeken u dit nader toe te lichten, ook in het licht van wat verderop schrijft onder 2, The xenograft tumor models: "If the immunotherapeutic acts on the tumor cell itself, the appropriate tumor cell needs to be present in the model." Dit lijkt ons op het eerste gezicht tegenstrijdig. Onze vraag daarbij is: op welk mechanisme tracht u invloed uit te oefenen met immunotherapie en hoe? Beide zijn waar. De formulering bij 3.4 is niet helemaal correct en ik snap dat het verwarring geeft. Ik heb de zin aangepast naar "Most immunotherapeutics target the immune system, whereas other immunotherapeutics act on the tumor tissue itself, however thereby also indirectly acting on the immune system." De uitleg daarbij is dat een immunotherapie ervoor zorgt dat het immuun systeem in staat wordt gesteld om een tumor te kunnen opruimen. De mechanisme daarvan kan erg verschillen, bijv. door direct de immuun cellen te activeren, of door de specifieke remming van het immuun systeem door de tumor weg te halen, etc. Dit kan op verschillende manieren gebeuren. Een immuun therapie kan direct werken op de immuun cellen, maar als tweede kan het ook direct op de tumor cellen werken, waardoor indirect het immuun systeem ook wordt geactiveerd. Vaak is het zo dat de immuun therapieën die direct op het immuun systeem werken worden getest in syngene modellen en xenograft modellen. De immuun therapieën die direct op de tumor aangrijpen worden in de meeste gevallen getest in de xenograft modellen omdat dit beter te transleren is naar de mens dan in de syngene modellen.
2. Eveneens bij 3.4, Onderzoeksstrategie, vragen wij ons af in het kader van vermindering of het altijd nodig is om eerst een experiment met traag groeiende tumoren te doen en als volgende stap een experiment met snelgroeiende tumoren. Hoe rigide is deze strategie en wat zijn afhankelijk van de gekozen strategie de effecten op aantallen dieren en ongerief? Nee, het is zeker niet altijd nodig om eerst een experiment te doen met een traag groeiende tumor en vervolgens een snel groeiende tumor. De keus is afhankelijk van het te verwachten effect van de compound (gebaseerd op de historische data). Als te verwachten is dat een compound een sterk effect heeft, zal meteen een snel groeiende tumor gebruikt kunnen worden. Als van een compound een klein effect verwacht wordt dan zal in eerste instantie een langzaam groeiende tumor gebruikt worden. Daarnaast is het van belang wat de vraag/doel is van het onderzoek. Wil men een beter effect zien op een bestaande therapie die op zich al heel potent is, dan zal gekozen worden voor een snel groeiende tumor. Of als men een additief effect wil zien van een compound in een combinatie therapie dan zal ook voor een snel groeiende tumor gekozen worden. Wat betreft vermindering van het aantal dieren kan ik zeggen dat er altijd een goede overweging wordt gemaakt of het gekozen model een logische stap is. Als voorbeeld, indien een compound niet heel goed werkzaam is in een langzaam groeiende tumor, zal nooit daarna een studie gedaan worden met een snel groeiende tumor. Alles hangt dus samen met de voorkennis en verwachtingen van de compound en de overweging of het gekozen model een antwoord kan geven op de gestelde vraag. Qua ongerief zal er geen verschil zijn tussen de beide modellen (snel of langzaam groeiende tumoren). De HEP zijn voor beide modellen gelijk en dus kan ik zeggen dat een snel groeiende tumor niet meer ongerief zal geven dan een langzaam groeiende tumor.
3. Nogmaals bij 3.4, Onderzoeksstrategie, beschrijft u dat u de beschreven diermodellen hebt gekozen op basis van een uitgebreide rondvraag in het veld. Wat betekent dit als een opdrachtgever specifiek om een bepaald model vraagt dat u nu niet beschreven hebt? Indien een opdrachtgever specifiek om een ander model vraagt zullen we in discussie gaan met de opdrachtgever of onze modellen echt geen optie zijn. Als dit niet zo is dan zullen we een overweging maken (gebaseerd op literatuur, interne kennis en benodigde expertise van het model, mogelijkheid om het model op te zetten, etc) of wij dit model zouden willen opzetten. Als er te veel twijfel is zullen we dit niet doen. Indien we van mening zijn dat wij wel de kennis en expertise hebben om het model op te zetten dan zullen we eerst beginnen met een pilot experiment waarbij een klein aantal dieren gebruikt gaat worden om het model te testen (zie design beschreven bij set-up studies). Indien dit succesvol is dan pas zullen we een 'grote' studie gaan uitvoeren voor de specifieke opdrachtgever.
4. In de appendix onder 2.A beschrijft u het hoe u het onderzoek gaat uitvoeren. Op basis waarvan en met welke criteria bepaalt u het uiteindelijke protocol dat u gaat uitvoeren? Zo vragen wij ons af hoe de hoeveelheid te injecteren tumorcellen wordt bepaald, met name als het zou gaan om nieuwe cellijnen waar van de uitwerking in diermodellen nog niet bekend is. Zoals beschreven bij het opzetten van een model (set-up studie) zullen we altijd bij een nieuw model een test doen met meerdere cel concentraties. Hiermee kunnen we bepalen wat de groeisnelheid van de tumoren is bij de verschillende aantallen geïnjecteerde cellen. De gekozen hoeveelheden zijn altijd gebaseerd op wat eerder is uitgevoerd in de literatuur en/of wat de kennis is van de opdrachtgever over het te injecteren aantal cellen. Dus met literatuur onderzoek en historische kennis van de opdrachtgever zullen we het aantal cellen vaststellen.
5. Eveneens onder 2.A verwijst u voor de bepaling van humane eindpunten terecht naar de verplicht te gebruiken "Code of practice for cancer research" van 1996. Hoe houdt u zich op de hoogte van actuele wetenschappelijke inzichten op dit terrein en in hoeverre past u die aanvullend toe? We blijven op internet bijhouden of er nieuwe richtlijnen zijn. Indien die worden vastgesteld zullen we ons daar aan gaan houden. Daarbij komt dat we tijdens onze experimenten altijd de HEP blijven aanpassen indien er

