

Inventaris Wob-verzoek W17-08										
		wordt verstrekt				weigeringsgronden				
nr.	document NTS 2017888	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1	
1	Aanvraagformulier				x		x	x		
2	NTS initieel			x						
3	Projectvoorstel			x						
4	Bijlage beschrijving dierproeven			x						
5	Ontvangstbevestiging en factuur				x		x	x		
6	DEC-Advies				x		x	x		
7	Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x		
8	NTS herzien	x								
9	Advies CCD		x						x	
10	Beschikking en vergunning				x		x	x		



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>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	50100
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	TNO
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	27376655
		Straat en huisnummer	
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>	Postbus	96800
		Postcode en plaats	2509 JE DEN HAAG
		IBAN	NL39INGB0657819271
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	TNO
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|----------------|
| Startdatum | 01 - 01 - 2018 |
| Einddatum | 31 - 12 - 2023 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------|
| Naam DEC | DEC-TNO |
| Postadres | 96800 2509 JE DEN HAAG |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 568 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
- Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur o.v.v. order nummer **3100159571/1**

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	Den Haag
Datum	28 - 02 - 2017
Handtekening	



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	geïsoleerde orgaan functie, Lever, Nier, Darm

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	<p>Het aantal patiënten met overgewicht en de daarbij behorende gezondheidsproblemen neemt toe. Deze patiënten krijgen vaak te maken met problemen waardoor de werking van de darm, de nier en de lever verstoord raken.</p> <p>Darm, nier en lever spelen een hele belangrijke rol bij zowel de opname van stoffen (met name het maag-darm kanaal), als bij het omzetten van deze stoffen (lever en darm) en het uitscheiden van stoffen (nier, lever). Begrip van deze processen (kinetiek genoemd) en interactie van stoffen in een minder functioneel orgaan kan gebruikt worden om dosering aan te passen voor deze patiënten. Daarnaast kunnen bijwerkingen voorkomen of beter voorspeld worden. Om dit te kunnen bepalen is het nodig om gebruik te maken van goede voorspelbare methode. Wij willen ex vivo (buiten het</p>
---	---

lichaam) de functie en kinetiek van stoffen bestuderen in darm, lever en nier. Deze orgaanmodellen kunnen dan gebruikt worden om kinetiek van medicijnen en voedingsstoffen in ziekte en gezondheid te bestuderen. Het doel is om deze methode op te zetten in organen van dieren maar om uiteindelijk over te gaan op menselijk materiaal (zoals afgekeurde donor organen of materiaal dat beschikbaar komt na operatie). We verwachten dat door gebruik te maken van modellen die op de mens lijken, en uiteindelijk ook humaan materiaal, de ontwikkeling van nieuwe medicijnen en therapeutica sneller kan plaatsvinden en dat deze sneller op de markt zullen komen.

Afhankelijk van de vraagstelling kan gebruikt gemaakt worden van slachthuisafval of van organen van proefdieren die voor een ander doeleinde zijn gedood. Het is echter in sommige gevallen noodzakelijk om materiaal te gebruiken van dieren die speciaal voor dit onderzoek gedood zijn.

- | | | |
|-----|---|---|
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | 1). De ontwikkeling van een model om ex vivo darm, lever en nierfunctie te kunnen bestuderen
2). Kennis over hoe bovenstaande organen invloeden van buitenaf, zoals voedingsstoffen, medicijnen of ziekteverwekkers, verwerken.
3). Kennis over de functie van bovenstaande organen en mogelijk nieuwe manieren om functie van deze organen ex vivo te kunnen meten. |
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? | Varkens, geschatte aantal bedraagt 120 dieren over periode van 5 jaar |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | 95% van de experimenten zal onder terminale anesthesie plaatsvinden
In 5% van de gevallen zullen dieren voorbehandeld worden met een stof (medicijn/voedingsmiddel). Bij voorkeur zal deze teststof worden toegediend via het voer (1%). Een deel van de proeven zal een stof worden toegediend voorafgaand aan de proef maar wel onder terminale anesthesie (2-3%). Bij 1-2% zal een injectie zonder anesthesie worden toegepast. Dit geeft licht ongerief. |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? | Terminaal (98-99%) en licht (1-2%) |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop? | Dieren zullen na afloop van de proef gedood worden. We streven ernaar om zoveel mogelijk gebruik te maken van slachtafval of restorganen van andere proeven. Ook willen we overige organen uit onze proefdieren ter beschikking stellen voor ander wetenschappelijk onderzoek. |

4 Drie V's

- | | | |
|-----|--|---|
| 4.1 | Vervanging
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. | Gebruik maken van puur in vitro systemen is voor complexe organen nog niet mogelijk. Ook is er weinig humaan materiaal beschikbaar om deze meetmethode te zetten. We willen uiteindelijk gebruik maken van humaan weefsel maar gebr als tussenstap het varken om de methode op te zetten. |
|-----|--|---|

4.2 **Vermindering**

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

We dragen bij aan het verminderen van dierproeven doordat we voor kinetiek studies gebruik willen maken organen in plaats van grote aantallen knaagdieren. We verwachten dat de methode zo robuust en voorspelbaar zal zijn dat er een veel lager aantal proefdieren nodig is. Ook zullen we, daar waar mogelijk, gebruik maken van slachtafval of restorganen afkomstig uit andere proeven en zoveel mogelijk de darm, lever en nier experimenten te combineren zodat er uit 1 dier meerdere organen gebruikt kunnen worden. Ook zullen we na isolatie van de organen de dieren en/of organen ter beschikking stellen voor overig kortdurend wetenschappelijk onderzoek dat onder terminale anesthesie plaats kan vinden. We maken nu al gebruik van bestaande nationale samenwerkingen waarbij organen gedeeld worden en daarnaast zullen we samenwerkingen opzetten met andere instellingsvergunninghouders om zoveel mogelijk toegang te krijgen tot restmateriaal. We zullen actief meewerken aan een landelijk initiatief om proefdiermateriaal te delen.

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Verfijning vindt plaats doordat we niet meer in het levende dier naar het effect van een stof willen kijken en daarvoor het gehele dier moeten behandelen (met de eventuele bijwerkingen) maar dat we direct het effect van een stof op het orgaan kunnen bestuderen.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

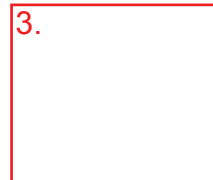
Dieren zullen bij aankomst worden geacclimatiseerd en door een bevoegd en bekwaam dierenarts onder terminale anesthesie worden gebracht

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



Format

Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

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

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Het aantal patiënten met metabole dysfunctie neemt toe. Deze patiënten krijgen vaak te maken met metabole complicaties waaronder het dysfunctioneren van de darm, de nier en de lever.

Darm, nier en lever spelen een hele belangrijke rol bij zowel absorptie van stoffen (met name het maag-darm kanaal), als bij de metabolisatie (lever en darm) en excretie van stoffen (nier, lever). Begrip van de kinetiek en interactie van stoffen in een (dys)functionerend orgaan kan in klinische setting gebruikt worden om dosering aan te passen voor specifieke omstandigheden in de patiënt (met verstoorde nier/lever/darm functie). Daarnaast kunnen bepaalde bijwerkingen die bijvoorbeeld veroorzaakt worden door drug-drug interactie voorkomen worden. Om dit te kunnen bepalen is het nodig om gebruik te maken van goede voorspelbare en translationele methode. **Wij willen ex vivo de functie en farmacokinetiek van stoffen bestuderen in darm, lever en nier. Deze ex vivo modellen kunnen dan gebruikt worden om kinetiek en metabolisme van medicijnen en nutriënten in ziekte en gezondheid te bestuderen, denk hierbij aan, o.a (verstoorde) klaring door de lever of nier en opname in de darm.** Het doel is om deze methode op te zetten in dierlijk materiaal maar om uiteindelijk over te gaan op humaan materiaal (zoals afgekeurde donor organen of materiaal dat beschikbaar komt na operatie). Het uiteindelijke doel is, door gebruik te maken van translationele modellen, en uiteindelijk ook humaan materiaal, de ontwikkeling van nieuwe medicijnen en therapeutica sneller te laten plaatsvinden en beschikbaarheid op de markt te versnellen.

Darm: Voor de darm studies willen we gebruik maken van een al bestaand systeem nl het InTESTine™ platform. Dit is een medium throughput platform, wat betekent dat we met 1 stuk darmweefsel meer dan 96 condities kunnen testen. Afhankelijk van de vraagstelling kan gebruik gemaakt worden van slachthuisafval of dieren die voor een ander doeleinde zijn gedood. Het is echter in sommige gevallen (bijvoorbeeld wanneer intacte mucosa nodig is) wenselijk om vers darmweefsel te gebruiken.

Lever en nier: We willen voor de lever en nier ook een ex vivo model opzetten om meer informatie te krijgen over hoe deze organen met triggers van buitenaf, zoals nutriënten, bacteriën of farmaca, omgaan en op welke manier ze een rol spelen in de farmacokinetiek van een bepaalde stof in ziekte en gezondheid. Farmacokinetische studies met bekende drugs zullen in dit model worden getest en vergeleken met bekende in vivo data. Als het model goed voorspellend is voor de in vivo situatie zullen het model gebruikt worden om nieuwe drugs te testen. Deze kennis zal bijdragen aan het verbeteren en versnellen van klinische studies en kan leiden tot een versnelde beschikbaarheid voor de patiënt. Ook kan men informatie verkrijgen over drug-drug interactie in organen waarin de functie verstoord is. Vooral voor de nier is er een gebrek aan goede functionele en voorspellende markers, met name vanwege de complexiteit van dit orgaan. In de kliniek is het vaak een probleem dat nierfalen pas wordt gediagnosticeerd op het moment dat patiënt zich al in een vergevorderd stadium bevindt. Daarom willen we onderzoeken of microdosering van (radioactief) gelabelde stoffen gebruikt kan worden om de lever en nier functie op een betrouwbare en veilige manier te meten en of we deze methode kunnen gebruiken om mogelijk nieuwe markers te identificeren. In het verleden is al aangetoond dat microtracing voor de darm een veilige en betrouwbare methode is.

