

		Inventaris Wob-verzoek W17-08								
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.		document NTS 2017829	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	x	x	x	
4		Bijlage 1				x	x	x	x	
5		Bijlage 2				x	x	x	x	
6		Bijlage 3				x	x	x	x	
7		Ontvangstbevestiging en factuur				x		x	x	
8		Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x	
9		Antwoord op verzoek om aanvullende informatie				x	x	x	x	
10		DEC advies				x	x	x	x	
11		Advies CCD		x						x
12		Beschikking en vergunning				x		x	x	



23 JAN 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 10700 ☐ 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>Universiteit Maastricht</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td></td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>50169181</td></tr><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Minderbroedersberg 4-6</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Universiteit Maastricht	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde		KvK-nummer	50169181	Straat en huisnummer	Minderbroedersberg 4-6							
Naam instelling of organisatie	Universiteit Maastricht																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde																	
KvK-nummer	50169181																
Straat en huisnummer	Minderbroedersberg 4-6																
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table><tr><td>Postbus</td><td>616</td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>6200 MD Maastricht</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL04 INGB 0679 5101 68</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>Universiteit Maastricht</td></tr></table>	Postbus	616	Postcode en plaats	6200 MD Maastricht	IBAN	NL04 INGB 0679 5101 68	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Maastricht							
Postbus	616																
Postcode en plaats	6200 MD Maastricht																
IBAN	NL04 INGB 0679 5101 68																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Maastricht																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<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>☐ 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																	

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|--------------|
| Startdatum | 1 - 2 - 2017 |
| Einddatum | 1 - 2 - 2022 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluation of a drug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Evaluatie van een oculaire coil voor gereguleerde geneesmiddelenafgifte aan het oog
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|---------------------------------|
| Naam DEC | DEC-UM |
| Postadres | Postbus 616, 6200 MD Maastricht |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1441 Lege
- ☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☒ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

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

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

Functie

Plaats

Maastricht

Datum

19 - 1 - 2017

Handtekening



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

1 General information

- | | |
|--|--|
| 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. | 10700 |
| 1.2 Provide the name of the licenced establishment. | Maastricht University |
| 1.3 Provide the title of the project. | Evaluation of a drug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye |

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.

Background

In the treatment and prevention of ocular diseases, eye drops, ointments, inserts and implants are often the first line of defence. Ocular conditions that warrant appropriate ophthalmic drug therapy include contact lens induced microbial keratitis (MK), cataract surgery, dry eye disease, glaucoma, uveitis, age related macular degeneration (AMD) and diabetic retinopathy (DRP).

Motivation

Topical administration of drugs via eye drops is the most common drug delivery route for ocular disease. Despite the ease of access of eye drops and the readily achieved therapeutic concentrations in anterior segment tissues, they also have some significant disadvantages. A short duration of action, high peak drug concentrations and considerable systemic absorption of the drug are several important shortcomings. For example, the absolute [REDACTED] [REDACTED]

In order to maintain minimal effective concentrations, drugs need to be dosed frequently. However, it is known that patient compliance (the degree to which a patient correctly follows medical advice) is poor. Low patient compliance is caused by forgetfulness or life stress by the patient, a low self-efficacy of self administration, difficulties with the medication schedule and side effects. Moreover, incorrect instilling of the eye drop is also encountered as a severe problem, probably in more cases than assumed by the patients themselves. These obstacles can result into complications, which are a significant burden for the health care system. Besides, it is often unclear whether the patient is not compliant or whether the drug is not working. (Eaton, 2015; Mohindroo, 2015)

To improve drug delivery and bypass patient compliance issues, injections (subconjunctival, subtenon, intracameral, intravitreal) into the targeted site are used. However, the optimal concentrations are difficult to calculate and are invasive for the patient. For example, intravitreal injections for AMD need to be repeated at monthly intervals with poor patient tolerance (pain and fear), significant risks (e.g. endophthalmitis), and high costs (e.g. loss of working hours). Therefore, new methods for ocular drug delivery and drug detection are essential within the ophthalmic field.

To improve drug delivery, our group invented an ocular coil which can be placed in the lower conjunctival fornix of the eye for slow and constant drug release over a longer period of time (28 days). This ocular coil removes the burden of daily eye drop administration, hereby improving patient compliance. The ocular coil is not invasive, and can easily be removed (without surgical intervention) when the treatment is finished.

In the detection of ocular drug levels, we face the problem that this can only be detected by taken an aqueous humor sample (which is an invasive procedure) and analyzing this sample by [REDACTED]

Therefore, we suggest a new method, namely: [REDACTED]. This has the advantage to detect [REDACTED]

[REDACTED] With this technique, drug concentrations can be quantified *in vivo*, although not much work has been done in this field.

Our group has been developing and optimizing this technique for years. [REDACTED] measured *in vivo* silicone oil in the cornea of living rabbits. [REDACTED] used *in vivo* [REDACTED] to measure drugs in the cornea of human eyes. In [REDACTED], published the [REDACTED] pattern of several ocular drugs, for example [REDACTED]).

Therefore, we would also like to explore whether [REDACTED] can be a valuable and non-invasive alternative to [REDACTED] for quantifying drug levels in the eye. When successful, this technique will be implemented in the second study (ocular pharmacokinetics study) and could replace the invasive [REDACTED] method.

Context

Because of their assumed advantages such as increased local bioavailability, slow and constant drug release, reduction of systemic absorption and improved patient compliance, amongst others, the development of non-invasive ocular fornix devices has gained popularity for the treatment of anterior segment disease in the last decade. Together with our collaborators, we designed an ocular coil loaded with a drug. This coil will be placed in the lower conjunctival fornix where it can gradually release the loaded drug to the tear film (Figure 1).

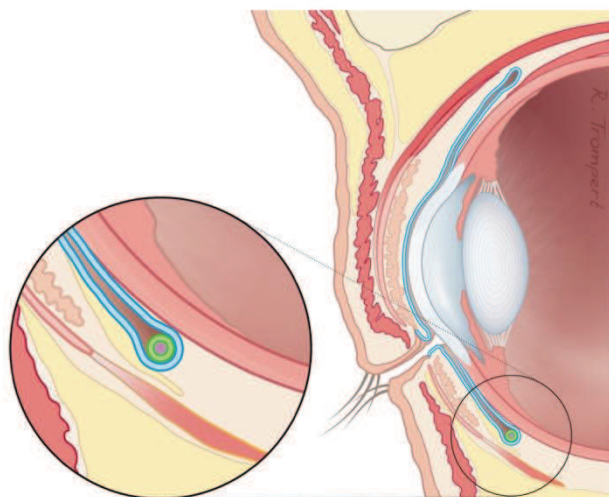


Figure 1. Sagittal section of an ocular coil for sustained drug delivery, placed in the lower conjunctival fornix of a patient.

Preliminary results

In the early 2000's, we designed a drug-loaded adherent hydrogel on a thin metallic wire, which is coiled (). The coiled structure accounts for the device's flexibility and integrity. The hydrogel coating starts to swell once the device contacts the tear fluid, and concomitant release of the drug into the tear film occurs. The so-called design was 16mm (including caps) in length and consisted of a 76 microns metal wire diameter wound around a mandrel of 432 microns (total thickness 584 microns) (Figure 2).

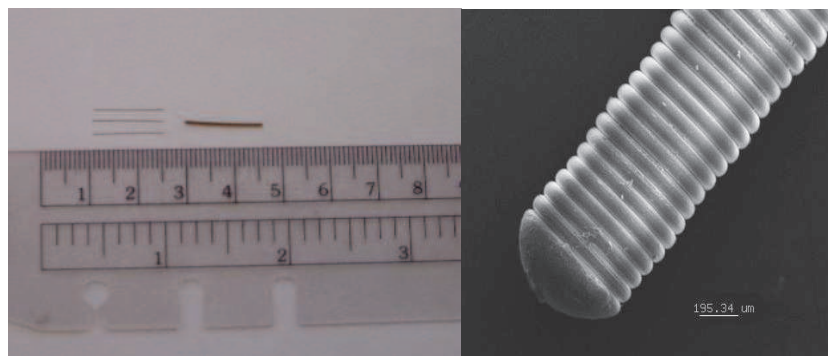


Figure 2. Illustration of the including dimensions and the drug loaded fillaments which can be placed in the lumen of the ocular coil and end-capping ().

In vitro studies on the successful drug release from the ocular coil have been reported for the dye fluorescein and the antibiotics chloramphenicol and pradofloxacin (). The sustained release of the latter drug was also evaluated *in vivo*. Drug levels in the tear fluid of dogs after insertion of the ocular coil remained within the aimed concentration range during the entire 72 hours (). The tolerance of the ocular coil was also evaluated in a preliminary *in vivo* study in five human subjects for a 2 hour period. Volunteers reported that the presence of the device in the eye could be noticed, but no irritation was reported ().

Follow-up

After these studies, no further research was initiated since the patent holder made a strategically decision to move its R&D investments towards ocular drug delivery to the posterior segment of the eye. However, recent decision to invest in this technology has led to a new research project that will focus on the optimization of the tolerability of the device in the *in vivo* human clinical setting and on the drug release kinetics *in vitro* and *in vivo*.

Several parameters (such as the coil diameter, wire diameter, flexibility, coating and drug loading) will be modified to enhance the tolerability and drug release kinetics of the new coil. Hereafter, a preclinical ocular pharmacokinetic study (using drug-loaded coils) in rabbits and a human comfort trial (using non-loaded coils) will be initiated.

[REDACTED]

After succesful completion of the studies, human clinical trials will be performed to evaluate the advantages of the coils in term of effectiveness, safety and comfort as compared to conventional ocular drug delivery systems.

References

[REDACTED]

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 the project is to develop a novel drug delivery system (the ocular coil) in order to enhance the drug release profile and prolonged contact time as compared to eye drops.

Within the project, this animal study addresses three research questions:

1. [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
2. How much drug does the ocular coil deliver to the eye? The drug release, the pattern and kinetics of an ocular coil will be compared to eye drops. In addition, the kinetics of drug release will be examined. This research question will be addressed in the 'ocular pharmacokinetics study'. In this study, multiple coils will be tested so that the most optimal filled ocular coil will be used during the third study.
3. Is the drug-loaded ocular coil effective in treating inflammation? And is it more effective than eye drops? This will be investigated in the 'ocular efficacy study'.

The chance of success of this project is considered high. Preliminary results from a (small cohort) preclinical study in dogs and a human comfort trial, show that an ocular coil is well tolerated for a short period of time (24 hours in dogs) and for 2 hours in humans. In this study we expand the time period to 28 days (which equals the total period of drug treatment after cataract surgery).

Since 2006, several improvements have been made to the design of the coil, making it even more flexible (Figure 3.2.1) and with better drug-releasing properties. Furthermore, the investigators of this project are currently improving their knowledge and skills, e.g. practicing [REDACTED] and optimizing protocols using rabbit eyes from other experiments, to increase the achievability of this project.

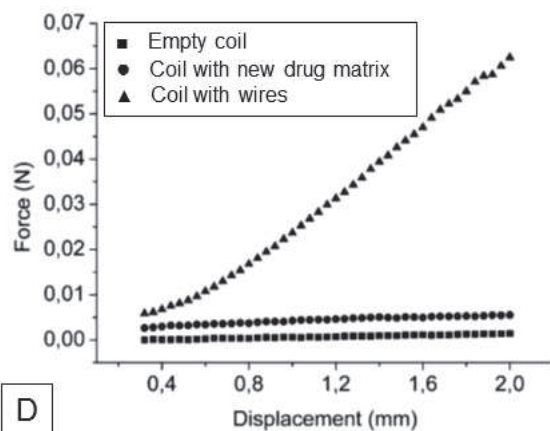


Figure 3.2.1 Increased flexibility of the ocular coil. Squares represent the empty coil, the triangles represent the ocular coil from Pijls et al., and the bulletedots are the ocular coils with the new drug delivery matrix.

References

Bar Index	Approximate Length (%)
1	95
2	90
3	98
4	30
5	92
6	97
7	65
8	99
9	99
10	60
11	99
12	99
13	99
14	99
15	10

3.3 Relevance

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

Current ocular drug delivery systems, such as eye drops and ointments, suffer from low bioavailability of the drug, a very short duration of action, initial high drug concentrations, considerable systemic absorption of the drug and difficulty to instil eye drops or ointments. In addition, patient compliance (the degree to which a patient correctly follows medical advice) is low with eye drops and ointments due to high frequency of administration. Due to these shortcomings, ocular diseases are not being treated adequately, which may lead to vision loss and eventually even to blindness.

Optimal ocular drug distribution is a significant unmet need in all major ocular diseases. The prevalence

and the importance of the diseases where this unmet need is relevant is outlined here.

In 2011, cataract surgery with implantation of an intraocular lens (IOL) was performed around 3 M times in western Europe. It is estimated that by 2020, globally 32 M cataract operations will be performed (vs. 12 M in 2000). Complications of cataract surgery which lead to vision loss are infection (0.1%), macular edema (5-20%), and posterior capsule opacification (up to 20%). [REDACTED]

Uveitis (inflammation of the part of the eye called the uvea) is the fifth most common cause of vision loss in the developed world accounting up to 24% of legal blindness. The incidence of the disease is 52.4/100.000 in the developed world, up to three or four times higher in the third world. The highest incidence of the disease is in the working age population, but all age groups can be affected. Up to 30% of uveitis is associated with a systemic disease. Complications of uveitis include macular oedema, scarring of the retina, cataract and glaucoma. Treatment of uveitis focuses on reducing inflammation and relieving pain via eye drops or ointments [REDACTED] eye drops, which could be replaced by the [REDACTED] coil.

The [REDACTED] coil serves as proof-of-concept. Further studies can be performed for other diseases, using other types of drugs (such as pressure-lowering drugs, anti-angionetic drugs or antibiotics) thereby increasing its relevance and market potential.