gegronde redenen zijn (altijd in overleg met dierenarts en proefdierdeskundige) om ze aan te passen. De lijntjes met de dierenarts en proefdierdeskundige zijn erg kort en overleg vindt vaak plaats. Als voorbeeld kan ik zeggen dat we pas nog de HEP hebben aangepast ivm vaak voorkomen van verlammingen bij een bepaalde soort tumorcellen. Dit is nu standaard opgenomen in het HEP.

6. In de appendix onder 2.B, The animals, staat dat u het geslacht van het dier laat hangen van het geslacht van de cellijn. Wij vragen ons af of er keuze is in de te gebruiken of te ontwikkelen cellijn en of deze al dan niet in verschillende geslachten beschikbaar zijn. Kunt u deze keuze ook onderbouwen in relatie tot de translatie naar de (mannelijke of vrouwelijke) mens?

Tot nu toe zijn de cellijnen vaak maar in 1 geslacht bruikbaar, namelijk het geslacht waar de cellijn is uit geïsoleerd. Indien een cellijn in de andere sexe wordt ingespoten bestaat de kans dat de tumor al wordt opgeruimd door het immuun systeem omdat het voor vreemd wordt aanzien. Tot nu toe is er geen negatieve relatie gevonden waaruit is gebleken dat de bevindingen die gedaan zijn in een groep muizen van gelijke sexe, niet transleerbaar waren naar de andere sexe in de mens.