In de voorgestelde ex vivo setup kan men heel gericht in 1 geïsoleerd orgaan naar de functie en/of farmacokinetiek van een bepaalde stof kijken.

Om de functie en de manier waarop een orgaan omgaat met stoffen goed te kunnen bestuderen is het noodzakelijk om vers/levend weefsel te gebruiken. Dit kan afkomstig zijn van slachtafval, van dieren die voor een ander doel zijn gedood maar waarvan deze organen beschikbaar zijn, van dieren die (eventueel voorbehandeld) voor een specifieke vraagstelling zijn gedood of humaan materiaal (zoals afgekeurde transplantatie organen of restmateriaal na operatie). Dit wordt verder besproken in 3.4

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?

- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het doel van het onderzoek is het bestuderen van functie, kinetiek en metabolisme van stoffen in een geïsoleerd orgaan. Het gaat hierbij specifiek om first-pass organen zoals darm, lever en nier. Dit zal in preklinische setting plaatsvinden om de methode op te zetten en te valideren. Het achterliggende doel is om de verworven kennis uiteindelijk toe te passen op humaan materiaal.

Voor de darm is al methodologische ervaring met het ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek in dierlijk materiaal.

De volgende vragen zullen o.a. beantwoord worden:

Darm:

- Wat zijn de verschillen in regionale absorptie (duodenum, jejunum, ileum, colon) van stoffen, en wat is het verschil tussen species (varken versus humaan – voor de vertaalslag heel belangrijk)? Dit helpt te bepalen in hoeverre resultaten 1:1 vertaald kunnen worden naar de mens en waar aanvullende informatie vereist is.
- Welke invloed hebben externe factoren (omgeving, stress, behandeling, ziekte, ontsteking) op de darmdoorlaatbaarheid van stoffen en hoe kunnen we die moduleren.

Voor de lever en nier zal eerst de ex vivo meet methode opgezet moeten worden. Dit is het eerste doel van deze aanvraag. Het tweede doel van deze aanvraag is om in deze ex vivo modellen de farmacokinetiek van stoffen te bestuderen in gezondheid en ziekte.

Doelstellingen voor het opzetten van de meet methode zijn oa:

- Lever en nier minimaal 4 uur stabiel laten functioneren ex vivo. Uit literatuur is bepaald dat dit de minimale tijd is die nodig is om een experiment uit te voeren waarin zowel functie als klaring van een stof kan worden bestudeerd.
- Ex vivo induceren van schade aan het orgaan zodat farmacokinetiek ook in ziek orgaan kan worden bestudeerd. Dit zal niet voor chronische schade mogelijk zijn maar wel voor acute schade.
- Identificeren van functionele en voorspellende markers voor ex vivo functie en correleren aan humane data
- Meten van farmacokinetiek van referentie stof en uitkomst vergelijken met in vivo data uit humane data sets of literatuur.

Doelstellingen voor het tweede deel zijn:

- Meten van farmacokinetiek (bijvoorbeeld drug-drug interactie) van bekende en onbekende stoffen in preklinische setup .
- Testen van functionele markers in ex vivo setup in gezonde en zieke organen.

Dit project heeft een hoge haalbaarheid doordat de betrokken onderzoeksgroepen veel expertise hebben op het gebied van farmacokinetiek en metabole ziekten. De onderzoeksgroepen hebben een brede expertise op het gebied van voorspellen en moduleren van kinetiek van oa voedingsstoffen en medicijnen in gezondheid en ziekte. De onderzoeksgroep bestaat uit onderzoekers met ruime ervaring in het bestuderen van farmacokinetiek in zowel in vivo en in vitro settings en onderzoekers die ervaring hebben met het bestuderen van metabole complicaties in vivo, waaronder leveraandoening en nierfalen. Afgelopen jaren is gewerkt aan het opzetten van een ex vivo darmmodel waarbij oa gebruik werd gemaakt van rest materiaal van varkens. De kennis hiervan wordt ook toegepast bij de praktische problemen die we tegenkomen bij de andere organen. Door deze kennis van meerdere onderzoeksgroepen binnen het instituut te combineren kunnen we optimaal gebruik maken van de aanwezig expertise binnen de onderzoeksgroepen. Ook zijn er veel (inter)nationale samenwerkingen waarbinnen de proefopzet en resultaten zullen worden getoetst.

3.3 Belang

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

Wetenschappelijk:

Doordat het aantal patiënten met metabole complicaties blijft stijgen ontstaat er een steeds grotere behoefte aan nieuwe medicatie voor deze patiënten. In deze patiënten zijn oa de lever, nier en darm aangedaan. Om gericht geneesmiddelen te kunnen ontwikkelen is het belangrijk om te begrijpen hoe stoffen door deze organen worden behandeld om zo een uitspraak te kunnen doen over mogelijke dosering, bijwerkingen en interacties met andere stoffen of geneesmiddelen. Door middel van deze studies hopen we beter inzicht te krijgen in de onderliggende mechanismen die een rol spelen bij farmacokinetiek van stoffen in de verschillende organen.

Maatschappelijk belang:

Begrip van de kinetiek en interactie van stoffen in een (dys)functionerend orgaan kan in klinische setting gebruikt worden om dosering aan te passen voor specifieke omstandigheden in de patiënt (met verstoorde nier/lever/darm functie). Daarnaast kunnen bijwerkingen door drug-drug interactie voorkomen worden. Het goed kunnen voorspellen van de effecten van nieuwe therapeutica kan bijdragen aan het reduceren van klinische trials en de kans op falen in zo'n trial verlagen, wat een kostenverlagend effect heeft. Uiteindelijk kunnen beter voorspelbare modellen ook bijdragen aan het verkorten van de tijd die nu nodig is om nieuwe therapeutica op de markt te brengen. Dit kan leiden tot goedkopere medicatie voor de patiënt. Dit heeft socio-economische impact op samenleving en maatschappij. Ex vivo experimenten met restmateriaal of slachthuis materiaal kan leiden tot vermindering van het aantal dierproeven. Betere voorspelbare modellen kunnen bijdragen aan verfijning van dierproeven.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

De onderzoeksstrategie voor de darm ziet er als volgt uit:

Voor darm:

- 1). Verder bouwen aan bestaande methodologische kennis mbv ex vivo experimenten om zo meer kennis te genereren of (dys)functie van de verschillende compartimenten van de darm in dierlijk weefsel
- 2). Validatie van deze kennis door het bestuderen van farmacokinetiek van een bekende stof in verschillende compartimenten van de darm.
- 3). Deze kennis en resultaten toetsen aan humane literatuur
- 4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier.
- 5). Verder opzetten toegang tot humaan weefsel
- 6). Opgebouwde methodologische en inhoudelijke kennis toetsen en toepassen op humaan materiaal

Voor de nier en lever weten we uit de literatuur dat het mogelijk is om de organen voor een bepaalde periode (ongeveer 6 uur) ex vivo in leven te kunnen houden. Dit moeten we eerst zelf ook praktisch kunnen uitvoeren. We maken hierbij veel gebruik van de bestaande kennis uit het transplantatie veld, we zijn op bezoek geweest bij een groep in Leicester waar ook ex vivo lever en nier experimenten worden gedaan, maar moeten dit nog wel zelf verder opzetten. Hiervoor zijn pilot experimenten nodig.

Experimenten en validatie experimenten die met de lever en de nier uitgevoerd moeten worden:

Opzetten technisch protocol, waarbij levensduur en functie de belangrijkste uitleesparameters zullen zijn. Voor functie is bij de lever is oa galproductie, bloedgas pH, glucose en lactaat een standaard uitlezing (in transplantatie setting). Voor de nier is dit oa klaring (inuline, PAH, creatinine), natrium en kalium excretie en eventueel glucose. Als we dit praktisch in de vingers hebben dan moet er gekeken worden hoe de ex-vivo organen omgaan (o.a. omzetten en excretie) met bepaalde stoffen/medicijnen waarvan bekend is hoe deze in de mens worden verwerkt in vivo (validatie-experimenten). Dit zal vergeleken worden met de literatuur en humane data.

We verwachten hierbij dat de varkens organen hierin weinig verschillen met de mens en dat de resultaten overeen zullen komen met de gegevens bekend uit literatuur. Als we dit hebben kunnen bevestigen dan zullen ook experimentele studies uitgevoerd worden waarbij medicijnen zullen worden getest die zich nog in de ontwikkelingsfase bevinden, dit zal in samenwerking met oa farmaceutische industrie worden gedaan. Ook hierbij zal de nadruk altijd zal liggen op het verbeteren van gezondheid van de mens.

De keuze om gebruik te maken van slachthuis materiaal of ex-vivo (vers) materiaal zal samenhangen met de kennis

over de stof en het type orgaan. Voor lever en nier zal voor het technische opzetten zeker gekozen worden voor restmateriaal van andere proef of slachthuis, voor experimentele vragen zal dit per te testen stof of vraagstelling bekeken moeten worden.

Deze stappen zijn ook hieronder nogmaals stapsgewijs beschreven:

- 1). opzetten mogelijkheid om ex vivo nier en lever functie en farmacokinetiek te kunnen bestuderen in dierlijk weefsel. Hierbij zal gekeken worden naar functionele parameters, als die vergelijkbaar zijn met gegevens bekend uit de transplantatie wereld kunnen we ook farmacokinetische studies uitvoeren in een werkend orgaan.
- 2). Uitvoeren van validatie studies in dierlijk weefsel waarin klaring van een bekende stof wordt getest ex vivo.
- 3). Validatie experimenten vergelijken met bekende literatuur en humane data
- 4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier.
- 5). Opgebouwde methodologie en inhoudelijke kennis toetsen en toepassen op humaan materiaal.