Glaucoma is the leading cause of preventable blindness. The prevalence of glaucoma in Europe is 2% and in 2010 there were over 12 M glaucoma patients, of whom 1.7 M became blind. The number of glaucoma patients will increase to 14 M in 2020. Currently, in the US, eye drops are often the first choice for treating patients. Glaucoma eyedrops can significantly reduce the risk that high eye pressure will progress to glaucoma, only if taken on a regular and consistent basis. An ocular coil loaded with pressure-lowering drugs may improve the outcome of many patients, since compliance towards the drugs is guaranteed.

The incidence in Europe for age related macular degeneration (AMD) is estimated to be 1.2 M and for diabetic retinopathy (DRP) 1.5 M (prevalence 9 M and 15 M, respectively). The prevalence of AMD is expected to rise to 10.7 M in 2016. In both diseases, the macula or retina is damaged leading to vision loss and blindness. Treatment includes frequent injections of anti-angiogenic drugs in the eye and around the eye in order to reduce abnormal blood vessel growth. The risks associated with intraocular injections are pain, bleeding, cataract, infections and damage to the eye. An ocular coil (loaded with anti-angiogenic drugs) may overcome these risks and, as such, improve the current therapies.

Around 50% of the European population suffers from refractive errors which is treated by (soft) contact lens (SCL) wear in 4 to 14% of the European population. Contact lens wearers may develop microbial keratitis (MK). The incidence of SCL-related MK varies from 4 to 25 per 10.000 wearers. Bacterial

keratitis is usually treated with antibiotic eye drops. If bacterial keratitis is caught and treated early, vision may be preserved. However in severe cases, or if the infection affects the center of the cornea, decreased vision or blindness may result. An ocular coil (loaded with antibiotics) could be used as a treatment for keratitis.

To conclude, a drug-loaded ocular coil can have a huge positive impact on the way drugs are delivered to the eye in multiple diseases thanks to higher patient compliance and better drug absorption.

Besides the ocular coil, also the optimalization of [REDACTED] could have a large impact in the field. Since it is difficult for ophthalmologists to draw a conclusion about the efficacy of drugs and patient compliance, it would be a huge advantage when quantities of drugs can be localized and an ophthalmologist can say whether the patient is compliant to his or her therapy or whether the drug works or not. With [REDACTED] this seems possible, although not much research has been conducted in this field.

3.4 Research strategy

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

Overall design of the research project

This research project aims at developing a new medical device. It includes the whole developmental cascade, going from manufacturing to *in vitro*, preclinical (*in vivo*) and finally to clinical (human) trials.

- I. Design and manufacturing of drug-loaded ocular coils
- II. *In vitro* tests to examine the coil's physical properties and drug release pattern.
- III. *In vivo* animal study to evaluate the ocular pharmacokinetics of a drug-loaded ocular coil and make the most optimal coil for drug delivery.
- IV. *In vivo* animal study to evaluate the therapeutic efficacy of the drug-loaded ocular coil in an inflammation model.
- V. Human trial to assess the safety and tolerability of the ocular coil in healthy volunteers.
- VI. Human trial to investigate the efficacy of the ocular coil in patients.

The current proposal covers the two *in vivo* animal studies (III and IV). In addition to these two studies, we want to evaluate the feasibility of a new drug-detection technique ([REDACTED]) which has been developed by our group. This proof-of-concept study may offer the possibility to perform animal studies in a more non-invasive way.

Animals

All animal studies will be done in rabbits. The rabbit's eye is ideally suited for ophthalmic research for several reasons. Because the rabbit eye is relatively large, it has proved useful for the assessment of both new technologies as well as ophthalmic surgical procedures (Gwon 2008). The ocular anatomy of the rabbit (such as the cornea, aqueous humor composition and musculature) is very similar to that in human, when compared to other rodents. (Gwon 2008, Thakur 2011).

Table 3.4.1 Ocular sizes of human, rat and rabbit.

	Axial Length (mm)	Corneal Thickness (mm)	Anterior Chamber Depth (mm)	Lens Thickness (mm)	Vitreous Chamber Depth (mm)	References
HUMAN	23.92	0.55	3.05	4.0	16.32	A Photon Accurate Model of the Human Eye, Deering, ACM Transactions on Graphics, 2005
RABBIT	18.1	0.4	2.9	7.9	6.2	A Schematic Eye for the Rabbit, HUGHES, Vision Research, 1972
RAT	5.98	0.25	0.87	3.87	1.51	A Revision of the Rat Schematic Eye, MASSOF and CHANG, Vision Research, 1972

■■■■■ proof-of-concept study

One group of animals will be used for the ■■■■■ proof-of-concept study (Table 1). Animals will receive ■■■■■ eye drops in one of their eyes for four weeks. Both eyes will be investigated with the ■■■■■. After each ■■■■■ measurement, aqueous humor of the treated eyes will be sampled and analysed by ■■■■■ in order to correlate the results of the ■■■■■ measurement to the ■■■■■ results. In addition, the safety of the ■■■■■ technique will be evaluated in the untreated eyes by ophthalmic examinations. In the end, the rabbits will be sacrificed and the eyes will be enucleated and further investigated *ex vivo*.

Study	Animal group	Intervention
■■■■■ proof-of-concept study	1	■■■■■ eye drops (treated eyes) Saline eye drops (untreated eyes)

Table 1. Overview of different animal groups in the ■■■■■ proof-of-concept study.

Ocular pharmacokinetics study

Two groups of animals will provide us information about the pharmacokinetics of an ocular coil compared to the current golden standard, ■■■■■ containing eye drops. One of the groups will receive eye drops, while the other group will receive an ocular coil (Table 2). Blood samples will be drawn, and ophthalmic investigations (such as slit lamp and tear fluid sampling) will be done regularly. When the ■■■■■ proof-of-concept study confirms the ease of use of in vivo ■■■■■, this will be used for the detection of ■■■■■ levels in the aqueous humor (AH). When this is not possible, AH samples will be taken regularly for the analysis of the pharmacokinetics in the eye.

When the drug concentrations in the AH samples are significantly lower than those in the eye drop group, the drug matrix in the ocular coil will be re-evaluated and a new group of rabbits will receive the ocular coil. The data from the control group will be re-used to compare to the new group. Because of this, the same experiment is not done twice.

Study	Animal group	Intervention
Ocular	2	■■■■■-loaded coil

pharmacokinetics study	3	██████ eye drops
------------------------	---	------------------

Table 2. Overview of different animal groups in the ocular pharmacokinetic study.

Ocular efficacy study

Within this study an inflammation response will be induced in one of the eyes of the rabbits in group 4, 5 and 6. Afterwards, the eye will be treated with a ████████ loaded ocular coil (group 4), ████████ eye drops (group 5) or will remain untreated (group 6) (Table 3). Inflammation bio-markers (e.g. cytokines, immunoglobulins and proteins) will be measured in the tears, blood and aqueous humor. Ophthalmic examinations will be performed to grade inflammation. After four weeks the rabbits will be sacrificed and the ocular tissue will be used *ex vivo* to investigate the morphology.

Study	Animal group	Intervention
Ocular efficacy study	4	██████-loaded coil
	5	██████ eye drops
	6	Untreated control

Table 3. Overview of different animal groups in the ocular efficacy study.

Regulatory requirements

Concerning future drug approvals, animal experiments are required to demonstrate its pharmacokinetics and efficacy *in vivo*.

References

- Gwon, A. (2008) The rabbit in cataract/IOL surgery. In: Tsonis, P.A. (ed.) Animal models in eye research. Elsevier, pp. 184-204.
- Thakur RR and Kashiv M, Modern Delivery Systems for Ocular Drug Formulations: A comparative Overview W.R.T Conventional Dosage Form, IJPBR 2011, 2 (1) 8-18.

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.

██████ proof-of-concept study

This study will provide insight whether ████████ can be used to quantitatively detect ████████ *in vivo*. The results from ████████ will be correlated to ████████ analysed aqueous humor samples. In addition, the safety of the ████████ technique will be examined *in vivo* and *ex vivo* in a period of four weeks.

██████ proof-of-concept study	Animal group 1 (treated eye)	Animal group 1 (untreated eye)
Insertion of ████████ eye drops	X	
██████	X	X
Aqueous humor sampling	X	

Cell sampling	X	X
Ophthalmic examinations	X	X
Sacrifice for <i>ex vivo</i> analysis	X	X

Table 4. Outline of the methods used in the [REDACTED] proof-of-concept study

Ocular pharmacokinetics study

The pharmacokinetic profile of a drug-loaded ocular coil will be examined for four weeks (Table 4). The coil will be inserted in the lower conjunctival fornix. Tear fluid will be sampled to measure the local concentration of [REDACTED]. Aqueous humor and blood will be sampled to determine the systemic and local concentration of [REDACTED]. The use of [REDACTED] to determine the level of [REDACTED] *in vivo* will depend on the preceding [REDACTED] proof-of-concept study. Whenever [REDACTED] is not feasible, aqueous humor samples will be taken and analysed by [REDACTED]. After four weeks, the animals will be sacrificed and the concentration of [REDACTED] in the different layers of the eyes will be further investigated *ex vivo*. When the drug concentrations in the eye are significantly lower in the ocular coil group compared to the eye drop group, the design of the drug matrix from the ocular coil will be re-evaluated and this study will be repeated with only one group and a new ocular coil. These animals will then be compared to the eye drop group (group 3).

Ocular pharmacokinetics study	Animal group 2	Animal group 3
Placement of [REDACTED]-loaded coil	X	
Installation of [REDACTED] eye drops		X
Tear fluid sampling	X	X
Blood sampling	X	X
[REDACTED]	X	X
Sacrifice for <i>ex vivo</i> analysis	X	X

Table 5. Outline of the methods used in the ocular pharmacokinetics study.

Ocular efficacy study

An immune response will be induced by a puncture in the cornea of the eyes of animal groups 4, 5 and 6 under anesthesia (also topical anesthetics will be applied during this procedure). Afterwards, a [REDACTED] loaded ocular coil will be placed in the conjunctival fornix in group 4. Group 5 will receive [REDACTED] eye drops while group 6 will be untreated (Table 6). All rabbits will be examined by ophthalmic examinations (e.g. slit lamp examination, tonoscopy, OCT). Inflammation biomarkers will be investigated in tear, aqueous humor and blood samples and by *ex vivo* histologic analysis.

Ocular efficacy study	Animal group 4	Animal group 5	Animal group 6
Induction of inflammation	X	X	X
Placement of [REDACTED]-loaded coil	X		
Installation of [REDACTED] eye drops		X	
Tear fluid sampling	X	X	X

Aqueous humor sampling	X	X	X
Blood sampling	X	X	X
Cell sampling	X	X	X
Ophthalmic examinations	X	X	X
Sacrifice for ex vivo analysis	X	X	X

Table 6. Outline of the methods used in the ocular efficacy study.

Methods

Placement of [REDACTED] coil

The ocular coil will be inserted in the lower conjunctival fornix on day 0. When loss of the coil is observed, the ocular coil will gently be stitched onto the conjunctiva under sedation.

Installation of [REDACTED] eye drops

The eye drop will be instilled in the conjunctival sac three times a day.

Induction of inflammation

Since rabbits develop a strong immune response towards ocular damage, a small incision (or puncture) in the ocular tissue can lead to a reaction similar to that in humans after anterior chamber surgery (Bito, 1984). Therefore, we will puncture the cornea to induce an immune response. This can unfortunately not be done in a less severe method.

Fluids and cell sampling

Samples of blood will be taken to investigate the presence of inflammatory markers (ocular efficacy study, animal groups 4, 5 and 6). Epithelial cells will be sampled to examine epithelial damage ([REDACTED] study, animal group 1). Samples of the tears, aqueous humor and blood will be withdrawn and analysed for its ketorolac content ([REDACTED] study and ocular pharmacokinetics study, all groups).

The following samples will be taken of the rabbits, while they are alive:

- Blood
- Epithelial cells
- Tear fluid
- Aqueous humor

[REDACTED]

The drug concentration level of [REDACTED] will be measured by [REDACTED], a technique based on the detection of [REDACTED]. [REDACTED] is non-invasive but will be performed under general anesthesia in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation.

Ophthalmic examinations

Inflammation (ocular efficacy study) will be assessed by several ophthalmic examinations (for example slit-lamp microscopy, tonometry and optical coherence tomography) (animal groups 4, 5 and 6). All ophthalmic examinations are non-invasive but will be performed under general anesthesia in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation.

- With the aid of slit-lamp microscopy, the ocular status can be determined. Slit-lamp findings may be graded based on the methods of McDonald and Shadduck (Gwon 2008, McDonald and Shadduck 1977).
- Tonometry is the measurement of the intraocular pressure (IOP). A tonometer can measure the counter pressure when the probe gently touches the cornea. Intraocular inflammation is the most common cause of ocular hypotension.
- Optical coherence tomography (OCT) is a medical imaging technique to take cross-section pictures of the eye. OCT can be used to detect inflammation, irritation or other ocular changes.

Sacrifice for ex vivo analysis

In the end, the rabbits will be euthanized and the eyes will be enucleated for further investigation of [REDACTED] content (ocular pharmacokinetics study) or inflammation (ocular efficacy study).

References

- Bito, L. Z. (1984). "Species differences in the responses of the eye to irritation and trauma: a hypothesis of divergence in ocular defense mechanisms, and the choice of experimental animals for eye research." *Exp Eye Res* **39**(6): 807-829.
- Cheung, Durrani and Murray, The safety of anterior chamber paracentesis in patients with uveitis, *Br J Ophthalmol*. 2004 Apr; 88(4): 582-583.
- Van der Lelij A, Rothova A. Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure? *Br J Ophthalmol* 1997;81:976-9.
- Trivedi D, Denniston A and Murray P, Safety profile of anterior chamber paracentesis performed at the slit lamp, *Clinical and Experimental Ophthalmology* 2011; 39: 725-728
- Belen L, Violette K, Brackett J and Whitlock A, Validation of the Anterior Chamber Paracentesis Model for the Screening of Novel Ophthalmic Anti-Inflammatory Drug, *IVOS* 2013, Vol.54, 110
- Small D, Hevy J and Tang-Liu D. Comparison of tear sampling techniques for pharmacokinetic analysis: Ofloxacin concentration in rabbit tears after sampling with Schirmer tear strips, capillary tubes, or surgical sponges, J., *Ocular Pharmacology and therapeutics*, 2000, Vol. 16, (5), 439-446.
- Posa A, Brauer L, Schicht M, Garreis F, Beileke S and Paulsen F. Schirmer strip vs. capillary tube method: Non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid, *Annals of Anatomy*, Vol.195, (2),137-142
- Diehl K, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal J and van de Vorstenbosch C, A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes, *J. Appl. Toxicol*. 2001, 21, 15-23.