7. In de appendix onder 2.D, onder Refinement, noemt u opnieuw deze Code of practice waar het gaat om het meten van de tumor voor het bepalen wanneer het humane eindpunt is bereikt. Er zijn inmiddels nieuwere meetmethoden, waarmee de tumorgroei preciezer kan worden vastgesteld. Gebruikt u deze en kunt u daarover aanvullend iets opnemen?

Op dit moment is de manier van meten dmv een Caliper nog steeds de beste manier van tumor volume meten. Er worden nieuwe methodes ontworpen en die testen we ook indien beschikbaar. In de afgelopen studie hebben we een nieuw apparaat getest waarin een soort scan werd gemaakt van de tumor om het volume te bepalen. Deze methode is niet optimaal en de fabrikant gaat hiermee aan de slag. Indien er dus nieuwe methode beschikbaar zijn dan zullen we die zeker uittesten en invoeren indien het beter is dan de Caliper. Beter betekent in dit geval minder ongerief voor de dieren, betere inschatting/meting van het daadwerkelijke volume en minder variatie tussen meetpersonen. Tumoren kunnen ook gemeten worden dmv bijv. bestaande beeldvormende methoden. Deze methode is alleen mogelijk indien de tumor cellen hierop zijn aangepast. Van niet alle tumoren is deze methode beschikbaar. Waar mogelijk zal deze methode gebruikt worden.

8. Eveneens onder 2D, bij Refinement: kunt u motiveren of u overweegt technieken te gebruiken die de tumor in het lichaam meten door middel van bijvoorbeeld beeldvormende technieken, in plaats van het indirect meten van de tumorgroei door middel van het meten van de gevolgen (bijv. benauwdheid)?

Zoals hierboven aangegeven zullen we dit zeker in overweging nemen indien de tumor cellijn hierop is aangepast en verkrijgbaar is voor profit organisaties. In veel gevallen is het niet mogelijk om als profit organisatie deze cellijnen te verkrijgen/kopen. Indien het mogelijk is zullen we daar zeker gebruik van maken.

Het is voor de afweging die wij als DEC maken van belang om naast het doorgronden van doel en strategie, ook het ongerief van de dieren goed te kunnen inschatten.

9. In de appendix onder 2.J beschrijft u de humane eindpunten en de incidentie daarbij. Onder b schrijft u: "it might happen that other unexpected humane endpoints will appear. During the study the humane endpoint will be altered in consultation with the AWB and the veterinarian." Dit maakt het onmogelijk de humane eindpunten mee te nemen in de afweging van de DEC. Wij verzoeken u te beschrijven hoe u voorafgaand aan elke dierproef de humane eindpunten zult bepalen op basis van bijvoorbeeld voorkomende fenotypen.

De HEP zoals beschreven in de appendix zullen altijd worden toegepast. Het aanpassen van de HEP zal alleen gebeuren wanneer een nieuw tumor model wordt opgezet. Voorafgaand aan een studie met een heel nieuw model zal in de literatuur gezocht worden of er extra/andere HEP toegevoegd moeten worden aan de al beschreven HEP. Dit zal dus voorafgaand aan de studie worden toegevoegd in samenspraak met de dierenarts en de proefdierdeskundige. Tijdens een set-up studie waarin de eerste keer een nieuwe cellijn wordt getest, zullen deze bedachte HEP geanalyseerd worden en na afloop besproken met de AWB.

De beschreven HEP in de appendix zullen dus in alle studies gehandhaafd worden. Alleen de nieuwe modellen die we gaan opzetten zullen de HEP uitbreiden worden.

10. Eveneens onder 2.J: Gelden verlamingsverschijnselen als criterium voor het vaststellen van het humane eindpunt?

Ja, recent is dit toegevoegd aan de criteria van de HEP. Is aangepast in de appendix (toegevoegd).

11. Wij verzoeken u de titels van de onderdelen van uw projectvoorstel beter op elkaar af te stemmen en gericht te formuleren (niet te breed, niet te smal).