Het uiteindelijke doel is om met humaan weefsel de experimenten te doen. Hiervoor hebben we contact met lokale en academische ziekenhuizen, organisaties gespecialiseerd in transplantatie en is er een initiatief van TNO om een landelijke humane weefsels supply chain voor wetenschappelijk onderzoek in Nederland op te zetten.

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

Alle studies zullen plaatsvinden in organen van grote proefdieren (varkens). Afhankelijk van de vraag zal gekozen worden voor een klein of groot varken. Indien mogelijk zal gebruik worden gemaakt van slachthuismateriaal. Er wordt gekozen voor varkens omdat het maag-darm kanaal, de nier en de lever grote overeenkomsten vertonen met de mens. Voor lever en nier wordt gebruik gemaakt van apparatuur die ontwikkeld is voor de humane toepassing. Ook hiervoor is het gebruik van varkens materiaal het meest geschikt daar de anatomie grotendeels overeenkomt.

Darm: ex vivo permeabiliteits/ PK studies zullen uitgevoerd worden voor verschillende wetenschappelijke doeleinden waaronder het bestuderen van het effect van allergenen op de darmpermeabiliteit en de samenstelling en functie van de mucosa.

Lever en nier:

Opzetten van ex vivo perfusie experimenten. Indien mogelijk zullen we voor de pilot experimenten gebruik maken van organen afkomstig van dieren die voor een andere proef/andere doeleinden gedood zijn. Als methode gevalideerd is zullen studies worden opgezet om PK en drug-drug interacties van therapeutica te bestuderen.

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

Voor de darm worden regelmatig experimenten uitgevoerd om de kinetiek van stoffen (nieuwe geneesmiddelen) in de darm te bestuderen. Om een zo volledig mogelijk beeld te krijgen van de effecten van een stof kunnen we nu ook data afkomstig van verschillende organen met elkaar koppelen.

Voor nier en lever zijn er een aantal methodologische doelen die eerst behaald moeten worden. Hierbij zijn een aantal milestones en GO/NoGo momenten gedefinieerd.

Milestone 1: Lever en/of nier functioneel te houden (minimaal 4 uur) in ex vivo perfusie set up. Functie wordt bepaald door op uiterlijke kenmerken te focussen zoals kleur, urine/gal productie, maar ook op meetbare uitlezingen zoals lactaat en PH voor de lever en GFR voor de nier.

G/NG: tijdsduur moet uitwijzen of de organen lang genoeg stabiel blijven om een betrouwbaar experiment te doen
Milestone 2: Bepalen van betrouwbare functionele en/of voorspellende read outs. We willen hier bovengenoemde markers valideren en waar mogelijk uitbreiden of verfijnen.

G/NG: bekende functie markers voor lever (bijv lactaat/AST/ALT) en voor de nier (creatinine, inuline) moeten te detecteren zijn en moeten geen grote spreiding laten zien.

Milestone 3: kinetiek van referentie compound bestuderen in ex vivo setup en vergelijken met bekende in vivo data
G/NG: als waarden niet overeenkomen moet nagedacht worden of model geschikt is.

Indien bovenstaande milestones behaald zijn is het model geschikt gebleken voor het type studies dat we in de toekomst willen gaan uitvoeren en kunnen andere vragen zoals beschreven in 3.2 onderzocht worden.
Uiteindelijk is het doel om alle opgedane kennis vanuit het varken te gebruiken bij experimenten op humane organen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever/nier/darm
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	50100				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	TNO				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>3.4.4.1</td><td>Ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever/nier/darm</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	Ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever/nier/darm
Volgnummer	Type dierproef					
3.4.4.1	Ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever/nier/darm					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Uit varkens worden darmen, lever en nier geïsoleerd om ex vivo studies te kunnen uitvoeren. Organen zullen worden aangesloten op een orgaanperfusiesysteem en/of geïmplementeerd in ex vivo model en functie en kinetiek van stoffen zullen bestudeerd worden. Op die manier kan met 1 dier verschillende condities getest worden.

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

Onder terminale anesthesie zullen organen worden geïsoleerd, gecanuleerd en overgebracht naar orgaan perfusiesystemen. Hierna zal het dier worden getermineerd of ter beschikking worden gesteld voor andere onderzoeksdoeleinden.

Indien nodig dan zullen de dieren voorafgaand aan de isolatie, terwijl ze al onder anesthesie zijn, gehepariniseerd worden. Dit om stolling van bloed in de organen te voorkomen, dit kan de metingen verstoren.

Onder farmacokinetiek valt ook het bestuderen van drug-drug interacties. Hiervoor kan het nodig zijn dat er voorafgaand aan het experiment in vivo al een bepaalde plasma spiegel of concentratie van de te bestuderen stof aanwezig moet zijn om de interactie van een andere stof hierop ex vivo te kunnen bestuderen. Hiervoor kan het nodig zijn om de dieren voorafgaand aan terminatie of onder terminale anesthesie een oplaad dosis krijgen of vooraf worden behandeld met de stof. Manier van toediening zal afhankelijk zijn van de te testen stof, bij voorkeur zal oraal worden toegediend (bijvoorbeeld via het voer of met capsule), first pass effect is immers via de lever en hiervoor is dat de meest logische route. Indien

nodig zal er bloedafname, speeksel, faeces en/of urine verzameling plaats vinden.

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

Aantal dieren per studie en per groep is afhankelijk van de vraagstelling, diersoort, en belangrijkste uitleesparameters.

Omdat we voor ex vivo perfusie van lever en nier nog geen pilotdata beschikbaar hebben kan op dit moment nog geen onderbouwde poweranalyse gedaan worden. We willen eerst een pilot experiment uitvoeren waarin de eerder genoemde technologische vragen beantwoord zullen worden. Op basis van de gegevens die we zullen verkrijgen uit de eerste experimenten zal een inschatting gemaakt worden van de variatie en op basis daarvan de benodigde aantallen per studie bepaald.

Voor het geplande pilot experiment kunnen we wel gebruikmaken van de gedefinieerde functionele uitlees parameters. Voor de nier gaan we de functie uitlezen dmv glomerulaire filtratie snelheid (GFR). Deze wordt berekend uit de inuline klaring, wat tot nu toe wordt gezien als de gouden standaard meting voor nierfunctie. Omdat het uiteindelijke doel is PK studies uit te voeren in zieke organen willen we gezonde vs zieke nieren vergelijken. We gaan ziekte in de nier induceren door deze ex vivo te behandelen met een toxine of ischemie/reperfusie induceren. Voor zieke nieren gaan we uit van een GFR die 50% lager ligt dan de normale functie. Voor deze pilot houden we rekening met een standaard deviatie van 30%.

Met een alpha van 0.05 en een power van 0.8 komen we dan op een sample size van 6 dieren per groep (6 zieke en 6 gezonde nieren) om voor het pilot experiment om GFR verschillen te kunnen detecteren.

Omdat we lever en nier uit 1 dier halen is voor de lever geen aparte berekening gemaakt. Uit dit pilot experiment verkrijgen we informatie over de correlatie tussen de orgaan functie en de farmacokinetiek in dit orgaan. Dit stelt ons in staat om binnen 1 dier de klaringseffecten te koppelen aan functionele parameters, waardoor we voor vervolggexperimenten naar verwachting kunnen volstaan met 6 dieren per vraagstelling. Deze bevindingen zullen worden vergeleken met de humane data waardoor we ook een inschatting kunnen maken over de translationaliteit en de robuustheid van het model. De methode zal robuust genoeg moeten zijn om gezond en gradaties van ziekte te kunnen onderscheiden.

Daarnaast is het uiteindelijke doel om dit toe te passen in mens waarbij we ook variatie verwachten. Daarom zullen we altijd orgaan functie koppelen aan kinetiek. De data die nu in het varken wordt gegenereerd zal gebruikt worden om het humane materiaal zo efficiënt mogelijk te kunnen gebruiken en uiteindelijk zal ook de overstap worden gemaakt naar humaan materiaal.

Naar verwachting zijn 15 tot 20 experimenten met 6 varkens nodig voordat de volledige overstap naar humaan materiaal gemaakt kan worden. Uiteraard zal, indien we in de loop van het project voldoende kennis hebben opgedaan om de overstap naar humaan materiaal eerder te maken, de overstap eerder worden gemaakt.

Omdat de experimenten arbeids intensief zijn kunnen er maar max 2 dieren per maand worden ingezet (dus max 24 per jaar)=120 per 5 jaar.

Darmstudies zijn in het verleden al vaker uitgevoerd. Voor darm studies verwachten we 60 varkens nodig te hebben in een periode van 5 jaar (Omdat we met de huidige opzet 96 condities in 1 varken kunnen testen, waaronder regionale absorptie van stoffen, verschillende doseringen/formuleringen, is er veel vraag naar deze experimenten. We verwachten 1 varken per maand in te zetten voor deze doeleinden). We zullen altijd de nier/lever en darm experiment combineren.

B. De dieren

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

Diersoort en herkomst

Er zal voor deze studie gebruik gemaakt worden van volwassen SPF varkens. Afhankelijk van de vraag zal

gekozen worden voor varkens < 15 kg (minipigs), varkens van 15-60 kg of varkens > 60 kg. We hebben geen voorkeur voor bepaald geslacht en zullen gebruik maken van het dier dat op dat moment beschikbaar is.