-NC3R guidelines <https://www.nc3rs.org.uk/general-principles>

Singh R, Joseph A, Umapathy T, Tint N and Dua H, Impression cytology of the ocular surface, Br J Ophthalmol 2005;89:1655–1659.

-Dogan A, Astvatsatourov A, Deserno TM, Bock F, Shah-Hosseini K, Michels A and Mösges R, Objectifying the Conjunctival Provocation Test: Photography-Based Rating and Digital Analysis, Int Arch Allergy Immunol 2014;163:59–68.

-Gwon, A. (2008) The rabbit in cataract/IOL surgery. In: Tsonis, P.A. (ed.) Animal models in eye research. Elsevier, pp. 184-204.

-McDonald TO, Shadduck JA (1977). Eye irritation. In: Marzulli, Maibach (eds), Advances in Modern Toxicology, Volume 4: Dermatotoxicology and Pharmacology. Hemisphere, Washington pp. 162 – 166.

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 three animal studies are in line with each other.

The first study (■■■■■ proof-of-concept study) will show the feasibility of using ■■■■■ as non-invasive alternative to measure drug concentrations *in vivo*. When successful, this technique will be implemented in the second study (ocular pharmacokinetics study). If not, aqueous humor sampling will be used instead.

The second study (ocular pharmacokinetics study) will demonstrate the drug release from an ocular coil. If the drug release in the ocular is stable, does not result in ocular toxicity and is not significantly lower than the drug concentration in the eye drop group, the third study (ocular efficacy study) will start to demonstrate the efficacy of the ocular coil in treating inflammation. Ocular drug levels, although lower (but not significantly lower), but given constantly, seem more effective than fluctuating drug levels. (Brandt, (2016))

-Brandt, J.D., et al., When successful, this technique will be implemented in the second study (ocular pharmacokinetics study). J. Ophthalmology, 2016 p.1-10

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	■■■■■ proof-of-concept study
2	Ocular pharmacokinetics study
3	Ocular efficacy study
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)

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10700
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Maastricht University
- | 1.3 List the serial number and type of animal procedure. | Serial number | Type of animal procedure |
|--|---------------|--------------------------|
| | 1 | proof-of-concept study |
- 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.

We will perform an *in vivo* proof-of-concept study evaluating whether [REDACTED] can be used as a non-invasive method to quantify drug concentrations in the anterior chamber of the eye. Simultaneously, we will evaluate the safety of the [REDACTED] technique. The primary outcome of this study is detection of the drug concentration. The secondary outcome of this study is safety of the technique.

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

We will perform an *in vivo* proof-of-concept study evaluating whether [REDACTED] can be used as a non-invasive method to quantify drug concentrations in the anterior chamber of the eye in a period of four weeks. Simultaneously, we will evaluate the safety of the [REDACTED] technique. [REDACTED] is a non-invasive technique and the [REDACTED]

to be dangerous for the eye. In addition, [REDACTED] prevent damage to the eye. An outline of the [REDACTED] proof-of-concept study is presented in Table 1 and 2.

Study	Animal group	Intervention
[REDACTED] proof-of-concept study	1	[REDACTED] eye drops (treated eyes) [REDACTED] eye drops (untreated eyes)

Table 1. Overview of different animal groups in the [REDACTED] proof-of-concept study.

The rabbits of animal group 1 will be treated with [REDACTED] eye drops (which are on the market e.g. [REDACTED] in one eye according to the human drug regime as applied in the clinic (3 times a day one drop per eye) for four weeks. After dropping one of the eyes, the treated eye will be measured with [REDACTED] to quantify the drug levels in the anterior chamber. A gel (also used in the clinic for humans to mirror the angle from glaucoma patients) will be applied to cover the surface of the eye for an optimal refractive index, and to protect the corneal surface from possible damage of the [REDACTED]. The measurements will take up to ~10 minutes per eye. After each [REDACTED], a sample of the aqueous humor of the treated eye will be taken and the drug level will be quantified by [REDACTED]. After the first week some of the rabbits will be sacrificed, again after the second, third and fourth week, to investigate drug levels in the ocular tissue.

The untreated eyes of the rabbits of animal group 1 will be used to investigate the safety of the [REDACTED] technique. After each [REDACTED], a sample of the epithelial cells will be taken and the eye will be investigated by ophthalmic examinations.

[REDACTED] proof-of-concept study	Animal group 1 (treated eye)	Animal group 1 (control eye)
Insertion of [REDACTED]	X	
[REDACTED]	X	X
Aqueous humor sampling	X	
Cell sampling	X	X
Ophthalmic examinations	X	X
Sacrifice for <i>ex vivo</i> analysis	X	X

Table 2. Outline of the methods used in the [REDACTED] proof-of-concept study

Installation of eye drops

The eye drop will be instilled in the conjunctival sac. The eye drops will contain [REDACTED]. Instilment of the eye drops can be done without anesthesia by gentle restraining.

Fluids and cell sampling

Epithelial cells will be sampled to examine epithelial damage (████████ safety study, animal group 1, untreated eyes). These measures will be performed under general anesthesia or hypnosis (sedation) in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation.

- Aqueous humor will be collected by inserting a needle into the anterior chamber. The safety of this sampling technique has been described in the literature (Van der Lelij 1997, Cheung 2004, Trivedi 2011). The aqueous humor will be analyzed in order to calculate the ocular absorption of ██████████
- Epithelial cells from the ocular surface will be collected by impression cytology in a non-invasive way (Singh 2005). Cells will be further subjected to (immune-) cytological analysis.

████████████████████

The drug concentration level of ██████████ ██████████ proof-of-concept study, animal group 1, treated eyes) will be measured by ██████████, a technique based on the detection of ██████████ ██████████ is non-invasive but will be performed under general anesthesia or hypnosis (sedation) in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation.

Ophthalmic examinations

Inflammation (████████ safety study, animal group 1, untreated eyes) will be assessed by several ophthalmic examinations (for example slit-lamp microscopy, tonometry and optical coherence tomography) (animal group 1, untreated eyes). All ophthalmic examinations are non-invasive but will be performed under general anesthesia or hypnosis (sedation) in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation.

- With slit-lamp microscopy, the ocular status can be determined. Slit-lamp findings may be graded based on the methods of McDonald and Shadduck (Gwon 2008, McDonald and Shadduck 1977).
- Tonometry is the measurement of the intraocular pressure (IOP). A tonometer can measure the counter pressure when the probe gently touches the cornea. Intraocular inflammation is the most common cause of ocular hypotension.
- Optical coherence tomography (OCT) is a medical imaging technique to take cross-section pictures of the eye. OCT can be used to detect inflammation, irritation or other ocular changes.

Ex vivo examination

In the end, the rabbits will be euthanized and the untreated eyes will be enucleated for further investigation of potential technique-induced inflammation (safety of ██████████ technique).

References

-Cheung, C. M., O. M. Durrani and P. I. Murray (2004). "The safety of anterior chamber paracentesis in

patients with uveitis." Br J Ophthalmol 88(4): 582-583.

-Gwon, A. (2008) The rabbit in cataract/IOL surgery. In: Tsonis, P.A. (ed.) Animal models in eye research. Elsevier, pp. 184-204.

-McDonald, T.O., Shadduck, J.A. Eye irritation. *Adv Mod Toxicol*. 1977;4:139-191.

-Singh, R., A. Joseph, T. Umapathy, N. L. Tint and H. S. Dua (2005). "Impression cytology of the ocular surface." Br J Ophthalmol 89(12): 1655-1659.

-Trivedi, D., A. K. Denniston and P. I. Murray (2011). "Safety profile of anterior chamber paracentesis performed at the slit lamp." Clin Experiment Ophthalmol 39(8): 725-728.

-Van der Lelij, A. and A. Rothova (1997). "Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure?" Br J Ophthalmol 81(11): 976-979.

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

The 'resource equation method' (Mead 1988) is used to calculate the sample size for this experiment.

In this ██████ proof-of-concept study, one group of animals (T=1) will be used. Because of the complexity of the technique, we will use a sample size of 20 animals per group (N=20).

$$E = 20 - 1 = 19$$

This results in an E of 19, which is within the acceptable limit and hence can be considered as adequate sample size. Additionally, to correct for drop-outs, we include rabbits (10%) to the calculated number of rabbits. **This results into total 23 animals.**

The number of animals is calculated as one group, since the intervention and treatments in all rabbits are similar. The rabbits will be sacrificed during four weeks in smaller groups to investigate the drug levels in the tissue during treatment and to observe any damage of the treatment over time. Therefore we will use (as calculated above) 6 rabbits per week incl. drop outs.

References:

-Mead, R. (1988). The design of experiments : statistical principles for practical applications. Cambridge England ; New York, Cambridge University Press.

-Charan, J., & Kantharia, N. D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303-306. <http://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>

B. The animals

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

The rabbit and its eye are ideally suited for ophthalmic research for several reasons. The animal is docile, easy to handle, comes in various sizes depending on the breed thus providing a range of sizes to work with. Because the rabbit eye is relatively large (Table B1) compared to e.g. the rat, it has proved useful for the assessment of both new technologies as well as ophthalmic surgical procedures (Gwon 2008). The

ocular anatomy of the rabbit (e.g. cornea, aqueous humor composition and musculature; the anterior part) is very similar to that in humans (Gwon 2008).

Table B1. Ocular sizes in several species.

	Axial Length (mm)	Corneal Thickness (mm)	Anterior Chamber Depth (mm)	Lens Thickness (mm)	Vitreous Chamber Depth (mm)	References
HUMAN	23.92	0.55	3.05	4.0	16.32	A Photon Accurate Model of the Human Eye, Deering, ACM Transactions on Graphics, 2005
RABBIT	18.1	0.4	2.9	7.9	6.2	A Schematic Eye for the Rabbit, HUGHES, Vision Research, 1972
RAT	5.98	0.25	0.87	3.87	1.51	A Revision of the Rat Schematic Eye, MASSOF and CHANG, Vision Research, 1972

The animals will be obtained from certified suppliers.

For this study we expect to use maximum 24 rabbits (incl. drop out) as shown in the statistical calculation provided by point A. Furthermore, for this study we will use adult rabbits.

References:

-Gwon, A. (2008) The rabbit in cataract/IOL surgery. In: Tsonis, P.A. (ed.) Animal models in eye research. Elsevier, pp. 184-204.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

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

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

☐ No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

The feasibility of the [REDACTED] for the non-invasive measurement of drug levels in the eye requires the use of living animals.

Reduction

The efficacy of [REDACTED] to measure drug levels will be tested extensively *in vitro* and *ex vivo* prior to this animal study. Based on these results, the technique will be optimized and prepared for *in vivo* use. These *in vitro* and *ex vivo* pre-screenings will reduced the total amount of animals which are needed for this [REDACTED] proof-of-concept study.

The safety of the [REDACTED] will be evaluated in the untreated eye of the same animals.

The total number of animals will be kept as low as possible, while maintaining sufficient data for statistical analysis.

Refinement

The main advantages to using rabbits as experimental models in eye research are the large size of the rabbit eye relative to its body and the several years' worth of accumulated data on the anatomy and physiology of the rabbit eye and its similarity to the human eye (Gwon 2008). Added to that, the fact that rabbits are easy to handle and breed and the most economical of the larger breed models, makes them ideal for ophthalmic research (Gwon 2008).

Most of the animal procedures are non-invasive and will be performed under hypnosis (sedation) or general anaesthesia, in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation. Furthermore, the investigators involved in this project are currently improving their practical skills using sacrificed rabbits from other experiments.

References

-Gwon, A. (2008) The rabbit in cataract/IOL surgery. In: Tsonis, P.A. (ed.) Animal models in eye research. Elsevier, pp. 184-204.

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

Minimizing animal suffering

The ophthalmic examinations will be performed under general anaesthesia or hypnosis (sedation).

Whenever moderate discomfort (according to facial expression and body language, Hampshire et al, 2015) with severe ocular damage shall be observed, the coil will be removed and the rabbit will be euthanized.

Prior to the start of this study, animals will have time to acclimatize after arrival at the CPV, according to the guidelines of the CPV. During this time, daily human contact will be initiated in order to reduce stress during handling. Handling will be performed according to appropriate guidelines.

References

-V. Hampshire and S. Robertson Using the facial grimace scale to evaluate rabbit wellness in post-procedural monitoring 2015 Jul;44(7):259-60. doi: 10.1038/labani.806.

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.

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.

General anaesthesia or hypnosis (sedation) will be used during transport and during the measurements.

In addition, is an which will reduce pain and prevent inflammation. Additional topical anaesthetics will be supplied before an ocular puncture.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

The safety of the technique will be investigated in this study. However, the occurrence of

inflammation and/or irritation is expected to be low. Furthermore, the coil shall be loaded with an [REDACTED] which will prevent the occurrence of inflammation.

Adverse effects related to [REDACTED] (for example transient stinging and burning on installation, hypersensitivity, headache and superficial keratitis) may occur. [REDACTED]

Explain why these effects may emerge.

These effects could emerge because of side effect of the drug.

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

During the procedures, the animals will be inspected on a daily basis.

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.

Whenever moderate discomfort (according to facial expression and body language, Hampshire et al, 2015) due to ocular damage is observed, the animals will be sacrificed for histological evaluation. Moderate discomfort is defined as ocular or conjunctival inflammation and irritation, which can not get controlled anymore (red conjunctiva with bloodshot eyes).