De titel van de project proposal is aangepast met in de titel immunotherapies.

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

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:

- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Advies expert:

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

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

C. Beoordeling (inhoud):

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang. De aanvrager heeft op een eerder moment een projectaanvraag met een vergelijkbaar onderwerp ingediend. Toen heeft de DEC TNO uitgebreid gediscussieerd over de toetsbaarheid van dat projectvoorstel. Dit bevond zich meer op programmaniveau dan op projectniveau. Zo was het voor de DEC bijvoorbeeld onmogelijk te bepalen of bij elk onderdeel voor het optimale diermodel gekozen zou worden. Hierover zijn toen vragen gesteld aan de aanvrager. Deze heeft daarop besloten een geheel nieuw projectvoorstel voor te leggen, waar dit advies over gaat. Naar de mening van de DEC heeft dit project voldoende samenhang en is het als een geheel te benaderen. Het gaat als geheel om de zoektocht naar betere immunotherapieën voor kanker, waarbij potentiële medicijnen in opdracht worden onderzocht. Dit kunnen verschillende medicijnen zijn, waarvoor verschillende cellijnen en muismodellen zijn geselecteerd, in overleg met opdrachtgevers. De te gebruiken technieken zijn beschreven in de aanvraag, maar op basis van de voorliggende vraag van een opdrachtgever zal per onderzoeksvraag een experiment worden ontworpen. Deze experimenten passen allemaal binnen de kaders zoals gesteld in het voorliggende projectvoorstel.
2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) sluit(en) aan bij de hoofddoelstelling(en). Het gaat om translationeel/toegepast onderzoek, namelijk het testen in muizen van medicijnen op het gebied van immunotherapie tegen kanker, met als doel een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van immunotherapieën voor kankerpatiënten.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is bijdragen aan de ontwikkeling en verbetering van nieuwe immunotherapieën tegen kanker. Het uiteindelijke doel is het afremmen of in de toekomst mogelijk genezen van kanker. De wijze waarop het project zal worden uitgevoerd maakt aannemelijk dat dit inderdaad kan bijdragen aan de ontwikkeling en verbetering van immunotherapieën. De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is

tussen het directe doel en het uiteindelijke doel. Uiteindelijk is het behalen van het doel altijd afhankelijk van de potentie van een immunotherapie die ontwikkeld is door een opdrachtgever. DEC TNO ziet voldoende geborgd dat een deskundig projectteam van de vergunninghouder de historische data beoordeelt en in overleg met de opdrachtgever de geschikte in vivo-experimenten ontwerpt zodat het doel behaald kan worden.

5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: kankerpatiënten en de muizen die als proefdier gebruikt worden. Daarnaast hebben opdrachtgevers belang bij informatie over hun (potentiële) product. Ook de uitvoerende organisatie en de medewerkers die aan het onderzoek werken hebben een belang. Voor de patiënten zijn in het geding de waarden: leven, gezondheid, welzijn, activiteiten kunnen ontplooiën. Voor de proefdieren zijn in het geding de waarden: leven, gezondheid, welzijn en natuurlijk gedrag kunnen vertonen. Voor de opdrachtgevers en de uitvoerende organisatie gaat het voornamelijk om een economisch belang. Voor de betrokken medewerkers van TNO gaat het om hun professionele ontwikkeling.
6. De DEC ziet geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken. De voorschriften voor werken met genetisch gemodificeerde organismen worden in acht genomen.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De aanvrager werkt met verschillende specialistische onderzoeksgroepen met jaren ervaring, zowel in de oncologie als de immunologie. Ook is er grondige kennis aanwezig van de specifieke tumormodellen. De aanvrager houdt zich via literatuur en nauw contact met de IvD goed op de hoogte van 3V-opties, en geeft daar concreet blijk van in de antwoorden op de vragen 7 en 8 van de DEC (over verfijning). Daarnaast geven de antwoorden op de vragen 5 en 7 aan dat de aanvrager niet blind gebruik maakt van richtlijnen van een decennium geleden, maar zelf en in overleg met de IvD betere humane eindpunten includeert. Een voorbeeld hiervan zijn de verlamningsverschijnselen die bepaalde cellijnen kunnen genereren.
8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen, en de gekozen strategie met experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Muizen krijgen tumorcellen geïnjecteerd en krijgen vervolgens al dan niet medicijnen toegediend die direct of via het immuunsysteem de tumorgroei afremmen. De strategie is nauwkeurig omschreven en op details verduidelijkt in de antwoorden op de vragen 1 t/m 4 van de DEC. Met deze strategie kan volgens de DEC werkelijk een substantiële bijdrage worden geleverd aan de ontwikkeling en verbetering van immunotherapieën.