Geschatte aantallen

Voor darm studies verwachten we 60 varkens nodig te hebben in een periode van 5 jaar (Omdat we met de huidige opzet 96 condities in 1 varken kunnen testen, waaronder regionale absorptie van stoffen, verschillende doseringen/formuleringen, is er veel vraag naar deze experimenten. We verwachten 1 varken per maand in te zetten voor deze doeleinden). Voor de lever en nier PK studie verwachten we max 120 dieren nodig te hebben. We streven er naar om darm en lever en nier studies zoveel mogelijk te combineren en zouden dan max 120 dieren nodig hebben in 5 jaar.

Onderbouwing diersoort

Wat betreft het translationele aspect en de vervolgstappen richting de mens verwachten we dat het gebruik van varkens materiaal een goede uitgangsbasis vormt voor het opzetten van de techniek, de grootte van de organen is vergelijkbaar, maar ook dat varkensmateriaal geschikt is om een voorspelling te kunnen doen voor de mens. Het maagdarm kanaal van het varken lijkt sterk op de van de mens en veel processen zijn vergelijkbaar, waardoor voor een groot aantal medicijnen de farmacokinetiek vergelijkbaar zal zijn met de mens. Er zijn echter uitzonderingen, zoals bijvoorbeeld beschreven door Dalgaard in 2015 (Comparison of minipig, dog, monkey and human drug metabolism and disposition, J. Pharmacol. Toxicol Methods, 2015), en hiermee zal dan ook rekening mee gehouden worden.

Herkomst: Alleen indien geen geschikt rest materiaal van een andere proef of slachthuismateriaal beschikbaar is, zal worden overgegaan tot het aankopen van een dier. De aangekochte varkens zijn afkomstig van een gecertificeerd SPF fokbedrijf.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Gebruik maken van puur in vitro systemen is voor complexe organen nog niet mogelijk. Ook is er weinig humaan materiaal beschikbaar om ex vivo metingen op te doen. We willen uiteindelijk gebruik maken van humaan weefsel maar gebruiken als tussenstap het varken om de methode op te zetten en te valideren.

We dragen bij aan het verminderen en verfijnen van dierproeven doordat er in 1 varken meerdere condities worden bestudeerd, darm/lever en nier functie. Ook zullen we na isolatie van de organen de dieren en/of organen ter beschikking stellen voor overig kortdurend wetenschappelijk onderzoek dat onder terminale anesthesie plaats kan vinden.

Ten eerste wordt waar mogelijk gebruik gemaakt van materiaal afkomstig uit andere experimenten of van slachthuismateriaal. Dit zal van toepassing zijn voor pilot experimenten en voor de validatie studies. Voor

overige experimenten kan nu nog niet voorzien worden of dit mogelijk is. We streven ernaar om alleen ex vivo materiaal te gebruiken als duidelijk is dat de onderzoeksvraag op vers weefsel moet worden getest en dat slachthuis materiaal geen optie is. Aan het gebruik van materiaal afkomstig uit een andere proef of dieren die voor onderwijsdoeleinden zijn gebruikt zitten wel beperkingen. Dieren kunnen een ziekte historie hebben die niet samen gaat met onze vraagstelling. Dit kan tot gevolg hebben dat voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag geen gebruik gemaakt kan worden van dieren afkomstig uit andere proeven. Voor elke onderzoeksvraag zullen we in kaart brengen in welke tijdsperiode een dier nodig is voor de studie. Dit hangt o.a. af van de onderzoeksvragen die ons door onze klanten (universiteiten, overheid en business partners) worden voorgelegd). Wij inventariseren dan in eerste instantie of binnen het tijdbestek waarin de studie kan worden uitgevoerd, een dier beschikbaar komt uit onderwijs of ander onderzoek. Hiervoor hebben wij een netwerk opgezet van onderzoekers in Nederland die met varkens werken. We maken nu al gebruik van een bestaande samenwerking met 1 instellingsvergunninghouder waarbij organen gedeeld worden en daarnaast zullen we, daar waar mogelijk, samenwerkingen opzetten met andere instellingsvergunninghouders om zoveel mogelijk toegang te krijgen tot restmateriaal. We zullen actief meewerken aan een landelijk initiatief vanuit het platform IvDs om proefdiermateriaal te delen. Alleen indien geen restmateriaal beschikbaar is zal worden overgegaan tot het aankopen van een dier. Tevens zullen we vraagstellingen voor de verschillende organen combineren; we zullen dus nooit een dier opofferen en dan maar gebruik maken van 1 orgaan, maar altijd het beschikbare materiaal optimaal benutten. Factoren die hierbij een rol spelen zijn oa de werkzaamheid van de te testen stof en de hieraan gekoppelde uitleesparameters.

Tot slot werken we ook toe naar het opzetten van een vitale humane tissue supply chain, waarbij het de bedoeling is dat dit zelfde type onderzoek gedaan kan worden met humane weefsels (afval materiaal uit OKs en/of afgekeurde donororganen). Dit is nu nog niet gerealiseerd en daarom is de huidige aanvraag van belang om de ex vivo modellen op te zetten en te valideren.

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

Dieren worden voorafgaand aan de proef 14 dagen geacclimatiseerd. Indien een test stof toegediend zal moeten worden zal dit in overleg met de betrokken IVD en dierenarts plaatsvinden om het ongerief tot het minimum te beperken. Overige handelingen zullen plaatsvinden onder terminale anesthesie.

We verwachten dat de te testen stoffen, die waarschijnlijk mede worden aangeleverd door de voedingsindustrie of de farmaceutische industrie, al zover ontwikkeld en onderzocht zijn dat deze geen nadelige effecten zullen hebben op het dier. Deze medicijnen of voedingsmiddelen/supplementen zullen al zover doorontwikkeld zijn dat ons model de stap is voordat de stoffen daadwerkelijk in klinische trials zullen worden getest, er zullen dus al veel eigenschappen van deze stof bekend zijn. Hoewel dit niet wordt verwacht, zal bij optreden van onbekende bijwerkingen die een negatieve invloed hebben op het welzijn van het dier de toediening direct worden gestopt.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

nvt

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

geen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

nvt

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

nvt

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

K. Classificatie van ongerief

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

Bij proeven waarbij alle handelingen plaatsvinden onder terminale anesthesie is de ongerief terminaal. Naar schatting is dit het grootste gedeelte van de experimenten (95%).

Bij proeven waarbij dieren vooraf behandeld worden met therapeutica of een microdosering van een tracer kan het ongerief licht zijn. We verwachten dat in maximaal 5% van de proeven een toediening voor nodig is. Bij orale toediening via het voer is geen ongerief te verwachten (1%). Bij het toediening van een oplaaddosis onder terminale anesthesie is ook geen extra ongerief te verwachten (2-3%). Als voor de oplaaddosis of microdosering een injectie of infusie nodig is die niet onder anesthesie kan plaatsvinden is het ongerief licht (1-2%).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

Organen worden geïsoleerd uit het dier

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

x Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO (Nederlandse Organisatie voor Toegepast
Natuurwetenschappelijk Onderzoek)

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**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
AVD501002017888

Bijlagen

2

Datum 1 maart 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 28 februari 2017. Het gaat om uw project "Bestuderen van functie e farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD501002017888. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:

1 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD501002017888

Datum:
1 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD501002017888

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 1 januari 2018
Geplande einddatum: 31 december 2023
Titel project: Bestuderen van functie e farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek
Titel niet-technische samenvatting: Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek
Naam DEC: DEC-TNO
Postadres DEC: 96800 2509 JE DEN HAAG
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1035,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Den Haag
Datum: 28 februari 2017

Datum:
1 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD501002017888



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO (Nederlandse Organisatie voor Toegepast
Natuurwetenschappelijk Onderzoek)

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**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
AVD501002017888

Bijlagen

2

Datum 1 maart 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 1 maart 2017

Vervaldatum: 31 maart 2017

Factuurnummer: 170888

Ordernummer: 3100159571/1

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD501002017888	€ 1035,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer:
2. Titel van het project: **Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek**
3. Titel van de NTS: **Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek**
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC TNO**
 - telefoonnummer contactpersoon: ██████████
 - e-mailadres contactpersoon: ██████████
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - X ontvangen door DEC: **14-12-2016**
 - X aanvraag compleet: **14-12-2016**
 - X in vergadering besproken: **21-12-2016**
 - X anderszins behandeld: **schriftelijke vragen voorgelegd aan indiener**
 - x termijnonderbreking(en) **van 22-12-16 tot 8-2-17 en van 20-2-17 tot 22-2-17**
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - x aanpassing aanvraag: **8-2-17 en 22-2-17**
 - x advies aan CCD: **28-2-2017**
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. **De aanvraag is afgestemd met de IvD en heeft instemming van de IvD.**

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest. Bij vragen die gericht zijn op het compleet maken van de aanvraag (aanvullingen achtergrondinformatie etc.) kan bij punten 8 en 9 worden volstaan met de vermelding van het type vragen en de vermelding dat de aanvraag op de desbetreffende onderdelen is aangepast of dat de antwoorden in de aanvraag zijn verwerkt. Bij vragen die gericht zijn op het verkrijgen van verklaringen voor keuzes die door de aanvrager gemaakt worden, kan niet worden volstaan met het weergeven van de strekking van de antwoorden tenzij de antwoorden volledig in de aanvraag zijn opgenomen. Als dat het geval is, moet dat in het DEC-advies worden benoemd en in de aanvraag inzichtelijk worden gemaakt.