Indicate the likely incidence.

The occurrence of these events is expected to be low (< 10%).

K. Classification of severity of procedures

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

- All non-invasive procedures are considered 'mild'.
- The sampling methods are considered 'mild' (individual).

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.

At the end of the experiment, the eyes will be enucleated for further *ex vivo* evaluation.

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

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

☒ Yes



Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 10700
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Maastricht University
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|-------------------------------|
| 2 | Ocular pharmacokinetics study |

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.

We will perform a comparative *in vivo* animal cohort study evaluating the ocular pharmacokinetics of [REDACTED] administered via an ocular coil versus eye drops. The primary outcome of the study is drug absorption into the eye by an ocular coil compared to eye drops.

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

We will perform a comparative *in vivo* animal cohort study evaluating the pharmacokinetic profile of [REDACTED] administered via an ocular coil versus eye drops. An outline of the ocular pharmacokinetics study is presented in Table 1 and 2.

When the drug delivery matrix in the ocular coil does not deliver drugs as efficient to the eye as eye drops, the ocular coil will be revised and the study will be redone with group 2.

Study	Animal group	Intervention
Ocular pharmacokinetics study	2	[REDACTED]-loaded coil
	3	[REDACTED] eye drops

Table 1. Overview of different animals groups for the ocular pharmacokinetics study.

Ocular pharmacokinetics study	Animal group 2	Animal group 3
-------------------------------	----------------	----------------

Placement of █████-loaded coil	X	
Installation of eye drops		X
Tear fluid sampling	X	X
Blood sampling	X	X
█████	X	X
Sacrifice for ex vivo analysis	X	X

Table 2. Outline of the ocular pharmacokinetics study.

Placement of █████-loaded coil

One eye of the animal group 2 will receive an ocular coil in the lower conjunctival fornix. The ocular coil will be inserted on day 0 and will remain in the eye for four weeks. The ocular coil is filled with █████ (group 2). Since accurate handling of the coil is necessary and proper insertion of the coil is crucial for the progress of the experiment, animals will be anesthetized to allow precise ocular coil insertion using a forceps and subsequent microscopic analysis. After insertion, the presence of the coil will be checked frequently visually and/or by touch, as far as possible. When the coil is lost, a new coil will be placed in the conjunctiva of the rabbit. This coil will be gently stitched onto the conjunctiva by an experienced ocular surgeon. This is less invasive compared to removal of the nictitating membrane, which is the alternative. Therefore we suggest using a minimal invasive stitch to attach the ocular coil to the conjunctiva.

When the average drug levels in the eye from group 2 are significantly lower compared to group 3, the design of the drug delivery matrix will be revised and the experiment will be redone with only group 2 (which will be compared with the data from the first group 3).

This since drug transport through the eye (*in vivo*) is more complex than *in vitro* drug transport. The eye is designed to keep foreign substances out of the tissue. Therefore, it is difficult to penetrate enough drugs. (Huges et al., 2005)

Instillation of eye drops

One eye per animal in group 3 will be instilled with one drop in the conjunctival sac. The eye drops will contain █████. Installation of the eye drops can be done without anesthesia by gently restraining.

Fluids and cell sampling

Samples of the tears, aqueous humor and blood will be withdrawn and analyzed for its █████ content. Sampling can be done without anesthesia but will be performed during anesthesia or hypnosis because the rabbit needs to be anaesthetized or hypnotized for the ophthalmic examinations (see lower part).

- Tear fluid will be collected from the cul-de-sac via a Schirmer strip or capillary tube (Small 2000, Posa 2013). The tear fluid will be analyzed in order to calculate the ocular absorption of █████.
- Aqueous humor will be collected by inserting a needle with an attached syringe into the anterior chamber. The safety of this sampling technique has been described in the literature (Van der Lelij 1997, Cheung 2004, Trivedi 2011). The aqueous humor will be analyzed in order to calculate the ocular absorption of █████. This will only been done when █████ (appendix 1) does not work. Else the drug concentration will be measured with █████.
- Blood sampling will be performed. Blood will be analyzed in order to calculate the systemic absorption of ketorolac (ocular pharmacokinetics study).

█████
█████
█████
█████
█████
█████
█████

Ex vivo examination

After four weeks, the rabbits will be euthanized and the eyes will be enucleated for further investigation of the pharmacokinetics.

References

- Cheung, Durrani and Murray, The safety of anterior chamber paracentesis in patients with uveitis, Br J Ophthalmol. 2004 Apr; 88(4): 582–583.
- Van der Lelij A, Rothova A. Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure? Br J Ophthalmol 1997;81:976–9.
- Trivedi D, Denniston A and Murray P, Safety profile of anterior chamber paracentesis performed at the slit lamp, Clinical and Experimental Ophthalmology 2011; 39: 725–728
- Belen L, Violette K, Brackett J and Whitlock A, Validation of the Anterior Chamber Paracentesis Model for the Screening of Novel Ophthalmic Anti-Inflammatory Drug, IVOS 2013, Vol.54, 110
- Small D, Hevy J and Tang-Liu D. Comparison of tear sampling techniques for pharmacokinetic analysis: Ofloxacin concentration in rabbit tears after sampling with Schirmer tear strips, capillary tubes, or surgical sponges, J., Ocular Pharmacology and therapeutiics, 2000, Vol. 16, (5), 439-446.
- Posa A, Brauer L, Schicht M, Garreis F, Beileke S and Paulsen F. Schirmer strip vs. capillary tube method: Non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid, Annals of Anatomy, Vol.195, (2),137–142
- Diehl K, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal J and van de Vorstenbosch C, A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes, J. Appl. Toxicol. 2001, 21, 15–23.
- NCR3 guidelines, <https://www.nc3rs.org.uk/blood-sample-volumes>
- Thakur RR and Kashiv M, Modern Delivery Systems for Ocular Drug Formulations: A comparative Overview W.R.T Conventional Dosage Form, IJPBR 2011, 2 (1) 8-18.

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

The 'resource equation method' (Mead 1988) is used to calculate the sample size for this experiment.

We calculated that a group size of 8 will adequate for our study, with 10% drop out. Therefore, 16 rabbits will be used with 2 spare rabbits, which brings it to 18 rabbits total.

When the results in the first trial are significantly lower compared to the eye drop group, the experiment will be repeated with 9 rabbits (incl. 10% drop outs), after optimization of the ocular coil drug delivery matrix *in vitro*.

References:

- Mead, R. (1988). The design of experiments : statistical principles for practical applications. Cambridge England ; New York, Cambridge University Press.
- Charan, J., & Kantharia, N. D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303–306. <http://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>

B. The animals

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

The rabbit and its eye are ideally suited for ophthalmic research for several reasons. The animal is docile, easy to handle, comes in various sizes depending on the breed thus providing a range of sizes to work with. Because the rabbit eye is relatively large (Table 1B), it has proved useful for the assessment of both new technologies as well as ophthalmic surgical procedures (Gwon 2008). The ocular anatomy of the rabbit (e.g. cornea, aqueous humor composition and musculature; the anterior part of the eye) is very similar to that in human (Gwon 2008, Thakur 2011).

Table B1. Ocular sizes in several species.

	Axial Length (mm)	Corneal Thickness (mm)	Anterior Chamber Depth (mm)	Lens Thickness (mm)	Vitreous Chamber Depth (mm)	References
HUMAN	23.92	0.55	3.05	4.0	16.32	A Photon Accurate Model of the Human Eye, Deering, ACM

						Transactions on Graphics, 2005
RABBIT	18.1	0.4	2.9	7.9	6.2	A Schematic Eye for the Rabbit, HUGHES, Vision Research, 1972
RAT	5.98	0.25	0.87	3.87	1.51	A Revision of the Rat Schematic Eye, MASSOF and CHANG, Vision Research, 1972

The animals will be obtained from certified suppliers.

Young rabbits tend to have a greater postoperative inflammatory response, which is greater than that observed in adult human eyes and characterized by a heavy fibrin reaction (Gwon 2008). As such, adult rabbits will be used in this study.

We estimate to use approximately 9 animals per animal group (including the drop-out), with a maximum of forty-five (maximum four ocular coil revising's) animals.

We will not use the contralateral eyes, so no animals will experience loss of vision during the course of the study, as described in the ARVO guidelines for animal use during visual and ophthalmic experiments.

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

Evaluation of the ocular pharmacokinetics of drug delivery requires the use of living animals. *In vitro* systems are not sufficient in evaluating the ocular pharmacokinetics of a new drug delivery device. Furthermore, an ocular pharmacokinetics study in animals is required for future drug approval (European Medicine Agency).

Reduction

The level of drug release from the ocular coil will be tested extensively *in vitro* prior to this animal study. Based on the *in vitro* results, a selection of the best prototype(s) will be made. These coil(s) will be further subjected to the ocular pharmacokinetics study. This *in vitro* pre-screening reduces the total amount of animals which are needed for this ocular pharmacokinetics study.

Refinement

The main advantages to using rabbits as experimental models in eye research are the large size of the rabbit eye relative to its body and the several years' worth of accumulated data on the anatomy and physiology of the rabbit eye and its similarity to the human eye (Gwon 2008, Thakur 2011). Added to that, the fact that rabbits are easy to handle and breed and the most economical of the larger breed models, makes them ideal for ophthalmic research (Gwon 2008).

Most of the animal procedures are non-invasive and will be performed under hypnosis or general anesthesia, in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation. Furthermore, the investigators involved in this project are currently improving their

practical skills using sacrificed rabbits.

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

Minimizing animal suffering

The ophthalmic examinations will be performed under general anaesthesia or hypnosis.

Whenever moderate discomfort (according to facial expression and body language, Hampshire et al, 2015) due to ocular damage (because of the ocular coil or due to one of the interventions) is observed, the animals will be sacrificed for histological evaluation.

Moderate discomfort is defined as ocular or conjunctival inflammation and irritation, which can not get controlled anymore (red conjunctiva with bloodshot eyes). Enucleation of the eye is the only possibility to prevent systemic inflammation.

Prior to the start of this study, animals will have time to acclimatize after arrival at the CPV. During this time, daily human contact will be initiated in order to reduce stress during handling. Handling will be performed according to appropriate guidelines.

The contralateral eye will not be used, so no animals will experience complete loss of vision during the study. This according to the ARVO and NIH guidelines for animal use in ophthalmic experiments.

References

-V. Hampshire and S. Robertson Using the facial grimace scale to evaluate rabbit wellness in post-procedural monitoring **2015** Jul;44(7):259-60. doi: 10.1038/labani.806.

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.

N.A.

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.

General anaesthesia or hypnosis will be used during sampling. In addition, [REDACTED] is an [REDACTED] which will reduce pain and prevent inflammation. For some interventions, (e.g. cornea puncture and aqueous humor sampling) also topical anaesthetic will be applied in combination with general anaesthesia.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

The occurrence of inflammation and/or irritation due to the coil is expected to be low. Furthermore, the coil shall be loaded with an [REDACTED], which will prevent the occurrence of inflammation. Adverse effects related to [REDACTED] (for example transient stinging and burning on installation, hypersensitivity, headache (in humans) and superficial keratitis) may occur but only in rare cases.

Explain why these effects may emerge.

Due to the absorption of [REDACTED]

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

During the procedures, the animals will be inspected on a daily basis. The rabbits (both groups) receive [REDACTED] which should keep them without pain.

Furthermore, the investigators are trained on rabbits, sacrificed in other experiments to assure minimal severity because of wrong handling.

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.

Whenever moderate discomfort (according to facial expression and body language, Hampshire et al, 2015) due to ocular damage is observed, the coil will be removed and the animals will be sacrificed for histological evaluation.

Moderate discomfort is defined as ocular or conjunctival inflammation and irritation, which can not get controlled anymore (red conjunctiva with bloodshot eyes).

Indicate the likely incidence.

The occurrence of these events is expected to be low (< 10%).

K. Classification of severity of procedures

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

- All non-invasive procedures are considered 'mild'
- The sampling methods are considered 'mild' (individual)
- We expect that the animals will be anesthetized/hyponosed for 10 to 15 time during a period of 4 weeks.
- All sampling methods together are considered 'moderate' (cumulative)

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.

At the end of the experiment, the eyes will be enucleated for further *ex vivo* evaluation.

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

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

☒ Yes



Appendix

Description animal procedures

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	10700	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Maastricht University	
1.3	List the serial number and type of animal procedure.	Serial number	Type of animal procedure
		3	Ocular efficacy study

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.

We will perform a comparative *in vivo* animal cohort study evaluating the ocular efficacy of [REDACTED] administered via an ocular coil versus eye drops in an inflammation model. The primary outcome of the study is prevention of ocular inflammation.

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

We will perform a comparative *in vivo* animal cohort study evaluating the ocular efficacy of [REDACTED] administered via an ocular coil versus eye drops in an inflammation model. An outline of the ocular efficacy study is presented in Table 1 and 2.

Study	Animal group	Intervention
Ocular efficacy study	4	[REDACTED]-loaded coil
	5	[REDACTED] eye drops
	6	Untreated control

Table 1. Overview of different animals groups for the ocular efficacy study.

Ocular efficacy study	Animal group 4	Animal group 5	Animal group 6
Induction of inflammation	X	X	X
Placement of █████ loaded coil	X		
Installation of █████ eye drops		X	
Tear fluid sampling	X	X	X
Aqueous humor sampling / █████ █████	X	X	X
Blood sampling	X	X	X
Cell sampling	X	X	X
Ophthalmic examinations	X	X	X
Sacrifice for ex vivo analysis	X	X	X

Table 2. Outline of the ocular efficacy study.

Induction of inflammation

Since rabbits develop a strong immune response towards ocular damage, a small incision (or puncture) in the ocular tissue can lead to a reaction similar to that in humans after anterior chamber surgery (Bito, 1984). To mimic the eventual application of the ocular coil, an incision in the cornea should be made. Due to the breach of the cornea, the immune system will be triggered to regenerate the tissue and not only the ocular epithelium. The █████ filled ocular coil (and the eye drops too, see fig. 1) should prevent any over-active immune response leading to inflammation (and scar formation). This situation creates an accurate way to investigate drug efficacy.