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
- ☐ Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
 - ☐ Niet-menselijke primaten (10e)
 - ☐ Dieren in/uit het wild (10f)
 - ☐ Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
 - ☐ Zwerfdieren (10h)
 - ☐ Hergebruik (1e lid 2)
 - ☐ Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
 - ☐ Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
 - ☐ Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU-richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Gezien de nauwgezette monitoring van de dieren is het realistisch dat het merendeel van de dieren licht ongerief zal hebben van anesthesie en/of de tumor. Door de tumor zal naar schatting 9% matig ongerief hebben en 1% ernstig. Deze laatste groep wordt beperkt door het eventuele aanscherpen van de humane eindpunten, zoals betoogd in het antwoord op de vragen 9 en 10 van de DEC.
12. De integriteit van de dieren wordt in die zin aangetast dat gewerkt wordt met muizen die door genetische modificatie naakt zijn.
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd, en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. De DEC heeft met vraag 9 doorgevraagd naar de onduidelijkheid over het eventuele gaandeweg het project aanpassen van de humane eindpunten. Uit het antwoord blijkt dat het gaat om het eventuele aanvullen van de criteria. Dit betekent dat de beschreven criteria in elk geval gehandhaafd zullen blijven, en daarmee kan de DEC een ethische afweging maken.

3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn voor het project, maar geeft aan per studie te zullen nagaan, op grond van historische data, of er voor specifiek die studie een alternatief is. Het ontwikkeltraject van de te testen immuuntherapie zal plaatsvinden bij de opdrachtgevers.

15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Die strategie bestaat eruit dat voorafgaand aan elke studie onder dit project een analyse wordt gedaan, met literatuuronderzoek, van de optimale cellijn en het optimale model, op grond waarvan het optimale aantal dieren kan worden vastgesteld. In het kader van het diergebruik en ongerief heeft de DEC ook gevraagd naar de strategie voor het testen van immuuntherapie in snelle of langzaam groeiende modellen. De DEC onderschrijft de strategie die de aanvrager omschrijft om niet altijd een vaste opeenvolging van de kankermodellen te gebruiken, maar afhankelijk van de specifieke onderzoeksvraag een model te kiezen. Daarmee wordt dus altijd toegewerkt naar een strategie met zo min mogelijk dieren.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven, en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Omdat de klinische reacties op de cellijnen niet altijd voorspelbaar zijn, is extra alertheid geboden, waar de aanvrager blijk van geeft. Ook in de antwoorden op de vragen 7 en 8 van de DEC over verfijning (nieuwe technieken) laat de aanvrager zien waar mogelijk technieken te overwegen die bij kunnen dragen aan verfijning. Daarnaast blijken de snel of langzaam groeiende modellen op het gebied van ongerief niet te verschillen en kan dus puur vraag gestuurd het beste model gekozen worden.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Er zullen in de bijlage zowel mannelijke als vrouwelijke dieren worden gebruikt, maar de aanvrager geeft aan dat niet te voorspellen is of die twee in balans zullen zijn. Men is hierbij afhankelijk van het geslacht van de cellijnen. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd dat het, om de doelstellingen te bereiken en de kwaliteit van de studies te garanderen, noodzakelijk is om de proeven soms met mannelijke, soms met vrouwelijke dieren uit te voeren. Dit is nader toegelicht in het antwoord op vraag 6 van de DEC.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood. Dit is noodzakelijk om lichaamsmaterialen nader te onderzoeken ten behoeve van analyse van de werking van het medicijn. De dieren worden op een volgens de bijlage IV van de EU-richtlijn passende methode gedood.
20. Omdat in het projectvoorstel muizen worden aangevraagd is de vraag over herplaatsing/hergebruik niet van toepassing.