8. Eventueel horen van aanvrager: **n.v.t.**
- Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrek(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **22-12-2016**
- Gestelde vraag/vragen

- 1. Het doel van dit onderzoek is voor ons niet helemaal helder. Specifiek bij 3.1 lijkt het onderzoek gericht op diabetes type 2, terwijl elders in het projectvoorstel de toepassingsmogelijkheden voor metabole complicaties veel breder lijken zijn. Kunt u duidelijk maken – consequent op verschillende plaatsen in het voorstel – wat het doel van dit project is en, indien er meerdere doelen zijn, hoe deze zich tot elkaar verhouden?**
- 2. Om een goede afweging te kunnen maken hebben wij meer informatie nodig over de haalbaarheid van het onderzoek. Ten eerste (2a) verzoeken wij u om de onderzoeksgroep te beschrijven, in relatie tot dit onderzoek. Het is hierbij niet nodig om namen of referenties te geven. Beschrijf ook de ervaring van de onderzoeksgroep met dit type onderzoek, zodat wij de haalbaarheid van de beschreven doelen kunnen inschatten. Ten tweede (2b) verzoeken wij u wat meer te vertellen over de vervolgstappen richting onderzoek met mensen of menselijk materiaal. Hoe verhouden deze onderzoeken zich tot het beschreven onderzoek? Kunt u wat meer vertellen over de interactie?**
- 3. De strategie waarmee u denkt de doelen te bereiken is voor ons niet helemaal helder. Bij 3.4, Onderzoeksstrategie, vragen wij ons af: hoe bepaalt u welke experimenten en validatie-experimenten u met darm en met lever en nier moet uitvoeren? Welke informatie uit bijvoorbeeld literatuur of experimenten op slachtmateriaal geven aan dat een experiment op ex-vivo-materiaal nodig is? Hoe bepaalt u vervolgens welke stoffen, drugs of externe factoren u moet onderzoeken?**
- 4. Daarmee samenhangend bij 3.4 of bij D van de bijlagen: wat is uw strategie om het aantal proefdieren te minimaliseren? Welke strategieën past u toe om de verschillende onderzoeksvragen dusdanig te prioriteren zodat u het ex-vivo-materiaal optimaal kunt gebruiken? Wat zijn hierbij de factoren die bepalen dat wachten op het beschikbaar komen van ex-vivo-materiaal niet mogelijk is, en dat een dier besteld moet worden?**
- 5. Om een goede afweging te kunnen maken is het nodig om goed te begrijpen hoe u aan de aantallen dieren komt die u aanvraagt. Dit is niet voldoende helder voor ons. Gebruik bij het verhelderen uw beschreven onderzoeksstrategie. Specificeer de alinea waarin u het aantal studies per jaar beschrijft. Daarnaast hebben wij gediscussieerd over hoe de factor dier een rol speelt in uw**

experimenten. U beschrijft dat u uiteindelijk naar experimenten wilt gaan waarbij maar 1 dier nodig is. Hoe borgt u in deze experimenten dat de variatie tussen dieren, en derhalve ook van het biologisch materiaal dat u gebruikt van dieren, geen systematische fout zal veroorzaken in uw experimenten? Is het niet altijd nodig om de factor dier mee te blijven nemen? Wellicht kunt u op basis van uw ervaring en historische data hierop ingaan.

- 6. In relatie hiermee: hoe borgt u, wellicht in samenwerking met de IvD, dat bij elk experiment alle benodigde stappen zijn nageleefd die ervoor zorgen dat er zo min mogelijk nieuwe dieren gebruikt hoeven te worden? Hierbij denken wij ook aan het gebruik van uw netwerk en samenwerkingsverbanden (welke?), en hoe deze keer op keer, per experiment, geraadpleegd zullen worden. Betrek in deze beschrijving zo nodig ook of in de experimenten het type varken een rol speelt.**
- 7. Om het ongerief goed te kunnen in schatten, vragen wij ons af welke typen stoffen er gebruikt zullen worden bij de experimenten waarbij de dieren vooraf behandeld worden. Hoe wordt geborgd dat het ongerief dat de dieren ondervinden niet meer dan licht zal zijn door eigenschappen van de stof (bijvoorbeeld irriterende stoffen)?**

- Datum antwoord: **8-2-2017**

- Verstrekt(e) antwoord(en)

- 1. Het doel van het project is om farmacokinetiek te bestuderen in zieke organen, waarbij de focus van het project ligt op ziekte veroorzaakt door metabool syndroom, een van de metabole complicaties is diabetes type 2. Bij metabool syndroom zijn de organen die betrokken zijn bij het klaren en omzetten van stoffen vaak aangedaan waardoor de handeling van stoffen zoals medicijnen verstoord is. Deze verstoring willen we bestuderen. Om verwarring te voorkomen is de omschrijving van diabetes type 2 uit het project voorstel gehaald. De beschrijving van achtergrond en doel zijn hiermee in lijn gebracht met het doel zoals hierboven beschreven. Alinea 3.1 is aangepast om de leesbaarheid te verbeteren en de doelstelling beter te omschrijven.**
- 2. 2a. Dit project heeft een hoge haalbaarheid doordat de betrokken onderzoeksgroepen veel expertise hebben op het gebied van farmacokinetiek en metabole ziekten. De onderzoeksgroepen hebben een brede expertise op het gebied van voorspellen en moduleren van kinetiek van oa voedingsstoffen en medicijnen in gezondheid en ziekte. De onderzoeksgroep bestaat uit onderzoekers met ruime ervaring in het bestuderen van farmacokinetiek in zowel in vivo en in vitro settings en onderzoekers die ervaring hebben met het bestuderen van metabole complicaties in vivo, waaronder leveraandoening en nierfalen. Afgelopen jaren is gewerkt aan het opzetten van een ex vivo darmmodel waarbij oa gebruik werd gemaakt van rest materiaal van varkens. De kennis hiervan wordt ook toegepast bij de praktische problemen die we tegenkomen bij de andere organen. Door deze kennis van meerdere onderzoeksgroepen binnen het instituut te combineren kunnen we optimaal gebruik maken van de aanwezig expertise binnen de onderzoeksgroepen.**

Ook zijn er veel (inter)nationale samenwerkingen waarbinnen de proefopzet en resultaten zullen worden getoetst. Dit is ook weergegeven bij 3.2

2b. Voor toepassing op humaan materiaal zijn we bezig om een vitale human tissue supply chain op te zetten. Om gebruik te kunnen maken van resectiemateriaal uit OKs en/of afgekeurd donormateriaal hebben we contact gehad met eurotransplant en de nederlandse transplantatie stichting en inzicht gekregen in de routes die gebruikt kunnen worden om deze weefsels in te zetten voor deze wetenschappelijke doeleinden. Dit is ook aangegeven in 3.4.1.

Voor vervolgstappen richting de mens zullen we gebruik maken van onze eigen praktische kennis die we op willen doen in dit project. Vice versa maken we in het huidige project ook veel gebruik van kennis beschikbaar uit de transplantatie wereld. Voor de lever hebben we hiervoor contact met oa UMC Groningen en voor de nier met UMC Utrecht, en daarnaast met OrganAssist, de leverancier van de ex vivo perfusie systemen, die veel ervaring hebben op dit gebied. Wat betreft het translationele aspect en de vervolgstappen richting de mens verwachten we dat het gebruik van varkens materiaal een goede uitgangsbasis vormt voor het opzetten van de techniek, de grootte van de organen is vergelijkbaar, maar ook dat varkensmateriaal geschikt is om een voorspelling te kunnen doen voor de mens. Het maagdarm kanaal van het varken lijkt sterk op de van de mens en veel processen zijn vergelijkbaar, waardoor voor een groot aantal medicijnen de farmacokinetiek vergelijkbaar zal zijn met de mens. Er zijn echter uitzonderingen, zoals bijvoorbeeld beschreven door Dalgaard in 2015

(Comparison of minipig, dog, monkey and human drug metabolism and disposition, J. Pharmacol. Toxicol Methods, 2015), en hiermee zal dan ook rekening mee gehouden worden. Dit is ook aangegeven in 3.4.1.

- 3. Het bepalen welke validatie experimenten uitgevoerd moeten worden doen we aan de hand van literatuur. Voor de darm weten we al welke ex vivo condities nodig zijn om stukje weefsel van het orgaan in leven te kunnen houden en de functie te bestuderen. We hebben inmiddels veel inzichten gekregen in hoe we de absorptie van stoffen kunnen bestuderen in het ex vivo model (en dit ook vergeleken met literatuur – validatie (Westerhout et al, A new approach to predict human intestinal absorption using porcine intestinal tissue and biorelevant matrices, Eur J Pharm Sci, 2014.). Experimenten en validatie experimenten die met de darm uitgevoerd moeten worden:**

Validatie: bestuderen van farmacokinetiek van bekende stof (medicijn) in verschillende compartimenten van de darm en dit vergelijken met literatuur/humane data.

Experimenten die hierop volgen zullen gericht zijn op het bestuderen van farmacokinetiek van onbekendere stoffen (therapeutische eiwitten/peptides/biologics), dit zal vaak in samenwerking met een voedingsbedrijf of de farmaceutische industrie gedaan worden, waarbij de nadruk altijd zal liggen op het verbeteren van gezondheid van de mens.