When we only damage the outer-layer of the cornea, the endothelial cells are not affected and the cornea recovers faster. This differs too much from a cataract surgery and results in different complications compared to a cornea puncture.



Placement of █████ coil

One eye of the animal groups 4 will receive an ocular coil in the lower conjunctival fornix. The ocular coil will be inserted on day 0. The ocular coil is filled with █████. Since accurate handling of the coil is necessary and proper insertion of the coil is crucial for the progress of the experiment, animals will be

anesthetized or hypnotized to allow precise ocular coil insertion using a forceps and subsequent microscopic analysis. After insertion, the presence of the coil will be checked frequently visually and/or by touch, as far as possible. When the coil is lost, a new ocular coil will be inserted and gently stitched onto the conjunctiva to prevent further loss.

Instillation of eye drops

One eye of the animals in group 5 will be instilled with one drop in the conjunctival sac. The eye drops will contain [REDACTED]. Installation of the eye drops can be done without anesthesia by gently restraining.

Fluids and cell sampling

Samples of the tears, aqueous humor and blood will be withdrawn and analyzed for inflammatory factors. Sampling can be done without anesthesia but will be performed during anesthesia because the rabbit needs to be anaesthetized for the ophthalmic examinations (see lower part).

- Tear fluid will be collected from the cul-de-sac via a Schirmer strip or capillary tube (Small 2000, Posa 2013). The tear fluid will be analyzed for inflammatory factors.
- Aqueous humor will be collected by inserting a needle with an attached syringe into the anterior chamber. The safety of this sampling technique has been described in the literature (Van der Lelij 1997, Cheung 2004, Trivedi 2011). The aqueous humor will be analyzed for inflammatory factors. Drug concentrations will be measured with [REDACTED] when the study in appendix 1 proves the technique is suitable and accurate enough.
- Blood sampling will be performed according to the NC3R guidelines. Blood will be analyzed for inflammatory factors.
- Epithelial cells from the ocular surface will be collected by impression cytology in a non-invasive way (Singh 2005). Cells will be further subjected to (immuno) cytological analysis and analyzed for inflammation.

Ophthalmic examinations

Inflammation will be assessed by several ophthalmic examinations (for example slit-lamp microscopy, tonometry and optical coherence tomography) (animal groups 4, 5 and 6). All ophthalmic examinations are non-invasive but will be performed under hypnosis or general anesthesia in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation.

- With the aid of slit-lamp microscopy, the ocular status can be determined. Slit-lamp findings may be graded based on the methods of McDonald and Shadduck (Gwon 2008, McDonald and Shadduck 1977).
- Tonometry is the measurement of the intraocular pressure (IOP). A tonometer can measure the counter pressure when the probe gently touches the cornea. Intraocular inflammation is the most common cause of ocular hypotension.
- Optical coherence tomography (OCT) is a medical imaging technique to take cross-section pictures of the eye. OCT can be used to detect inflammation, irritation or other ocular changes.

Ex vivo examination

In the end, the rabbits will be euthanized and the eyes will be enucleated for further investigation of inflammation.

References

-Cheung, Durrani and Murray, The safety of anterior chamber paracentesis in patients with uveitis, Br J Ophthalmol. 2004 Apr; 88(4): 582–583.

-Van der Lelij A, Rothova A. Diagnostic anterior chamber paracentesis in uveitis: a safe procedure? Br J Ophthalmol 1997;81:976–9.

-Trivedi D, Denniston A and Murray P, Safety profile of anterior chamber paracentesis performed at the slit lamp, Clinical and Experimental Ophthalmology 2011; 39: 725–728

-Belen L, Violette K, Brackett J and Whitlock A, Validation of the Anterior Chamber Paracentesis Model for the Screening of Novel Ophthalmic Anti-Inflammatory Drug, IVOS 2013, Vol.54, 110

-Small D, Hevy J and Tang-Liu D. Comparison of tear sampling techniques for pharmacokinetic analysis: Ofloxacin concentration in rabbit tears after sampling with Schirmer tear strips, capillary tubes, or surgical sponges, J., Ocular Pharmacology and therapeuics, 2000, Vol. 16, (5), 439-446.

-Posa A, Brauer L, Schicht M, Garreis F, Beileke S and Paulsen F. Schirmer strip vs. capillary tube method: Non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid, Annals of Anatomy, Vol.195, (2),137–142

-Diehl K, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, Vidal J and van de Vorstenbosch C, A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes, J. Appl. Toxicol. 2001, 21, 15–23.

-NCR3 guidelines, <https://www.nc3rs.org.uk/blood-sample-volumes>

Thakur RR and Kashiv M, Modern Delivery Systems for Ocular Drug Formulations: A comparative Overview W.R.T Conventional Dosage Form, IJPBR 2011, 2 (1) 8-18.

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

The 'resource equation method' (Mead 1988) is used to calculate the sample size for this experiment. This method is used when it is not possible to assess or assume the effect size and standard deviation, as no previous findings are available. Furthermore, it is used when complex statistical procedures are used for analysis. With this method a value "E" is calculated, which in fact is the degree of freedom of analysis of variance (ANOVA).

In this ocular efficacy study, three groups of animals (T=3) will be used. If we use a group size of 7 animals ($N=3 \times 7=21$), $E = 21-3 = 18$ which is within the acceptable limit and hence can be considered as adequate sample size. Additionally, a drop out of 10% will be included. This results in a total sample size of 24 animals (8 animals per group).

References:

-Mead, R. (1988). The design of experiments : statistical principles for practical applications. Cambridge England ; New York, Cambridge University Press.

-Charan, J., & Kantharia, N. D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303–306. <http://doi.org/10.4103/0976-500X.119726>

B. The animals

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

The rabbit and its eye are ideally suited for ophthalmic research for several reasons. The animal is docile, easy to handle, comes in various sizes depending on the breed thus providing a range of sizes to work with. Because the rabbit eye is relatively large (Table B1), it has proved useful for the assessment of both new technologies as well as ophthalmic surgical procedures (Gwon 2008). The ocular anatomy of the rabbit (e.g. cornea, aqueous humor composition and musculature) is very similar to that in men (Gwon 2008, Thakur 2011).

We estimate to use approximately eight animals per animal group (including the drop-out), with a maximum of twenty-four animals.

Table B1. Ocular sizes in several species.

	Axial Length (mm)	Corneal Thickness (mm)	Anterior Chamber Depth (mm)	Lens Thickness (mm)	Vitreous Chamber Depth (mm)	References
HUMAN	23.92	0.55	3.05	4.0	16.32	A Photon Accurate Model of the Human Eye, Deering, ACM Transactions on Graphics, 2005
RABBIT	18.1	0.4	2.9	7.9	6.2	A Schematic Eye for the Rabbit, HUGHES, Vision Research, 1972
RAT	5.98	0.25	0.87	3.87	1.51	A Revision of the Rat Schematic Eye, MASSOF and CHANG, Vision Research, 1972

The animals will be obtained from certified suppliers.

We will not use the contralateral eyes as stated in the ARVO and NIH guidelines for animal research, so none of the animals will experience bilateral loss of vision during the course of the study.

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

Evaluation of the ocular efficacy requires the use of living animals. *In vitro* systems are not sufficient in evaluating the ocular efficacy of a new drug delivery device. Furthermore, an ocular pharmacokinetics study in animals is required for future drug approval (European Medicine Agency).

Reduction

The level of drug release from the ocular coil will be tested extensively *in vitro* prior to this animal study. Based on the *in vitro* results, a selection of the best prototype(s) will be made. These coil(s) will be further subjected to the *in vivo* ocular pharmacokinetics study. If *in vivo* drug release is sufficient, this ocular efficacy study will start to demonstrate the efficacy of the ocular coil in treating inflammation. Both, the *in vitro* and *in vivo* pharmacokinetic studies reduce the total amount of animals which are needed for this ocular efficacy study.

The total number of animals will be kept as low as possible, while maintaining sufficient data for statistical analysis.

Refinement

The main advantages to using rabbits as experimental models in eye research are the large size of the

rabbit eye relative to its body and the several years' worth of accumulated data on the anatomy and physiology of the rabbit eye and its similarity to the human eye (Gwon 2008, Thakur 2011). Added to that, the fact that rabbits are easy to handle and breed and the most economical of the larger breed models, makes them ideal for ophthalmic research (Gwon 2008).

Most of the animal procedures are non-invasive and will be performed under hypnosis or general anaesthesia, in order to avoid movement of the eye, discomfort and stress to the animal and to allow precise evaluation. Furthermore, the investigators involved in this project are currently improving their practical skills using sacrificed rabbits.

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

Minimizing animal suffering

The ophthalmic examinations will be performed under hypnosis or general anesthesia.

Whenever moderate discomfort (according to facial expression and body language, Hampshire et al, 2015) with severe ocular damage shall be observed, the coil will be removed and the rabbit shall be euthanized for histological examination.

Prior to the start of this study, animals will have time to acclimatize after arrival at the CPV. During this time, daily human contact will be initiated in order to reduce stress during handling. Handling will be performed according to appropriate guidelines.

The contralateral eyes will not be used, so no animals experience complete loss of vision during the study.

References

-V. Hampshire and S. Robertson Using the facial grimace scale to evaluate rabbit wellness in post-procedural monitoring **2015** Jul;44(7):259-60. doi: 10.1038/labani.806.

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.

N.A.

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.

General anaesthesia will be used during the aqueous humor sampling and during the corneal puncture. In addition, [REDACTED] is an [REDACTED] which will reduce pain and prevent inflammation; other analgesics will be provided (oral) to lower the pain in group 6.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

Adverse effects related to [REDACTED] (for example transient stinging and burning on installation, hypersensitivity, headache and superficial keratitis) may occur. [REDACTED]

Explain why these effects may emerge.

Due to the absorption of [REDACTED]

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

The animals will be followed-up on a regular basis.

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.

Whenever moderate discomfort is observed in group 4 and group 5 (according to facial expression and body language, Hampshire et al, 2015) due to ocular damage, the animals will be sacrificed for histological evaluation. Moderate discomfort, for these groups, is defined as ocular or conjunctival inflammation and irritation, which can not get controlled anymore (red conjunctiva with bloodshot eyes). Enucleation of the eye is the only possibility to prevent systemic inflammation.

Since we do not treat the control group for this experiment, we will sacrifice the control animals when the inflammation affects the rabbits vision. Thus, when the cornea starts to be affected (determined by slit lamp examination), the conjunctiva is swollen (and red) and the rabbits shows signs of discomfort (pull back reflex) when touching tissue near to the ocular region.

Indicate the likely incidence.

The occurrence of these events is expected to be low (< 10%).

K. Classification of severity of procedures

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

- All non-invasive procedures are considered 'mild'
- Inducing ocular damage to induce inflammation is considered 'mild' in all groups.
- Living with ocular or conjunctival inflammation for the control group (6) is considered 'moderate' and for the treated groups (4 and 5) 'mild'
- The sampling methods are considered 'mild' (individual).
- We expect that the animals will be anesthetized/hyponosed for 10 to 15 time during a period of 4

weeks.

- Cumulative discomfort for group 4 and 5 is mild while the cumulative discomfort for group 6 is graded as moderate.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No

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

At the end of the experiment, the eyes will be enucleated for further *ex vivo* evaluation.

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



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Maastricht

Postbus 616

6200 MD MAASTRICHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD107002017829

Bijlagen

2

Datum 19 januari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 19 januari 2017. Het gaat om uw project "Evaluation of adrug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD107002017829. 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:

19 januari 2017

Aanvraagnummer:

AVD107002017829

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
19 januari 2017
Aanvraagnummer:
AVD107002017829

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

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

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

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

Datum:

19 januari 2017

Aanvraagnummer:

DEC07002017829

Over uw project

Geplande startdatum:

1 februari 2017

Geplande einddatum:

1 februari 2022

Titel project:

Evaluation of adrug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye

Titel niet-technische samenvatting:

Evaluatie van een oculaire coil voor gereguleerde geneesmiddelenafgifte aan het oog

Naam DEC:

DEC-UM

Postadres DEC:

Postbus 616, 6200 MD Maastricht

E-mailadres DEC:

secretariaat.dec@maastrichtuniversity.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.541,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- ☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam:



Functie:



Plaats:

Maastricht

Datum:

19 januari 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Maastricht



Postbus 616

6200 MD MAASTRICHT



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD107002017829

Bijlagen

2

Datum 19 januari 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 19 januari 2017

Vervaldatum: 18 februari 2017

Factuurnummer: 170829

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD107002017829	€ 1.541,00

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.

Van: [REDACTED]
Verzonden: woensdag 8 maart 2017 15:54
Aan: 'Info-zbo'
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: vragen bij de behandeling van projectaanvraag AVD107002017829

Categorieën: Dossier: [REDACTED]

Beste mevrouw [REDACTED]
 Gelieve in bijlage de aangepaste documenten terug te vinden. De aanpassingen zijn aangegeven in een rode kleur. In het eerste document (aanvraag projectvergunning) is de einddatum aangepast naar december 2018 (dit kon niet in kleur omdat het document dit niet toelaat).
 Met vriendelijke groeten,
 [REDACTED]

Van: Info-zbo [mailto:info@zbo-ccd.nl]
Verzonden: woensdag 8 maart 2017 15:23
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: vragen bij de behandeling van projectaanvraag AVD107002017829

Beste mevrouw [REDACTED]
 De antwoorden op onze vragen zijn goed ontvangen. Vrijdag 10 maart zal de CCD uw aanvraag behandelen. Kunt u waar van toepassing de bijlagen dierproeven en de NTS herzien en uw antwoorden daarin opnemen? Zoals een aanpassing van het ongerief, het aantal malen anesthesie en de dieraantallen?
 Met vriendelijke groet [REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven
www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028
 E: info@zbo-ccd.nl (let op: nieuw emailadres!)