NTS

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

D. Ethische afweging

1. De centrale morele vraag luidt: rechtvaardigt het ontwikkelen en verbeteren van immunotherapieën de dood van 6.000 muizen en het voor 90% van de dieren lichte, voor 9 % van de dieren matig en voor 1% van de dieren ernstige ongerief?
2. Het belang van de patiënten en de samenleving is groot. Kanker is een ernstige ziekte die op grote schaal voorkomt en veel leed met zich meebrengt voor patiënten en hun naasten. 6.000 muizen worden onderworpen aan voornamelijk licht, maar ook aan matig ongerief en soms ernstig ongerief en gaan ook dood, dit is bij elkaar een groot nadeel voor de muizen.
3. De DEC is overtuigd van het belang van de doelstellingen om immunotherapie verder te ontwikkelen en te verbeteren. De DEC weegt het voordeel voor de patiënten en de samenleving zwaarder dan het nadeel voor de 6.000 proefdieren. Immunotherapie is op dit moment een veelbelovende richting voor de behandeling en genezing van kanker. Dit onderzoeksproject kan concrete resultaten opleveren die immunotherapie verder kunnen brengen, en daarmee bijdragen aan de verbetering van de kwaliteit van leven en verhoging van de overlevingskans van patiënten. De afweging valt daarom uit in het voordeel van de patiënten. Het project is goed opgezet, en de aanvrager werkt goed aan het optimaliseren van het onderzoek en de 3 V's. Er is veel aandacht voor het per studie opnieuw bekijken van de mogelijkheden daartoe. Op grond van het bovenstaande is de DEC TNO van mening dat het gebruik van de dieren voor dit onderzoeksproject gerechtvaardigd is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☐ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

De aanvrager omschrijft in 3.4.1 een aantal tumorcellijnen waarmee men veel ervaring heeft. De aanvrager is ervan overtuigd dat men hiermee de vragen van opdrachtgevers kan beantwoorden op het gebied van immuuntherapie. De DEC ziet dat de aanvrager bij de keuze voor deze cellijnen een weloverwogen keuze heeft gemaakt. De aanvrager beschrijft een andere strategie voor het mogelijk toepassen van een andere cellijn. Deze strategie kan voorkomen als een opdrachtgever vraagt om het gebruik van een andere tumorcellijn. In dit geval zal er, na overleg met de Instantie voor Dierenwelzijn en raadpleging van literatuur en interne kennis, eerst een pilotstudie worden gedaan om de tumorcellijn te valideren. De IvD zal de CCD op de hoogte brengen van het gebruik van een nieuwe cellijn via een melding. De DEC adviseert om hierbij de voorwaarde te stellen dat wanneer uit een pilotstudie met een andere tumorcellijn

blijkt dat de uitkomst buiten de in de aanvraag genoemde kaders valt voor het ongerief, er een wijziging op dit project ingediend moet worden voordat er verdere effectiviteitsstudies uitgevoerd gaan worden.

Daarnaast adviseert de DEC dat er een wijziging op dit project ingediend moet worden wanneer een opdrachtgever een andere tumorcellijn wenst te gebruiken vanwege een andere wetenschappelijke reden, een die afwijkt van de in het project omschreven reden, die waarbij de te testen therapie aangrijpt op een eiwit op de tumor zelf.