Informatie die nodig is uit literatuur of experimenten op slachthuis materiaal die aangeven dat een ex-vivo experiment nodig is is onder andere kennis over waar in het orgaan de stof/medicijn

wordt verwerkt. Bij bijvoorbeeld het bestuderen van de invloed van de samenstelling van de darmmucosa is vers materiaal van belang. Voor de darm is dit bij 3.4.1 stapsgewijs beschreven: Voor darm:

- 1). Verder bouwen aan bestaande methodologische kennis mbv ex vivo experimenten om zo meer kennis te genereren of (dys)functie van de verschillende compartimenten van de darm in dierlijk weefsel**
- 2). Validatie van deze kennis door het bestuderen van farmacokinetiek van een bekende stof in verschillende compartimenten van de darm.**
- 3). Deze kennis en resultaten toetsen aan humane literatuur**
- 4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier.**
- 5). Verder opzetten toegang tot humaan weefsel**
- 6). Opgebouwde methodologische en inhoudelijke kennis toetsen en toepassen op humaan materiaal**

Voor de nier en lever weten we uit de literatuur dat het mogelijk is om de organen voor een bepaalde periode (ongeveer 6 uur) ex vivo in leven te kunnen houden. Dit moeten we eerst zelf ook praktisch kunnen uitvoeren. We maken hierbij veel gebruik van de bestaande kennis uit het transplantatie veld, we zijn op bezoek geweest bij een groep in Leicester waar ook ex vivo lever en nier experimenten worden gedaan, maar moeten dit nog wel zelf verder opzetten. Hiervoor zijn pilot experimenten nodig.

Experimenten en validatie experimenten die met de lever en de nier uitgevoerd moeten worden:

Opzetten technisch protocol, waarbij levensduur en functie de belangrijkste uitleesparameters zullen zijn. Voor functie is bij de lever is oa galproductie, bloedgaspH, glucose en lactaat een standaard uitlezing (in transplantatie setting). Voor de nier is dit oa klaring (inuline,PAH, creatinine), natrium en kalium excretie en eventueel glucose.

Als we dit praktisch in de vingers hebben dan moet er gekeken worden hoe de ex-vivo organen omgaan (o.a. omzetten en excretie) met bepaalde stoffen/medicijnen waarvan bekend is hoe deze in de mens worden verwerkt in vivo (validatie-experimenten).Dit zal vergeleken worden met de literatuur en humane data.

We verwachten hierbij dat de varkens organen hierin weinig verschillen met de mens en dat de resultaten overeen zullen komen met de gegevens bekend uit literatuur. Als we dit hebben kunnen bevestigen dan zullen ook experimentele studies uitgevoerd worden waarbij medicijnen zullen worden getest die zich nog in de ontwikkelingsfase bevinden, dit zal in samenwerking met oa farmaceutische industrie worden gedaan. Ook hierbij zal de nadruk altijd zal liggen op het verbeteren van gezondheid van de mens.

De keuze om gebruik te maken van slachthuismateriaal of ex-vivo (vers) materiaal zal samenhangen met de kennis over de stof en het type orgaan. Voor lever en nier zal voor het technische opzetten zeker gekozen worden voor restmateriaal van andere proef of slachthuis, voor experimentele vragen zal dit per te testen stof of vraagstelling bekeken moeten worden. Deze stappen zijn ook in 3.4 stapsgewijs beschreven:

1). opzetten mogelijkheid om ex vivo nier en lever functie en farmacokinetiek te kunnen bestuderen in dierlijk weefsel. Hierbij zal gekeken worden naar functionele parameters, als die vergelijkbaar zijn met gegevens bekend uit de transplantatie wereld kunnen we ook farmacokinetische studies uitvoeren in een werkend orgaan.

2). Uitvoeren van validatie studies in dierlijk weefsel waarin klaring van een bekende stof wordt getest ex vivo. 3). Validatie experimenten vergelijken met bekende literatuur en humane data

4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier. 5). Opgebouwde methodologie en inhoudelijke kennis toetsen en toepassen op humaan materiaal.

4.

Ten eerste proberen zo veel mogelijk gebruik te maken van materiaal afkomstig uit andere experimenten of van slachthuismateriaal. Dit zal van toepassing zijn voor pilot experimenten en voor de validatie studies. Voor overige experimenten kan nu nog niet voorzien worden of dit mogelijk is. We streven ernaar om ex vivo materiaal te gebruiken als duidelijk is dat de onderzoeksvraag op vers weefsel moet worden getest en dat slachthuismateriaal geen optie is. Aan het gebruik van materiaal afkomstig uit een andere proef of dieren die voor onderwijsdoeleinden zijn gebruikt zitten wel beperkingen. Dieren kunnen een ziekte historie hebben die niet samen gaat met onze vraagstelling. Dit kan tot gevolg hebben dat voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag geen gebruik gemaakt kan worden van dieren afkomstig uit andere proeven. Voor elke onderzoeksvraag zullen we in kaart brengen in welke tijdsperiode een dier nodig is voor de studie. Dit hangt o.a. af van de onderzoeksvragen die ons door onze klanten (universiteiten, overheid en business partners) worden voorgelegd). Wij inventariseren dan in eerste instantie of binnen het tijdbestek waarin de studie kan worden uitgevoerd, een dier beschikbaar komt uit onderwijs of ander onderzoek. Hiervoor hebben wij een netwerk opgezet van onderzoekers in Nederland die met varkens werken. Alleen indien dit niet het geval is, zal worden overgegaan tot het aankopen van een dier. Ook zullen we altijd proberen om dit te combineren met vraagstellingen voor andere organen; we zullen dus nooit een dier opofferen en dan maar gebruik maken van 1 orgaan, maar altijd het beschikbare materiaal optimaal benutten. Factoren die hierbij een rol spelen zijn oa de werkzaamheid van de te testen stof en de hieraan gekoppelde uitleesparameters.

Daarnaast is het zo dat er bijvoorbeeld voor de darm studies wel 96 verschillende condities getest kunnen worden op darmweefsel van 1 dier, omdat het weefsel over verschillende vials wordt verdeeld. Tot slot werken we ook toe naar het opzetten van een vitale humane tissue supply chain, waarbij het de bedoeling is dat dit zelfde type onderzoek gedaan kan worden met humane weefsels (afval materiaal uit OKs en/of afgekeurde donororganen). Dit is nu nog niet gerealiseerd en daarom is de huidige aanvraag van belang om de ex vivo modellen op te zetten en te valideren. Dit is weergegeven in de D van de bijlage.

5. Voor de darm wordt er ongeveer 10-12 studies per jaar uitgevoerd, dit aantal is bekend uit voorafgaande jaren.

Aan de hand van de onderzoeksstrategie is het aantal dieren nogmaals aangegeven.

Voor darm:

Verder bouwen aan bestaande methodologische, fysiologische en farmacokinetische kennis mbv ex vivo experimenten om zo meer kennis te genereren of (dys)functie van de verschillende compartimenten van de darm in dierlijk weefsel. Dit zal gecombineerd worden met experimentele studies. Hiervan weten we dat er 10-12 dieren per jaar, 60 in 5 jaar gebruikt kunnen worden.

Voor de nier gaan we de functie uitlezen dmv glomerulaire filtratie snelheid (GFR). Deze wordt berekend uit de inuline klaring, wat tot nu toe wordt gezien als de gouden standaard meting voor nierfunctie. Omdat het uiteindelijk doel is PK studies uit te voeren in zieke organen willen we gezonde vs zieke nieren vergelijken. We gaan ziekte in de nier induceren door deze ex vivo te behandelen met een toxine of ischemie/reperfusie induceren. Voor zieke nieren gaan we uit van een GFR die 50% lager ligt dan de normale functie. Voor deze pilot houden we rekening met een standaard deviatie van 30%.

Met een alpha van 0.05 en een power van 0.8 komen we dan op een sample size van 6 dieren om voor het pilot experiment om GFR verschillen te kunnen detecteren. We willen het effect in zowel een gezonde als zieke omgeving bestuderen. Om effect te kunnen zien in een zieke omgeving komt men op een aantal van 6 dieren uit (6 gezond vs 6 ziek). Wij willen er echter uiteindelijk naar toe om in 1 nier eerst de klaring van de stof in de gezonde situatie bestuderen ex vivo, daarna ex vivo schade induceren en vervolgens in diezelfde kapotte nier nogmaals de klaring bestuderen. We hopen daarbij dat de diervariatie uitermate klein is dat er met een minimum aantal dieren gewerkt kan worden. Aan de hand van de onderzoeksstrategie is het aantal dieren nogmaals aangegeven.

Voor lever en nier:

1).opzetten mogelijkheid om ex vivo nier en lever functie en farmacokinetiek te kunnen bestuderen in dierlijk weefsel. Hierbij zal gekeken worden naar functionele parameters, als die vergelijkbaar zijn met gegevens bekend uit de transplantatie wereld kunnen we ook farmacokinetische studies uitvoeren in een werkend orgaan. Dit zal gecombineerd worden met 2). Uitvoeren van validatie studies in dierlijk weefsel waarin klaring van een bekende stof wordt getest ex vivo.

In de pilot (1+2), willen we het effect van een bekende stof vergelijken in een zieke vs een gezonde omgeving. We komen dan uit op 6 vs 6 dieren. Uit deze proef moet ook blijken hoe groot de variatie tussen de dieren onderling is en kunnen we in beeld brengen wat de correlatie orgaan-functie/farmacokinetiek is. Theoretisch zouden we voor alle validatie en experimentele studies gebruik kunnen maken van 6 vs 6 dieren. We verwachten echter dat de correlatie functie/farmacokinetiek erg sterk is. Daarnaast willen we in het orgaan van 1 dier eerst meten in het gezonde orgaan, daarna schade induceren en in hetzelfde orgaan nogmaals meten. Hierdoor kunnen we binnen 1 dier twee situaties na bootsen. Er zouden dan per studie 6 dieren nodig zijn. Bij 10 studies per jaar zou dit uitkomen op 60 dieren per jaar en 300 per

5 jaar. Vanwege de looptijd van 1 experiment en de bijbehorende voorbereidingen en uitwerkingen, wordt geschat dat er per jaar gemiddeld 12 experimenten uitgevoerd kunnen worden. Om de vervolgvragen te kunnen beantwoorden: (4). Testen van experimentele onbekende stoffen (voedingsstoffen/medicijnen) in ex vivo setup met varkensmateriaal verkregen uit slachthuismateriaal of, indien noodzakelijk, uit voor proef opgeofferd dier) zal de farmacokinetiek altijd worden gekoppeld aan functie, waardoor er een uitspraak gedaan kan worden over deze relatie. Als deze koppeling heel duidelijk is zal dit ook in de humane situatie worden bestudeerd.