Van: [REDACTED]
Verzonden: maandag 6 maart 2017 16:47
Aan: 'info@zbo-ccd.nl'
CC: [REDACTED]
Onderwerp: FW: vragen bij de behandeling van projectaanvraag AVD107002017829

Geachte [REDACTED],
 Gelieve in bijlage een antwoord op onderstaande vragen m.b.t. projectaanvraag AVD107002017829 terug te vinden.
 Met vriendelijke groet,
 [REDACTED]
 [REDACTED]

Van: Info-zbo <info@zbo-ccd.nl>
Datum: 21 februari 2017 09:40:41 CET
Aan: [REDACTED]
 [REDACTED]

Onderwerp: vragen bij de behandeling van projectaanvraag AVD107002017829

Geachte [REDACTED],
 U heeft bij de CCD een aanvraag tot projectvergunning ingediend, bij de behandeling hiervan hebben wij een aantal vragen. Het betreft uw project 'Evaluation of a drug loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye' met aanvraagnummer AVD107002017829.
 In de bijlagen dierproeven beschrijft u 'hypnosis' als methode om de konijnen te immobiliseren. Wat bedoelt u hier precies mee, en wanneer dit hier iets anders bedoeld wordt dan sedatie door het injecteren van een middel kunt u dan beschrijven wat deze methode precies inhoudt?
 In bijlage 3.4.4.1 komt uit de berekening van het benodigd aantal dieren dat u 23 dieren nodig heeft, toch vraagt u 24 dieren aan. U kunt slechts zoveel dieren inzetten als nodig zijn, op basis van de statistische berekening, om de resultaten te behalen.
 In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u twee experimentele groepen, de groep die een coil geïmplantiseerd krijgt en een controle groep die alleen oogdruppels krijgt toegediend. U beschrijft dat u van de konijnen slechts een oog gebruikt. De door u genoemde ARVO guidelines beschrijven het

vermijden van invasieve ingrepen aan beide ogen met grote kans op schade en blindheid. In het kader van vermindering is de CCD van mening dat in deze bijlage het wel mogelijk is om beide ogen van het konijn te gebruiken. De effecten van de oogdruppels op zich zijn bekend, en zullen naar verwachting geen schade aan het oog veroorzaken en u neemt de monsters af onder anesthesie. Kunt u dit nader toelichten?

U beschrijft in bijlagen 3.4.4.2 en 3.4.4.3 bij de ongeriefclassificatie dat het cumulatief ongerief Licht is, uit de beschrijving volgt dat de dieren meerdere malen onder anesthesie gaan ten behoeve van bemonstering en mogelijk terugplaatsen van een coil wanneer deze verloren is gegaan. Kunt u het maximaal aantal keren dat een konijn mogelijk onder anesthesie gaat aangeven en in overweging nemen, in overleg met de IvD, dat dit maakt dat het cumulatief ongerief als matig gezien moet worden?

U vraagt een looptijd van 5 jaar aan voor dit project, gezien het aantal experimenten en de duur van de experimenten lijkt dit lang. Kun u een looptijd van 5 jaar meer onderbouwen?

U heeft 14 dagen om uw aanvraag aan te vullen. De behandeltijd is opgeschort totdat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen.

Vriendelijke groet, [REDACTED]

[REDACTED]
Uitvoeringsexpert

Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

.....
Bezuidenhoutseweg 73 2594 AC Den Haag
Postbus 20401 2500 EK Den Haag
.....

[REDACTED]
[REDACTED]
Afwezig op vrijdag in de oneven weken

This email and any attachments may contain confidential or privileged information and is intended for the addressee only. If you are not the intended recipient, please immediately notify us by email or telephone and delete the original email and attachments without using, disseminating or reproducing its contents to anyone other than the intended recipient. The Maastricht UMC+ shall not be liable for the incorrect or incomplete transmission of this email or any attachments, nor for unauthorized use by its employees.

Maastricht, 6 maart 2017

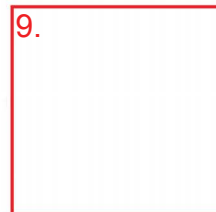
Van: Maastricht Universiteit,

[REDACTED]

Postbus 616

6200MD Maastricht

E-mail: [REDACTED]



Aan: Centrale Commissie Dierproeven

t.a.v. [REDACTED]

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

E-mail: [REDACTED]

Betreft: Vragen bij de behandeling van projectaanvraag AVD107002017829

Geachte mevrouw [REDACTED]

Naar aanleiding van uw reactie van 21 februari 2017 vindt u hierbij ons antwoord op de gevraagde punten. Het betreft het project 'Evaluation of a drug loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye' met aanvraagnummer AVD107002017829.

In de bijlagen dierproeven beschrijft u 'hypnosis' als methode om de konijnen te immobiliseren. Wat bedoelt u hier precies mee, en wanneer dit hier iets anders bedoeld wordt dan sedatie door het injecteren van een middel kunt u dan beschrijven wat deze methode precies inhoudt?

Met hypnose bedoelen we inderdaad sedatie of lichte anesthesie om het bewustzijn van de dieren te verlagen. De reden waarom we voor hypnose kiezen is omdat hypnose minder belastend is dan algehele anesthesie. Op deze manier wordt het totale ongerief voor de dieren verlaagd.

In bijlage 3.4.4.1 komt uit de berekening van het benodigd aantal dieren dat u 23 dieren nodig heeft, toch vraagt u 24 dieren aan. U kunt slechts zoveel dieren inzetten als nodig zijn, op basis van de statistische berekening, om de resultaten te behalen.

Valide punt. We zullen 23 dieren aanvragen i.p.v. 24.

In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u twee experimentele groepen, de groep die een coil geïmplantiseerd krijgt en een controle groep die alleen oogdruppels krijgt toegediend. U beschrijft dat u van de konijnen slechts een oog gebruikt. De door u genoemde ARVO guidelines beschrijven het vermijden van invasieve ingrepen aan beide ogen met grote kans op schade en blindheid. In het kader van vermindering is de CCD van mening dat in deze bijlage het wel mogelijk is om beide ogen van het konijn te gebruiken. De effecten van de oogdruppels op zich zijn bekend, en zullen naar verwachting geen schade aan het oog veroorzaken en u neemt de monsters af onder anesthesie. Kunt u dit nader toelichten?

De reden waarom de dieren niet aan beide ogen kunnen worden behandeld, is omdat deze (farmacokinetiek) studie ook de systemische opname van het geneesmiddel wenst te evalueren. Onderzoek naar de systemische opname van geneesmiddelen (na lokale toediening) is belangrijk omdat systemische opname vaak leidt tot neveneffecten en bijwerkingen. Met name oogdruppels zijn gekend voor hun lage lokale absorptie (< 5%) en significante systemische opname van de actieve bestanddelen. In dit kader wensen we de systemische opname van het geneesmiddel te vergelijken na vrijgave uit de coil of via oogdruppels. Indien de coil een hoger percentage geneesmiddel vrijgeeft aan het oog (en dus minder systemisch), versterkt dit rol van de coil als waardevol alternatief voor oogdruppels.

Daarnaast houden we er rekening mee dat, indien de [REDACTED] (studie 1) niet optimaal functioneert, we frequent voorkamervocht (aqueous humor) zullen moeten afnemen door middel van (invasieve) injecties in het oog. We willen voorkomen dat de dieren frequent en bilateraal geïnjecteerd moeten worden.

U beschrijft in bijlagen 3.4.4.2 en 3.4.4.3 bij de ongeriefclassificatie dat het cumulatief ongerief Licht is, uit de beschrijving volgt dat de dieren meerdere malen onder anesthesie gaan ten behoeve van bemonstering en mogelijk terugplaatsen van een coil wanneer deze verloren is gegaan. Kunt u het maximaal aantal keren dat een konijn mogelijk onder anesthesie gaat aangeven en in overweging nemen, in overleg met de IvD, dat dit maakt dat het cumulatief ongerief als matig gezien moet worden?

In overleg met de IvD, gaan we akkoord om het cumulatief ongerief aan te passen naar *moderate* (in plaats van *mild*). We verwachten dat de dieren een 10 à 15 keer binnen een periode van 4 weken onder anesthesie (of hypnose/sedatie) zullen gebracht worden.

U vraagt een looptijd van 5 jaar aan voor dit project, gezien het aantal experimenten en de duur van de experimenten lijkt dit lang. Kun u een looptijd van 5 jaar meer onderbouwen?

Op het moment van schrijven is de oculaire coil nog niet volledig af. Het prototype is opgeleverd, maar de optimalisatie dient nog te gebeuren. Om hierop te anticiperen hebben wij een ruime tijd in overweging genomen. We gaan akkoord met een kortere termijn. Een einddatum van december 2018 is realistischer.

Hoogachtend en met vriendelijke groeten,

[REDACTED]

[REDACTED]

DEC-advies PV 2015-019 [REDACTED]

Preambule:

Alle vragen met betrekking tot de vernieuwde [REDACTED], acht de aanvrager vertrouwelijk indachtig artikel 10 lid 1 aanhef en onder f en g van de Wet Openbaarheid van Bestuur, totdat het patent ingediend en volledig goedgekeurd is.

De DEC-UM verzoekt U eventuele aanvullende vragen rechtstreeks aan de aanvrager te stellen met een afschrift aan de DEC-UM.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. **Aanvraagnummer:** 10700
2. **Titel van het project:** *Evaluation of a drug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye.*
3. **Titel van de NTS:** *Evaluatie van een oculaire coil voor gereguleerde geneesmiddelenafgifte aan het oog.*
4. **Type aanvraag:**
 - ☒ **nieuwe** aanvraag projectvergunning
5. **Contactgegevens DEC:**
 - naam DEC; DEC-UM
 - telefoonnummer contactpersoon; [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon; [REDACTED]
6. **Adviestraject:** (data dd-mm-jjjj):
 - ☒ ontvangen door DEC-UM 03-11-2016
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☒ in vergadering besproken 11-11-2016
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermin met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag
 - ☐ advies aan CCD
7. **Afstemming IvD:**
 - De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD dd. 03-11-2016.
8. **Eventueel horen van aanvrager:** *N.V.T.*
9. **Correspondentie met de aanvrager:**
 - Datum 16-11-2016
 - Gestelde vragen:

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1

Vragen:

1. *Kan er een systemisch effect optreden na toedienen drug in 1 oog via bijvoorbeeld de retro-orbitale plexus? Indien dit kan, is het dan niet beter om een baseline versus drug toediening te analyseren?*

Antwoord:

Uit literatuur is gebleken dat een systemisch effect, veroorzaakt door [REDACTED], mogelijk is, al is de kans hierop verwaarloosbaar klein. Daarnaast is er bewust gekozen voor [REDACTED] omdat dit medicijn al langer op de markt is en de bijwerkingen goed in kaart gebracht zijn [voor details verwijzen wij u naar de website van het Lareb, 8-12-2016 laatste raadpleging, bijgewerkt op 6-12-2016]. Hierdoor is het niet nodig een baseline versus drug toediening te analyseren, maar kan er gefocust worden op de afgifte van medicijn door de oculaire coil. Overigens wordt bij het eerste onderzoek (zie appendix 1) de baseline van [REDACTED] in kaart gebracht door middel van oogdruppels. Deze data worden gebruikt in de verdere experimenten.

2. *Waarom wordt gekozen in de eerste onderzoeksvraag om oogdruppels toe te dienen. Uit de background maakt de DEC-UM op dat er reeds een coil beschikbaar is, maar dat een nieuwe (meer flexibelere) coil getest wordt. Is het niet handiger om het gebruik van [REDACTED] te testen in een reeds bestaande coil.*

Antwoord:

Binnen de oogheelkunde zijn oogdruppels momenteel de gouden standaard voor het toedienen van medicatie. Het is echter nog niet duidelijk hoe deze concentraties nauwkeurig en niet-invasief gemeten kunnen worden. Vandaar dat de afdeling oogheelkunde een [REDACTED] ontwikkeld en gepatenteerd heeft, om met deze [REDACTED] nauwkeurige medicijn concentraties te meten door middel van [REDACTED]. De [REDACTED] methode is afgelopen jaren geoptimaliseerd binnen de afdeling oogheelkunde, echter zijn er nog geen *in vivo* studies gedaan. Om de [REDACTED] optimaal af te stellen en te testen voor de volgende studies (appendici 2 en 3) is gekozen voor het meten van medicijn concentraties met oogdruppels (gouden standaard voor het toedienen van medicatie).

De ‘oude’ oculaire coil waarover gesproken wordt in de aanvraag is het start-/uitgangproduct voor de ontwikkeling van de huidige oculaire coil. Het concept is hetzelfde gebleven, een oculaire coil voor medicijn afgifte, maar de nieuwe oculaire coil heeft een vernieuwde coating, een andere diameter, de flexibiliteit is verhoogd en medicijn afgifte is anders gereguleerd. Tevens is de duur van de medicijn afgifte anders bij de huidige oculaire coil in vergelijking met de oude versie. De ‘oude’ oculaire coil is daarom niet vergelijkbaar met de ‘nieuwe’ oculaire coil en derhalve niet geschikt om te gebruiken in deze studies.

3. *Dient er binnen de tweede onderzoeksvraag ook een vergelijking gemaakt te worden met de eerste-generatie coils of worden hiervoor historische controles gebruikt? Er wordt namelijk een tweede generatie coils getest.*

Antwoord:

Zoals hierboven aangegeven is de ‘oude’ oculaire coil niet vergelijkbaar met de ‘nieuwe’ oculaire coil. De ‘oude’ oculaire coil is het start-/uitgangproduct waarop de nieuwe oculaire coil gemaakt is. Door veranderingen in onder andere de coating, diameter, flexibiliteit en medicijn afgifte kan dit gezien worden als een nieuw product.