Op deze manier beoogt de DEC te bereiken dat wanneer het gebruik van een nieuwe cellijn afwijkt van de in het project beschreven kaders voor ongerief of wetenschappelijk doel, er een onafhankelijke weging plaatsvindt om de noodzaak van het opzetten van een nieuw tumormodel en eventuele substantiële toename van het ongerief dat gepaard kan gaan met het gebruik van een nieuwe tumorcellijn, te kunnen signaleren en indien nodig te toetsen.

☐ De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Er is een dilemma naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag. Er is in de DEC uitgebreid gediscussieerd over de transleerbaarheid van kankermodellen van de muis naar de mens. Daarbij is de DEC uiteindelijk tot de conclusie gekomen dat transleerbaarheid niet alleen in kankermodellen, maar ook in vele andere diermodellen een probleem is. De DEC heeft geconcludeerd dat we helaas nog niet op een punt zijn deze diermodellen te kunnen vervangen door beter voorspellende modellen. De DEC heeft ook expliciet uitgesproken dat zij deze discussie naar aanleiding van dit project voert, maar dat het in dit project niet meer of minder speelt dan in andere projecten. Daarmee is het genoemde dilemma geen direct onderdeel geweest van de afweging voor dit project, maar de DEC benoemt het hier, omdat het een dilemma is waar de DEC geregeld op uitkomt.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Triskelion BV



Postbus 844

3704 HE ZEIST



**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
AVD5040020172364

Bijlagen

2

Datum 28 juni 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 26 juni 2017. Het gaat om uw project "In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD5040020172364. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Datum:

28 juni 2017

Aanvraagnummer:

AVD5040020172364

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
28 juni 2017
Aanvraagnummer:
AVD5040020172364

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 50400
Naam instelling of organisatie: Triskelion BV
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: 
KvK-nummer: 51382997
Postbus: 844
Postcode en plaats: 3704 HE ZEIST
IBAN: NL101NGB0654470189
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Triskelion B.V

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:
Functie:
Afdeling:
Telefoonnummer:
E-mailadres:



Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

Functie:

Afdeling:

Telefoonnummer:

E-mailadres:



Datum:

28 juni 2017

Aanvraagnummer:

AVD5040020172364

Gegevens gemachtigde

Postbus: 96800

Postcode en plaats: 2509 JE ZEIST

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Ja

Wat mag de gemachtigde doen?

- ☐ Een projectvergunning aanvragen
- ☐ Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- ☐ Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- ☐ Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- ☒ Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

- ☒ Nieuwe aanvraag
- ☐ Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- ☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum:

1 januari 2018

Geplande einddatum:

1 januari 2023

Titel project:

In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies.

Titel niet-technische samenvatting:

Dierstudies in het kader van ontwikkeling van nieuwe en verbeterde anti-kanker immuno-therapieën

Naam DEC:

DEC-TNO

Postadres DEC:

96800 2509 JE DEN HAAG

E-mailadres DEC:

**Datum:**

28 juni 2017

Aanvraagnummer:

AVD5040020172364

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1035,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

☒ Projectvoorstel☒ Beschrijving Dierproeven☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

☒ Melding Machtiging☒ DEC-advies**Ondertekening**

Naam:



Functie:

Plaats:

Den Haag

Datum:

27 juni 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Triskelion BV
T.a.v. crediteurenadministratie
Postbus 844
3700 AV ZEIST


**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
AVD5040020172364
Bijlagen
2

Datum 28 juni 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 28 juni 2017
Vervaldatum: 28 juli 2017
Factuurnummer: 172364
Ordernummer: 56001165

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD5040020172364	€ 1035,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 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

Triskelion BV



Postbus 844

3704 HE ZEIST



**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
AVD5040020172364

Datum 7 juli 2017

Betreft Aanvulling aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Op 26 juni 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies." met aanvraagnummer AVD5040020172364. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Ondertekening

Voor deze aanvraag is het aanvraagformulier nog niet op papier ontvangen. Wij hebben echter ook de zogenaamde 'natte handtekening' nodig. Wij verzoeken u een ondertekend aanvraagformulier per post te sturen.