De darm en lever/nier experimenten zullen zoveel mogelijk gecombineerd worden. We verwachten dus een maximaal aantal van 120 + 12 dieren te gebruiken.

Factor dier: We realiseren ons dat er variatie tussen de dieren bestaat en willen ook in de pilot fase in beeld brengen hoe groot de variatie is in de gezonde en zieke situatie. We verwachten echter dat we altijd in staat zullen zijn om de klaringseffecten te koppelen aan functionele parameters en zo toch in staat zullen zijn om al door 1 dier te gebruiken een uitspraak te kunnen doen. Deze bevindingen zullen worden vergeleken met de humane data waardoor we ook een inschatting kunnen maken over de translationaliteit en de robuustheid van het model. De methode zal robuust genoeg moeten zijn om gezond en gradaties van ziekte te kunnen onderscheiden. Daarnaast is het uiteindelijke doel om dit toe te passen in mens waarbij we ook variatie verwachten. Daarom zullen we altijd orgaan functie koppelen aan kinetiek. De data die nu in het varken wordt gegenereerd zal gebruikt worden om het humane materiaal zo efficiënt mogelijk te kunnen gebruiken en uiteindelijk zal ook de overstap worden gemaakt naar humaan materiaal. Dit is ook weergegeven in D in de bijlage.

- 6. Voorafgaand aan het experiment zal worden geïnventariseerd welk type materiaal nodig is en waar dit beschikbaar is. Ten eerste proberen zo veel mogelijk gebruik te maken van materiaal afkomstig uit andere experimenten of van slachthuismateriaal. Voor elke onderzoeksvraag zullen we in kaart brengen in welke tijdsperiode een dier nodig is voor de studie. Dit hangt o.a. af van de onderzoeksvragen die ons door onze klanten (universiteiten, overheid en business partners) worden voorgelegd). Wij inventariseren dan in eerste instantie of binnen het tijdbestek waarin de studie kan worden uitgevoerd, een dier beschikbaar komt uit onderwijs of ander onderzoek. Hiervoor hebben wij een netwerk opgezet van onderzoekers in Nederland die met varkens werken. In Nederland zijn initiatieven opgezet waarbij de vergunningsinstellingen aan het inventariseren zijn welke proeven er plaatsvinden en welk restmateriaal beschikbaar is voor onderzoek. We hebben aangegeven dat we hier in mee willen doen en belangstelling hebben voor het gebruik van restmateriaal. Momenteel gaat dit vnl via de UU en het UMC Utrecht, mede om logistieke redenen (het materiaal moet zo snel mogelijk naar TNO Zeist vervoerd worden, langere reistijd heeft effect op de vitaliteit en daarmee de bruikbaarheid van het orgaan). Wel zullen we gebruik maken van de kennis uit de transplantatie wereld om dit proces te verbeteren waardoor we ook gebruik zouden kunnen maken van organen die een langere reistijd hebben. Alleen geen andere opties beschikbaar zijn, zal worden overgegaan tot het**

aankopen van een dier. Ook zullen we altijd proberen om dit te combineren met vraagstellingen voor andere organen; we zullen dus nooit een dier opofferen en dan maar gebruik maken van 1 orgaan, maar altijd het beschikbare materiaal optimaal benutten. Het type varken speelt hierbij wel een rol. Voor darm experimenten kan gebruik gemaakt worden van bijna alle typen varken (afhankelijk van de vraagstelling). Voor de lever en nier perfusie experimenten is het nu nog niet mogelijk om gebruik te maken van bijv minipigs om de perfusie systemen zijn ontworpen voor humane organen en dus ook alle aansluitingen zo zijn gemaakt dat ze alleen passen op organen van vergelijkbare grootte (varken van minimaal 60 kilo). Als aansluitingen aangepast zouden kunnen worden kunnen we ook gebruik maken van kleiner materiaal. Dit is iets wat samen met de perfusie partner, OrganAssist, uitgezocht moet worden. Dit is ook weergegeven in B van de bijlage.

- 7. We verwachten dat de te testen stoffen, die waarschijnlijk mede worden aangeleverd door de voedingsindustrie of de farmaceutische industrie, al zover ontwikkeld en onderzocht zijn dat deze geen nadelige effecten zullen hebben op het dier. Deze medicijnen of voedingsmiddelen/supplementen zullen al zover doorontwikkeld zijn dat ons model de stap is voordat de stoffen daadwerkelijk in klinische trials zullen worden getest, er zullen dus al veel eigenschappen van deze stof bekend zijn. Hoewel dit niet wordt verwacht, zal bij optreden van onbekende bijwerkingen die een negatieve invloed hebben op het welzijn van het dier de toediening direct worden gestopt. Dit is ook weergegeven in bijlage D.**

- De antwoorden hebben **wel** geleid tot aanpassing van de aanvraag

- Datum: **20-2-2017**

- Gestelde vraag/vragen

Naar onze mening zijn de vragen adequaat beantwoord. We vinden echter dat de verwerking in het projectvoorstel geen recht doet aan de kwaliteit van de antwoorden. Dit omdat de antwoorden niet altijd op meest passende plaats in de vergunningaanvraag zijn geplaatst. Ook zijn er nog te veel vaagheden en inconsequenties. We verwachten bijvoorbeeld dat het gebruik van alternatieven met meer stelligheid vastgesteld wordt (geen termen als "intentie" en "proberen"). De NTS strookt niet overal met de overige documenten, bijvoorbeeld wat betreft de benodigde aantallen dieren. Wanneer deze punten in acht worden genomen, staan wij positief tegenover het projectvoorstel. Wij verzoeken u een verbeterde versie aan te leveren, waarna wij, na een schriftelijke consultatie van alle leden, tot een advies over zullen gaan.

- Antwoord:

Dank u voor uw positieve reactie. Naar aanleiding van uw opmerkingen hebben wij de antwoorden op de vragen zodanig in de projectaanvraag ingepast, dat de opbouw logisch is. Tevens hebben wij vaagheden mbt gebruik van alternatieven met meer stelligheid omschreven.

Ten aanzien van de aantallen dieren, realiseren wij ons nu dat wij in onze eerdere beantwoording inconsequent hebben doorgerekend, wat heeft geleid tot een discrepantie tussen de NTS en de overige documenten.

De berekening voor het maximaal aantal te gebruiken dieren is hieronder daarom nogmaals samengevat:

Voor de berekening van het aantal benodigde dieren wordt uitgegaan van de berekening van dieren, nodig voor lever en nier onderzoek. Het benodigde darmweefsel wordt uit dezelfde dieren gehaald, waardoor voor dit deel van het onderzoek geen extra dieren nodig zijn.

Voor lever en nieronderzoek zijn voor een eerste pilot 12 dieren nodig (zie onderbouwing in de aanvraag). Voor het beantwoorden van vervolgvragen zijn 6 varkens per experiment nodig (zie onderbouwing in de aanvraag). Naar verwachting zijn 15 tot 20 experimenten met 6 varkens nodig voordat de volledige overstap naar humaan materiaal gemaakt kan worden. Omdat de experimenten arbeidsintensief zijn kunnen er maar max 2 dieren per maand worden ingezet (dus max 24 per jaar)=120 per 5 jaar.

Uiteraard zal, indien we in de loop van het project voldoende kennis hebben opgedaan om de overstap naar humaan materiaal eerder te maken, de overstap eerder worden gemaakt.

Bij onderdeel A in de Bijlage is bovenstaande verduidelijkt waar nodig.

De NTS is hiermee weer in lijn met de aanvraag. Tevens hebben wij, op advies van de IvD, de NTS in eenvoudiger bewoordingen beschreven.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise: **n.v.t.**
- Deskundigheid expert: **n.v.t.**
- Datum verzoek: **n.v.t.**
- Strekking van het verzoek: **n.v.t.**
- Datum expert advies: **n.v.t.**
- Advies expert: **n.v.t.**

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

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, het is vergunningplichtig. Voor het bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek krijgen varkens stoffen toegediend en worden de dieren doodgemaakt om het de organen te bestuderen, dit betreft dierproeven in de zin der wet.**

Hier is geen discussie over geweest.

Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.