4. *Wordt er reeds van uitgegaan dat [REDACTED] niet zal werken? When the drug concentrations in the AH samples are significantly lower than...*

Antwoord:

De *in vitro* en *ex vivo* resultaten van [REDACTED] zijn veel belovend maar de vertaling van *in vitro* en *ex vivo* naar *in vivo* blijkt moeilijk te zijn, zoals aangetoond in de literatuur ([REDACTED]). Dit is de eerste studie waarbij de door ons ontwikkelde [REDACTED] *in vivo* getest zal worden.

5. *Kan er reeds een inschatting gemaakt worden of er lagere drug concentraties mogelijk zijn door de opbouw van de matrix? Het strategie punt II zou hier een antwoord op moeten geven.*

Antwoord:

Momenteel is de medicijn afgifte matrix nog in ontwikkeling bij de TU/e. Er is, in samenwerking met de afdeling farmacologie en door een uitgebreide literatuur studie, gekeken naar de effectieve dosis van [REDACTED]. Aan de hand hiervan wordt de medicijn matrix verder ontwikkeld. De intra-oculaire concentraties van [REDACTED] moeten gelijk zijn aan die van oogdruppels, waar de concentratie buiten de cornea lager kunnen zijn ten opzichte van oogdruppels vanwege gereguleerde continue medicijn afgifte.

3.4.2

Vragen:

1. *Waarom wordt AH sampling niet gedaan bij het onbehandelde oog (table 4)? Is er bewijs dat er geen systemische release voorkomt?*

Antwoord:

Omdat oogdruppels lokaal werken, is het niet nodig AH samples te nemen van het contralaterale oog. Daarnaast schrijven de richtlijnen van the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) voor, dat een bilaterale behandeling van ogen bij proefdieren goed overwogen moet worden, alvorens toegepast, omdat deze dierenleed significant verhogen wanneer complicaties ontstaan.

Waarom wordt bloed sampling gedaan?

Antwoord:

Bloedmonsters worden afgenomen voor ontstekingsonderzoek. Hiermee kijken we naar verhoogde cytokine waardes en ontstekingscellen ter indicatie van de algehele gezondheid van het konijn. Daarnaast wordt ook de concentratie systemisch vrijgegeven medicijn onderzocht.

2. *De suggestie wordt gecreëerd dat AH sampling naast bloed sampling sowieso gebeurt om lokale en systemische drug concentraties te bepalen, ook al kan [REDACTED] gebruikt worden?*

Antwoord:

Wanneer [REDACTED] aantoonbaar werkt, zal dit gebruikt worden om de medicijn kwantiteit in het oog aan te tonen. Er zal in dat geval geen AH afname gedaan worden.

3. *Wordt de ideale opbouw van de matrix niet bepaald m.b.v. in vitro experimenten (strategie punt 2), waardoor een eventuele extra groep toevoegen niet nodig is?*

Antwoord:

Er zullen *in vitro* experimenten uitgevoerd worden om te voorkomen dat meerdere studies nodig zijn. Zoals wetenschappelijke studies hebben aangetoond staat een *in vitro* experiment niet gelijk aan een *in vivo* experiment en verloopt de translatie niet altijd zoals gepland. Hierdoor kan het zijn dat de medicijn afgifte *in vivo* afwijkend is van de medicijn afgifte *in vitro*, waardoor de medicijn matrix aangepast dient te worden voor optimale *in vivo* afgifte.

4. *Als er verlies van de coil optreedt, wordt een nieuwe coil vastgehecht aan de conjunctiva. Is de drug concentratie dan nog gelijk in vergelijking met de andere dieren binnen een behandelingsgroep of wordt hiervoor gecorrigeerd?*

Antwoord:

Het kan zijn dat er een grotere dosis medicijn aan het begin van de herplaatsing vrij komt (bulk release). Hiervoor zal in de analyses worden gecorrigeerd.

3.4.4

Appendix 1

Vragen:

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters.

1. *Zal de gel aangebracht voor de [REDACTED] procedure de drug concentratie beïnvloeden die gevonden wordt in AH sampling? Is het beter om de sequentie om te draaien (eerst AH, daarna [REDACTED])?*

Antwoord:

We gaan er vanuit dat de gel de medicijnconcentratie niet beïnvloedt, omdat de viscositeit van de gel hoog genoeg is om niet te leiden tot hoornvliespenetratie. Echter het omdraaien van de procedure kan nadelige gevolgen hebben. Bij het afnemen van AH penetreren we het hoornvlies met een naald. Wanneer we hierna nog een gel aanbrengen is de kans op het induceren van blijvende schade groot omdat de wond niet goed kan dichtten.

2. *Waarom geen AH sampling in het onbehandelde oog?*

Antwoord:

Uit literatuur blijkt dat het konijnoog erg gevoelig is voor ontstekingen wanneer monsters genomen worden en hierna geen ontstekingsremmer gegeven wordt (Radi *et al.* 2008). Wanneer bij het onbehandelde oog AH sampling wordt toegepast, verhogen we de kans op ontstekingen en daarmee het ongerief bij de dieren.

Daarnaast schrijven de richtlijnen van de ARVO voor, dat een bilaterale behandeling van ogen bij proefdieren goed overwogen moet worden, alvorens toegepast, omdat deze dierenleed significant verhogen wanneer complicaties ontstaan.

3. *Om veiligheid van [REDACTED] vast te stellen wordt epitheel weefsel weggehaald bij het onbehandelde oog. Kan er een interactie verwacht worden (verlaagde veiligheid) tussen [REDACTED] en behandelde oog? Wat is reactie van oog na afname epitheel weefsel bij volgende [REDACTED] onderzoek?*

M.a.w. moet er ook geen epitheel weefsel weggehaald worden bij het behandelde oog? Dient er een lege coil (geen drug release) in het onbehandelde oog geplaatst te worden?

Antwoord:

Het afnemen van epitheelcellen door middel van impressie cytologie is een veelgebruikte toepassing binnen de kliniek om de gezondheid van het hoornvlies vast te stellen. Uit literatuur blijkt dat afnemen van epitheelcellen geen reactie geeft op het oog (Dursun *et al.* 2000; Gillan *et al.* 2008; Singh *et al.* 2005). Derhalve verwachten wij dat [REDACTED] onderzoek geen additioneel veiligheidsrisico heeft na het afnemen van epitheelcellen.

Epitheelcellen zullen ook afgenomen worden aan het behandelde oog. De tabel in de appendix is hierop aangepast.

Er is bewust voor gekozen om geen placebo oculaire coils mee te nemen in de studie. Aangezien de oculaire coils ontworpen zijn voor humaan gebruik, zijn ze waarschijnlijk aan de grote kant voor konijnen. Hierdoor is de kans op het verliezen van een oculaire coil groter bij konijnen dan bij mensen. Om dit te voorkomen zou, de oculaire coil aan de conjunctiva gehecht moeten worden. Als dit gedaan wordt dienen ontstekingsremmers toegepast te worden om de conjunctiva te behandelen.

Dit resulteert in een vertekend beeld waardoor deze konijnen dan uiteindelijk niet als controle kunnen fungeren wat zou betekenen dat de dieren verspild zijn.

4. *Met welke reden worden dieren tussentijds opgeofferd? Is dit noodzakelijk voor de vraagstelling (andere doelstellingen hebben als eindpunt 4 weken)? M.a.w. kan het met minder dieren?*

Antwoord:

Om te onderzoeken of de ontwikkelde probe voor [REDACTED] geen schade aanricht aan het endotheel van het oog willen we tussentijds histologisch onderzoek verrichten. Afhankelijk van de resultaten wordt tussentijds de [REDACTED] bijgesteld om veiligheid in verdere studies (appendici 2 en 3) te garanderen.

5. *Beschrijf mogelijke redenen van drop-out.*

Antwoord:

Mogelijke reden tot drop-out kunnen zijn:

- Ontsteking aan het oog, welke ondanks de behandeling met [REDACTED] niet onder controle gebracht kan worden.
- Beschadiging van het oog door interactie tussen de konijnen.
- Ziekte onafhankelijk van de interventie.
- Onvoorziene dood.

B. De Dieren.

6. *Kunnen beide sexen gebruikt worden?*

Antwoord:

Ja. Al willen we ze niet bij elkaar huisvesten omdat we geen zwangere dieren willen.

D. Vervanging, vermindering en verfijning.

7. *Is het verwijderen van de coil afdoende bij optreden van ernstig ongerief?*

Antwoord:

Dit is afhankelijk van de staat van het ongerief. Wanneer de konijnen blijvende schade aan het oog hebben opgelopen dienen de dieren geëuthanaseerd te worden. Wanneer een irriterende conjunctiva is geobserveerd, is verwijdering van de oculaire coil voldoende.

E. Herhaling.

8. *Is er onderzocht of anderen (literatuur) reeds met deze techniek gewerkt hebben in een vergelijkbare studie opzet?*

Antwoord:

[REDACTED]

J. Humane eindpunten.

9. *De humane eindpunten lijken niet in overeenstemming te zijn met de beschrijving onder D. Bij ernstig ongerief in D wordt coil verwijderd, terwijl bij moderate ongerief in J dieren geofferd worden.*

Antwoord:

Dit is aangepast in de betreffende appendix.

Appendix 2

Vragen:

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters.

1. *Is een extra groep (vergelijking met eerste generatie coils) nodig of kan eerste versus tweede generatie coils vergeleken worden zodat een druppels niet meer nodig zijn?*

Antwoord:

Zoals reeds hierboven aangegeven is de ‘oude’ oculaire coil niet vergelijkbaar met de ‘nieuwe’ oculaire coil. De ‘oude’ oculaire coil is het start-/uitgangproduct waarop de nieuwe oculaire coil gemaakt is. Door veranderingen in onder andere de coating, diameter, flexibiliteit en medicijn afgifte kan dit gezien worden als een nieuw product.

2. *Wordt er bij aanbrengen van een nieuwe coil rekening gehouden met de concentratie drug?*

Antwoord:

In de analyse achteraf zal hiermee rekening gehouden worden.

3. *Beschrijf mogelijke redenen van drop-out.*

Antwoord:

Mogelijke redenen tot drop-out kunnen zijn:

- Ontsteking aan het oog, welke ondanks de behandeling met [REDACTED] niet onder controle gebracht kan worden.
- Beschadiging van het oog door interactie tussen de konijnen.
- Ziekte onafhankelijk van de interventie.
- Onvoorziene dood.

4. *Wat wordt bedoeld met de laatste zin bij A?*

Antwoord:

Met de volgende zin: “*When the results in the first trial are significantly lower compared to the eye drop group, the experiment will be repeated with 9 rabbits (incl. 10% drop outs), after optimization of the ocular coil drug delivery matrix in vitro.*” wordt bedoeld;

Het herhalen van het experiment wanneer blijkt dat de medicijn afgifte matrix *in vivo* een significant lagere hoeveelheid medicijn afgeeft. Om te voorkomen dat een volledig nieuwe aanvraag ingediend moet worden en te zijner tijd meerdere dieren nodig zullen zijn is dit opgenomen in de huidige aanvraag.

B. De Dieren.

5. *Kunnen beide sexen gebruikt worden?*

Antwoord:

Ja. Al willen we ze niet bij elkaar huisvesten omdat we geen zwangere dieren willen.

E. Herhaling.

6. *Is er onderzocht of anderen (literatuur) reeds met deze techniek gewerkt hebben in een vergelijkbare studie opzet?*

Antwoord:

[Redacted answer text]

Appendix 3

Vragen:

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters.

1. *Dient de controle groep geen sham behandeling te ondergaan (coil zonder drug, ...)?*

Antwoord:

Er is bewust gekozen om geen placebo oculaire coils mee te nemen in de studie.

Omdat de oculaire coils ontworpen zijn voor humaan gebruik, zijn ze waarschijnlijk aan de grote kant voor konijnen. Hierdoor is de kans op het verliezen van een oculaire coil groter bij konijnen dan bij mensen. Zodoende zou de oculaire coil aan de conjunctiva gehecht moeten worden. Als dit gedaan wordt dienen ontstekingsremmers toegepast te worden om de conjunctiva te behandelen. Dit resulteert in een vertekend beeld waardoor deze konijnen dan uiteindelijk niet als controle kunnen fungeren wat zou betekenen dat de dieren verspilt zijn.

2. *Wordt er bij het aanbrengen van een nieuwe coil rekening gehouden met de concentratie drug?*

Antwoord:

Tijdens de analyse zal hiermee rekening gehouden worden.

3. *Redenen van drop-out?*

Antwoord:

Mogelijke reden tot drop-out kunnen zijn:

- Ontsteking aan het oog, welke ondanks de behandeling met [Redacted] niet onder controle gebracht kan worden.
- Beschadiging van het oog door interactie tussen de konijnen.
- Ziekte onafhankelijk van de interventie.
- Onvoorziene dood.

4. *Waarom is het aantal dieren lager in vergelijking met de vorige appendix. Je verwacht therapeutisch gezien een kleiner verschil tussen de groepen, dus zou het aantal dieren theoretisch hoger moeten liggen?*

Antwoord:

In de experimenten van de tweede appendix wordt gekeken of de intra-oculaire medicijnconcentratie, afgegeven door de oculaire coil, gelijk of hoger is dan de afgegeven medicijnconcentratie door oogdruppels. Wanneer dit zo is, kan (omdat het farmaceutisch actieve component gelijk is in beide toedieningsvormen) geconcludeerd worden dat het effect van het medicijn, afgegeven door de oculaire coil, gelijk is aan dat van de oogdruppels.

Omdat bekend is dat het farmaceutisch actieve component ontstekingen remt bij de concentratie in oogdruppels en in appendix 2 aangetoond is dat dit gelijk of beter is wanneer een oculaire coil gebruikt wordt, kan het aantal proefdieren dat nodig is om bevestigen dat de oculaire coil werkt omlaag in appendix 3.

B. De Dieren.

5. *Kunnen beide sexen gebruikt worden?*

Antwoord:

Ja. Al willen we ze niet bij elkaar huisvesten omdat we geen zwangere dieren willen.

E. Herhaling.

6. *Hoe wordt herhaling vermeden?*

Antwoord:

Herhaling wordt vermeden door te zorgen dat de oculaire coil met de juiste medicijn houdende matrix gebruikt wordt in de derde studie.