Onduidelijkheden

In de NTS staat genoemd dat er 'ongeveer 6000 muizen' zullen worden gebruikt. In de Bijlage Dierproeven staat dat er 6000 muizen worden gebruikt voor de efficacy studies en 600 voor set-up. Kunt u een nieuwe NTS sturen waarin de aantallen dieren overeenkomen met de Bijlage Dierproeven?

Leges

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

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

Datum:
7 juli 2017
Aanvraagnummer:
AVD5040020172364

Opsturen binnen veertien dagen

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

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Bijlagen:

- Melding bijlagen



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Triskelion BV

Postbus 844

3704 HE ZEIST



**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

AVD5040020172364

Bijlagen

1

18 JULI 2017

Datum 17 juli 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 26 juni 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies." met aanvraagnummer AVD5040020172364. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 13 juli 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof een nieuwe NTS.

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(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

De DEC heeft geadviseerd voorwaarden te stellen om te bereiken dat wanneer het gebruik van een nieuwe cellijn afwijkt van de in het project beschreven kaders voor ongerief of wetenschappelijk doel, er een onafhankelijke weging plaatsvindt om de noodzaak van het opzetten van een nieuw tumormodel en eventuele substantiële toename van het ongerief dat gepaard kan gaan met het gebruik van een nieuwe tumorcellijn, te kunnen signaleren en indien nodig te toetsen. Deze voorwaarden zijn door de CCD overgenomen.

U kunt met uw project "In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies." starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31

december 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat een vergunning een looptijd van maximaal 5 jaar kan hebben.

Datum:
17 juli 2017
Aanvraagnummer:
AVD5040020172364

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

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

Er is sprake van ernstig ongerief.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-TNO gevoegd. Dit advies is opgesteld op 26 juni 2017. 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. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) 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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

17 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD5040020172364

Centrale Commissie Dierproeven

namme

ir. C

Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Triskelion BV

Adres: Postbus 844

Postcode en plaats: 3704 HE ZEIST

Deelnemersnummer: 50400

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022, voor het project "In vivo research involving mouse tumor models for the development of and improvement of anti-cancer immunotherapies." met aanvraagnummer AVD5040020172364, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]. De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 26 juni 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 26 juni 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 13 juli 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 26 juni 2017, ontvangen op 26 juni 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 13 juli 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Tumor models for immunotherapeutics				
	Muizen (Mus musculus) /	6.600	1% Ernstig 9% Matig 90% Licht	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk april 2023 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren.

Aanvraagnummer:
AVD5040020172364

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

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

Indien er een nieuwe cellijn wordt gebruikt die niet in de projectaanvraag is beschreven, wordt dit via een melding aan de CCD kenbaar gemaakt, zolang hiervoor niet meer dieren nodig zijn dan in deze vergunning staan. Als het aantal dieren hoger is, wordt dit via een wijziging kenbaar gemaakt aan de CCD. Indien uit een pilotstudie met een andere tumorcellijn blijkt dat de uitkomst buiten de in de aanvraag genoemde kaders valt voor het ongerief, moet er een wijziging op dit project ingediend worden voordat er verdere effectiviteitsstudies uitgevoerd gaan worden.

Daarnaast moet er een wijziging op dit project ingediend worden wanneer een opdrachtgever een andere tumorcellijn wenst te gebruiken vanwege een andere wetenschappelijke reden, een die afwijkt van de in het project omschreven reden, die waarbij de te testen therapie aangrijpt op een eiwit op de tumor zelf.



Aanvraagnummer:
AVD5040020172364

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

Aanvraagnummer:
AVD5040020172364

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

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

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

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

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

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

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.