1. De aanvraag betreft een **nieuwe** aanvraag.
2. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja, de DEC is competent om hierover te adviseren.**
3. 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. **Er zijn geen DEC-leden uitgesloten. Daar was geen aanleiding toe.**

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*). **Ja, dit is naar ons idee een toetsbare aanvraag met voldoende samenhang. Het combineren van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever, nier en darm in een projectaanvraag biedt de mogelijkheid om kennis en materiaal optimaal te benutten. Het betreft meerdere dierproeven met een vergelijkbaar doel en een vergelijkbare opzet. Het onderzoek is in een context geplaatst van in vitro en ex vivo onderzoek op slachthuismateriaal, waarbij duidelijk is gemaakt wanneer proefdieren noodzakelijk zijn en welke strategieën worden toegepast om de verschillende stappen te zetten.**
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). **Er is bij ons geen tegenstrijdige wetgeving bekend die van toepassing zou zijn.**
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. **De DEC onderschrijft dat dit project zowel fundamenteel onderzoek als translationeel of toegepast onderzoek kan betreffen.**

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*). **Het doel van het onderzoek is het bestuderen van functie, kinetiek en metabolisme van stoffen in een geïsoleerd orgaan. Het gaat hierbij specifiek om first-pass organen zoals darm, lever en nier. Dit zal in preklinische setting plaatsvinden om de methode op te zetten en te valideren. Het achterliggende doel is om de verworven kennis uiteindelijk toe te passen op humaan materiaal. De onderzoeker heeft in de beschrijving voldoende duidelijk gemaakt dat de doelstelling in de beschreven setting haalbaar is en dat translatie naar relevante informatie voor de mens een goede kans van slagen heeft. De DEC vindt onderzoek doen naar bovenstaande doelen essentieel omdat op deze manier de verschuiving naar meetmethoden met hoge translatiewaarde en minimaal diergebruik mogelijk worden gemaakt.**
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*) **De belangrijkste belanghebbenden zijn grote aantallen darm-, lever-, en nierpatiënten, en maximaal 120 varkens die gebruikt worden als proefdier. Voor de patiënten gaat het om een betere kwaliteit van leven door goed werkende therapieën en vermindering van bijwerkingen. Voor de varkens gaat het om hun leven en soms licht ongerief door bijvoorbeeld een naaldprik. Daarnaast heeft de maatschappij als geheel belang bij deze experimenten. Goed voorspelbare modellen zullen leiden naar een kortere ontwikkelingstijd van medicijnen, wat kan leiden tot goedkopere medicatie. Ook proefdieren in het algemeen hebben een belang. Ex vivo experimenten**

met restmateriaal of slachthuismateriaal kunnen leiden tot vermindering van het aantal dierproeven. Betere voorspelbare modellen kunnen bijdragen aan verfijning en vermindering van dierproeven.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? **Nee.**

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*). **De onderzoeksgroep geeft blijk van voldoende kennis en ervaring op het gebied van farmacokinetiek en metabole ziekten. De aanvrager geeft bovendien aan nauw in contact te staan met andere deskundigen. Bovendien geeft de aanvrager blijk van samenwerking en kennisdeling binnen en buiten het instituut.**
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 beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*). **De haalbaarheid is voldoende beargumenteerd door de aanwezige expertise en interne en externe samenwerking. Ook geeft de aanvrager dat de onderzoeksgroep ruime ervaring heeft met het opzetten van een ex vivo model. De beschreven strategie geeft de DEC voldoende informatie om te verwachten dat er haalbare doelen zijn gesteld, juist ook omdat er voor de verschillende studies verschillende stadia van onderzoek zijn beschreven met voor de IvD goed toetsbare go/no-go-momenten.**

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 of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). Voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*). **De varkens zijn niet gefokt als proefdier. Bij de diersoort varken past dit binnen de richtlijn.**

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

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 richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. **De dieren worden volgens de richtlijn gehuisvest en verzorgd.**

- 11.** Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). **Het cumulatieve ongerief is naar het idee van de DEC goed ingeschat. Een klein aantal dieren krijgt eenmalig een injectie. Het merendeel krijgt terminale anesthesie.**
- 12.** Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*). **Dieren worden beperkt in hun autonomie doordat zij zonder dat zij daar voordeel van hebben stoffen toegediend krijgen en doordat zij gedood worden.**
- 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 beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **N.v.t.**

3V's

- 14.** Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **De onderzoeker maakt duidelijk dat er geen alternatieven zijn voor complexe organen als nier, darm en lever. Ook is er weinig humaan materiaal beschikbaar om ex vivo metingen op te doen. De DEC onderschrijft beide beperkingen en ziet het gebruik van het varken als een noodzakelijke tussenstap om voortgang te boeken in het onderzoek naar functie, kinetiek en metabolisme van stoffen in een geïsoleerd orgaan.**
- 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. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **Na verhelderende antwoorden op vraag 5 en een latere aanpassing is de strategie voor het te berekenen aantal dieren voor de DEC helder. De DEC benadrukt ook dat de onderzoeker oog heeft voor het optimaal benutten van het dierlijk materiaal. Het onderzoek draagt bij aan vermindering en maakt gebruik van slachtafval en restmateriaal waar mogelijk. Ook levert het onderzoek restmateriaal aan andere onderzoekers. Hiervoor is een goed netwerk aanwezig.**
- 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 beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Het effect van de stof in het lichaam wordt niet in vivo bekeken in het hele dier (wat ongerief kan veroorzaken), maar in het orgaan van een dier onder terminale anesthesie (grootste deel). Het doden van de varkens is noodzakelijk voor het behalen van de doelen. Het dier komt niet meer bij, waardoor het ongerief bij de meeste dieren terminaal blijft. Bij een klein deel wordt een injectie gegeven op de best mogelijke manier.**
- 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. Licht uw beoordeling toe. **N.v.t.**

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. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*). **Qua geslacht wordt gekeken welke dieren voorradig zijn. Zo wordt optimaal gebruik gemaakt van beschikbare proefdieren en restmaterialen.**
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 richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). **Varkens worden gedood volgens de richtlijn. Dit is noodzakelijk om de organen te isoleren en voorkomt dat de werking van stoffen in grotere aantallen levende dieren bestudeerd moet worden, wat het totale ongerief zou doen toenemen.**
20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. **N.v.t.**

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd? **De DEC is van mening dat de NTS een goede weergave is van het project en dat deze begrijpelijk is geformuleerd.**

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*). **De centrale morele vraag is: mag je 120 varkens houden en doden, en een klein deel daarvan een injectie geven, om meer te weten over dysfunctie van darm, nier en lever, ten behoeve van de ontwikkeling van therapieën voor mens-patiënten?**
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. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*). **Het aantal patiënten met metabole complicaties blijft stijgen en zo ontstaat er een steeds grotere behoefte aan nieuwe medicatie voor deze patiënten. Deze patiënten kunnen ernstig lijden door het falen van organen. Lever, nier en/of darm kunnen aangedaan zijn. Het gaat dus om grote belangen van grote aantallen patiënten met mogelijk ernstige aandoeningen. Bij de dierproeven en bij de verzorging, behandeling en huisvesting van de dieren wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven. Desondanks zullen er**

binnen dit project maximaal 120 varkens terminaal ongerief ondervinden, en sommige licht ongerief, door respectievelijk het overlijden en door injecties.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*). **De DEC acht het ethisch toelaatbaar om 120 varkens te houden en te doden, en een klein deel daarvan een injectie te geven, om meer te weten te komen over dysfunctie van darm, nier en lever, ten behoeve van de ontwikkeling van therapieën voor de mens. Er is voldoende kennis en kunde aanwezig bij de instelling en in het netwerk daaromheen om dit onderzoek goed te doen. Alternatieven (voornamelijk het gebruik van slachtafval) zijn opgenomen in de strategie, 3V-methoden. Het ongerief is nooit meer dan licht. De DEC acht het haalbaar dat door het uitvoeren van deze studies informatie wordt gegenereerd in een preklinische setting, zodat in de nabije toekomst de onderzoeksmethodiek en de validatie-informatie bruikbaar is om toe te passen op humaan materiaal. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd is.**

E. Advies

1. Advies aan de CCD
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
 - Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...
 - De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...
2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).
Het advies is unaniem.
3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

De DEC was na lezing van de eerste versie van het projectvoorstel al positief over de strekking van het onderzoek en het gebruik van alternatieven en 3V-methoden. Echter, zij had een aantal vragen die het maken van een precieze afweging bemoeilijkten. Het ging hierbij vooral om hoe geborgd was dat alternatieven benut werden, om haalbaarheid, maar ook om de precieze vaststelling van het aantal benodigde dieren. De uitleg door de aanvrager is voldoende gebleken en heeft niet tot nieuwe discussie geleid. Ook maakte de letterlijke verwerking van de antwoorden in de projectaanvraag het wegen moeilijk. De DEC heeft gevraagd aan de onderzoeker om de aanvraag te herzien en de antwoorden niet integraal op te nemen in de aanvraag.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**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
AVD501002017888

Datum 10 maart 2017

Betreft Aanvulling aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 28 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestuderen van functie e farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" met aanvraagnummer AVD501002017888. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Onduidelijkheden

In de NTS staat onder 3.1 beschreven: "Het aantal patiënten met overgewicht en de daarbij behorende gezondheidsproblemen neemt toe." Dit suggereert dat uw onderzoek enkel op mensen met overgewicht is gericht. Uit het Projectvoorstel blijkt echter dat uw onderzoek zich richt op patiënten met metabole dysfunctie; waarvan overgewicht de oorzaak kan zijn. Hiermee geeft de NTS geen goed beeld van uw onderzoek. Wilt u de NTS aanpassen zodat het doel van uw project duidelijker is weergegeven?

Leges

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

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

Opsturen binnen veertien dagen

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

Datum:

10 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD501002017888

Wanneer een beslissing

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**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
AVD501002017888
Bijlagen
1

Datum 24 maart 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 28 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" met aanvraagnummer AVD501002017888. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 14 maart 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof een nieuwe NTS.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

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

U kunt met uw project "Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat een project voor maximaal 5 jaar vergund kan worden.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-TNO gevoegd. Dit advies is opgesteld op 28 februari 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel

10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

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

Datum:
24 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD501002017888

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

ir. G. de Peute
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: TNO
Adres: Postbus 96800
Postcode en plaats: 2509 JE DEN HAAG
Deelnemersnummer: 50100

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022, voor het project "Bestuderen van functie en farmacokinetiek in organen (darm/lever/nier) voor wetenschappelijk onderzoek" met aanvraagnummer AVD501002017888, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 28 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 28 februari 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 14 maart 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 28 februari 2017, ontvangen op 28 februari 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 14 maart 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Ex vivo bestuderen van functie en farmacokinetiek van stoffen in lever/nier/darm				
	Varkens (<i>Sus scrofa domesticus</i>) /	120	98% Terminal 2% Licht	

Voorwaarden

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

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

Aanvraagnummer:
AVD501002017888

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



Aanvraagnummer:

AVD501002017888

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

Aanvraagnummer:
AVD501002017888

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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

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