J. Humane eindpunten.

7. *De humane eindpunten lijken niet in overeenstemming te zijn met de beschrijving onder D. Bij ernstig ongerief in D wordt coil verwijderd, terwijl bij moderate ongerief in J dieren geofferd worden.*

Antwoord:

De humane eindpunten zijn aangepast in de appendix zodat deze in overeenstemming zijn.

Daarnaast heeft men in alle appendici aangepast dat de dieren in sommige gevallen onder hypnose behandeld zullen worden in plaats van volledige anesthesie.

Hypnose is minder belastend voor de dieren waardoor het ongerief verlaagd word. Verder heeft deze verandering geen effect op de behandelingen die men uitvoert.

- Datum antwoord 22-12-2016
- Verstrekte antwoorden: Zie hierboven.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

10. Eventuele adviezen door experts: (niet lid van de DEC-UM) *N.V.T.*

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is. **JA**
2. De aanvraag betreft een **nieuwe** aanvraag.

3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom. **N.V.T.**

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. Het is helder welke handelingen en ongerief individuele dieren zullen ondergaan.

De DEC-UM vertrouwt erop dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. Gezien bovenstaande is de DEC-UM van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.

2. Geef aan of er aspecten in deze aanvraag zijn die niet in overeenstemming zijn met wet- en regelgeving anders dan de Wod? Denk hierbij aan bijvoorbeeld de Flora en fauna wet en Wet dieren. Indien van toepassing, leg uit om welke aspecten het gaat en waarom hier sprake van is.

N.v.t., daar dit buiten de taakstelling van de DEC valt overeenkomstig artikel 18a.2.b van de Wod.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.

Het projectvoorstel heeft inderdaad kenmerken van translationeel onderzoek.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een reële relatie is tussen beide doelstellingen.

Zie antwoord op vraag C5.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden.

De belangrijkste belanghebbenden in dit toegepast wetenschappelijke project dat zich richt op de mogelijkheden van geneesmiddelen toediening in het oog via een van geneesmiddelen voorzien staafje (drug-loaded ocular coil) en een daarop toegesneden niet-invasieve meetmethode () zijn: de proefdieren, de onderzoekers en de medische wetenschap, toekomstige patiënten en hun naasten en de samenleving als geheel.

Waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de dieren zal worden aangetast door de experimentele handelingen en het leven met de gevolgen daarvan gedurende de proeven en de opoffering aan het eind daarvan. Ze zullen ongerief ondervinden dat voornamelijk wordt geclassificeerd als gering. Bij 15% van de dieren wordt het ongerief ingeschat op matig.

Waarden die bevorderd worden voor de proefdieren door de ontwikkeling van de [REDACTED] zijn: *verminderde aantasting van integriteit door niet-invasieve meetmethode. Tevens zullen de proefdieren in het vervolg minder ongerief ondervinden.*

Waarden die voor de onderzoekers bevorderd worden: *De onderzoekers zullen medisch-wetenschappelijke kennis verkrijgen en delen met de wetenschappelijke gemeenschap. De onderzoekers vergaren kennis over de mogelijkheden van geneesmiddelen toediening in het oog via een van geneesmiddelen voorzien staafje (drug-loaded ocular coil) en een daarop toegesneden niet-invasieve meetmethode [REDACTED]. Bij een scala aan oogziekten kan dit leiden tot verbeterde therapeutische ingrepen.*

Waarden die voor patiënten bevorderd worden: *Meer kennis over therapeutische mogelijkheden bij diverse oogaandoeningen. Dat kan op termijn de kwaliteit van leven verbeteren van mensen die lijden aan oogziekten en hun naasten.*

Groei van medische kennis op een gebied waar daaraan behoefte is, wordt eveneens bevorderd door het onderhavige onderzoek. Oogziekten komen veel voor. Daarom heeft dit onderzoek ook belang voor de samenleving als geheel.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en of geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wetgeving.

N.v.t., daar dit buiten de taakstelling van de DEC valt overeenkomstig artikel 18a.2.b van de Wod.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw antwoord toe.

Voor zover de DEC-UM kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat gezien de wetenschappelijke output, de verworven interne- en externe financiering alsmede de aandacht voor de drie V's.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw antwoord toe.

De DEC-UM is er van overtuigd dat het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC-UM leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wod voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw antwoord toe. **N.V.T.**

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de richtlijn. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan omdat het om wetenschappelijke redenen noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht toe waarom wel/niet.

De DEC-UM heeft zich ervan verzekerd dat zulks het geval is.

11. Beoordeel of het ongerief als gevolg van de dierproeven realistisch is ingeschat en geclassificeerd, waarbij uitgegaan wordt van de kans op angst, pijn, stress en/of ziekte bij individuele dieren.

De DEC-UM vertrouwt erop dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen.

12. Geef aan op welke wijze de integriteit van de dieren wordt aangetast.

De integriteit van de dieren zal worden aangetast door de experimentele handelingen en het leven met de gevolgen daarvan gedurende de proeven en de opoffering aan het eind daarvan.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw antwoord toe.

Naar de mening van de DEC-UM zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven en is de inschatting van het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken eveneens zorgvuldig beschreven in de projectaanvraag.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn? Onderbouw uw antwoord.

De DEC-UM is van mening dat de doelstellingen van de proef niet behaald kunnen worden, anders dan met de aangevraagde dieren, daar geschikte vervangingsalternatieven ontbreken, zoals beschreven in onderhavig projectvoorstel.

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Onderbouw uw antwoord.

Naar de mening van de DEC-UM is het aantal te gebruiken dieren realistisch ingeschat en wel zodanig dat niet meer dan nodig, maar ook niet minder dan nodig dieren worden gebruikt voor het behalen van een betrouwbaar wetenschappelijke resultaat zulks mede gebaseerd op statistische analyse middels een poweranalyse.

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd? Licht uw antwoord toe.

De DEC-UM heeft zich ervan verzekerd dat de aanvrager al het mogelijke zal doen om het eventuele ongerief voor de proefdieren te identificeren, te verminderen en waar mogelijk te voorkomen. Hierbij heeft de DEC-UM onder andere de pijnbestrijding en huisvesting in haar beoordeling betrokken.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Onderbouw uw antwoord.

Voor zover de DEC-UM kan beoordelen zijn de kennis en kunde van de onderzoeksgroep adequaat en mede gezien het daartoe strekkende antwoord van de aanvrager in de projectaanvraag heeft de DEC-UM reden aan te nemen dat onnodige duplicatie achterwege blijft.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd? Geef ook aan welke maatregelen verder zijn getroffen om bij fok of aankoop van dieren het aantal in voorraad gedood te beperken.

In onderhavige projectaanvraag worden niet dieren van een eenvormig geslacht gebruikt. Alhoewel de DEC-UM vermindering van proefdieren in voorraad gedood toejuicht is zij overigens van mening dat dit aspect met name met de centrale dienst proefdieren en de aanvrager kortgesloten dient te worden daar de DEC niet betrokken is bij de fok en aankoop van proefdieren.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van de richtlijn. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht dit toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd.

Naar de mening van de DEC-UM is dit genoegzaam beschreven in de projectaanvraag door de aanvrager.

20. Indien dieren worden gedood, is adoptie of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

Adoptie is ten aanzien van onderhavige aanvraag niet opportuun daar het hier niet handelt om niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren.

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

Naar de mening van de DEC-UM is zulks het geval.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag.

Rechtvaardigt het verkrijgen van kennis over de mogelijkheden van geneesmiddelen toediening in het oog via een van geneesmiddelen voorzien staafje (drug-loaded ocular coil) en een daarop toegesneden niet-invasieve meetmethode (), de opoffering en het milde en soms matige ongerief dat de dieren wordt aangedaan in het

voorliggende project "*Evaluation of a drug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye?*"

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn ten opzichte van elkaar af.

Waarden die voor de betrokken proefdieren in het geding zijn: *gering tot matig nadeel*.

Waarden die voor toekomstige proefdieren in het geding zijn: *gering voordeel*.

Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: *substantieel voordeel*.

Waarden die voor de doelgroep bevorderd worden: *matig voordeel*.

Algemeen: *relevante groei van therapeutische mogelijkheden in oogheelkunde*.

De DEC-UM is van mening dat de belangen van de onderzoekers en de biomedische wetenschap, van patiënten en hun naasten en van toekomstige proefdieren binnen het project "*Evaluation of a drug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye?*" zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de proefdieren. Voor de betrokken proefdieren leiden deze proeven na mild en soms matig ongerief tot de dood. Zij worden door de proeven in hun welzijn geschaad. De integriteit van de dieren wordt in dit project geschaad door de experimentele handelingen en het leven met de gevolgen daarvan gedurende de proeven en het opofferen aan het eind van de proeven.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit project echter leiden tot meer kennis over de mogelijkheden van geneesmiddelen toediening in het oog via een van geneesmiddelen voorzien staafje (drug-loaded ocular coil) en een daarop toegesneden niet-invasieve meetmethode (). Bij een scala aan oogziekten kan dit leiden tot verbeterde therapeutische ingrepen. Dat kan op termijn de kwaliteit van leven verbeteren van mensen die lijden aan oogziekten en hun naasten.

Groei van medische kennis op een gebied waar daaraan behoefte is, wordt eveneens bevorderd door het onderhavige onderzoek. Oogziekten komen veel voor. Daarom heeft dit onderzoek ook belang voor de samenleving als geheel. Vandaar dat de DEC-UM het onderhavige onderzoek van substantieel belang acht.

Het is aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. De onderzoekers zullen zoveel mogelijk trachten het lijden van de dieren te beperken d.m.v. pijnbestrijding, waardoor het werkelijke ongerief van de dieren beperkt blijft in relatie tot het te behalen voordeel.

3. Beantwoord de centrale morele vraag.

De DEC-UM beantwoordt de centrale morele vraag: "Rechtvaardigt het verkrijgen van kennis over de mogelijkheden van geneesmiddelen toediening in het oog via een van geneesmiddelen voorzien staafje (drug-loaded ocular coil) en een daarop toegesneden niet-invasieve meetmethode (), de opoffering en het milde en soms matige ongerief dat de dieren wordt aangedaan in het voorliggende project "*Evaluation of a drug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye?*" bevestigend.

Hoewel de DEC-UM de intrinsieke waarde van het dier onderschrijft en oog heeft voor het te ondergane ongerief van de proefdieren, weegt het substantiële belang van dit project naar haar mening zwaarder.

De DEC-UM is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en de uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De onderzoekers beschikken ruimschoots over de benodigde kennis en technische expertise. Er is geen sprake van duplicatie. In de gekozen strategie wordt op bevredigende wijze tegemoet gekomen aan de vereisten van vervanging, vermindering en verfijning. De DEC-UM is er van overtuigd dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren als het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken. Er zijn voldoende go/no go momenten voorzien om onnodige dierproeven te vermijden.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Maastricht
[redacted]
Postbus 616
6200 MD MAASTRICHT

**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD107002017829

Uw referentie
uw ref

Bijlagen
1

Datum

23 MRT 2017

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [redacted]

Op 19 januari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of adrug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye" met aanvraagnummer AVD107002017829. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 7 maart 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Er zijn u vragen gesteld om uw aanvraag op bepaalde punten te verduidelijken. U heeft de vragen beantwoord en de documenten van uw projectaanvraag aangepast en opnieuw ingediend.

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.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Evaluation of adrug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye" starten, met de in de vergunning genoemde dierproeven. De vergunning wordt afgegeven van 24 maart 2017 tot en met 24 maart 2019. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat wij in overleg met u een kortere looptijd zijn overeengekomen welke meer proportioneel is voor het aantal aangevraagde dierproeven.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-UM gevoegd. Dit advies is opgesteld op 19 januari 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 geheel over aangevuld met algemene voorwaarden.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving liggen ten grondslag aan 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 gegevens 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).

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

Bijlagen

- Vergunning

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

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

deze projectvergunning voor het tijdvak 24 maart 2017 tot en met 24 maart 2019, voor het project "Evaluation of adrug-loaded ocular coil for sustained drug delivery to the eye" met aanvraagnummer AVD107002017829, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-UM.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 19 januari 2017
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij digitale indiening op 7 maart 2017;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij digitale indiening op 7 maart 2017;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie dd 19 januari 2017, ontvangen op 19 januari 2017
 - d. De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 7 maart 2017.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.1 [REDACTED] proof-of-concept study	Konijnen (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) / volwassen dieren	23	licht
3.4.4.2 Ocular pharmacokinetics study	Konijnen (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) / volwassen dieren	45	matig
3.4.4.3 Ocular efficacy study	Konijnen (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) / volwassen dieren	24	Licht/matig

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen. De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat eventuele go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 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 overleg met de IvD te

Datum

23 maart 2017

Onze referentieAanvraagnummer
AVD107002017829

melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn.

In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

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

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

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

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

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

Uit artikel 13c 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 13d 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.

<indien ontheffing aanwezig artikel 13c>

De Minister heeft <vrijstelling of 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.

<indien locatie niet van een gebruiker is>

Locatie

De vergunning wordt verleend voor een project waarbij dierproeven geheel of gedeeltelijk worden verricht buiten een inrichting van een gebruiker (artikel 10g van de wet).

<indien hond, kat of niet-menselijke primate>

Levensloopdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloopdossier bijgehouden worden.

<indien ontheffing aanwezig artikel 10e lid 7>

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e lid 7, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

<indien wilde dieren>

Wilde dieren

Het vangen van wilde dieren moet volgens artikel 10f van de wet door een deskundig persoon gedaan worden waarbij dieren zo min mogelijk pijn, lijden, angst of blijvende schade ondervinden. Gewonde dieren moeten onderzocht worden en behandeld, tenzij er een wetenschappelijke motivering is om niet te behandelen.

<indien beoordeling achteraf>

Beoordeling achteraf

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

Deze beoordeling zal uiterlijk <maand + jaar> plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van de dierproeven conform de vergunning waren.