

	Inventaris Wob-verzoek W17-17								
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	Documenten 2017946	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier				x		x		
2	Projectvoorstel				x	x	x	x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage dierproeven 1 oud				x	x	x	x	
5	Bijlage dierproeven 2				x	x	x	x	
6	DEC-advies				x		x		
7	Ontvangstbevestiging				x		x		
8	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x		
9	Reactie verzoek aanvulling				x		x		
10	Niet-technische samenvatting nieuw	x							
11	Bijlage dierproeven 1 nieuw				x	x	x	x	
12	Adviesnota CCD		x						x
13	Beschikking en vergunning				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.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 11800 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40%;">Naam instelling of organisatie</td> <td>Academic Medical Center Amsterdam</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td>[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>3 4 3 3 6 2 7 7 7 .</td> </tr> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Meibergdreef [Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td>[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>1105AZ Amsterdam</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL68RABO0136166741</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	Academic Medical Center Amsterdam	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]	KvK-nummer	3 4 3 3 6 2 7 7 7 .	Straat en huisnummer	Meibergdreef [Redacted]	Postbus	[Redacted]	Postcode en plaats	1105AZ Amsterdam	IBAN	NL68RABO0136166741	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC
Naam instelling of organisatie	Academic Medical Center Amsterdam																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]																	
KvK-nummer	3 4 3 3 6 2 7 7 7 .																	
Straat en huisnummer	Meibergdreef [Redacted]																	
Postbus	[Redacted]																	
Postcode en plaats	1105AZ Amsterdam																	
IBAN	NL68RABO0136166741																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC																	
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40%;">Straat en huisnummer</td> <td>Meibergdreef [Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td>[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>1105AZ Amsterdam</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL68RABO0136166741</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC</td> </tr> </table>	Straat en huisnummer	Meibergdreef [Redacted]	Postbus	[Redacted]	Postcode en plaats	1105AZ Amsterdam	IBAN	NL68RABO0136166741	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC						
Straat en huisnummer	Meibergdreef [Redacted]																	
Postbus	[Redacted]																	
Postcode en plaats	1105AZ Amsterdam																	
IBAN	NL68RABO0136166741																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Zie bijgesloten procedure voor betaling AMC																	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>[Redacted]</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>0 2 0 5 6 6 5 7 4 9</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td>[Redacted]</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	Functie	[Redacted]	Afdeling	[Redacted]	Telefoonnummer	0 2 0 5 6 6 5 7 4 9	E-mailadres	[Redacted]						
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]																	
Functie	[Redacted]																	
Afdeling	[Redacted]																	
Telefoonnummer	0 2 0 5 6 6 5 7 4 9																	
E-mailadres	[Redacted]																	
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[Redacted]</td> <td style="width: 20%;">☐ Dhr. ☐ Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>[Redacted]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td>[Redacted]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td>[Redacted]</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td>[Redacted]</td> <td></td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☐ Dhr. ☐ Mw.	Functie	[Redacted]		Afdeling	[Redacted]		Telefoonnummer	[Redacted]		E-mailadres	[Redacted]		
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☐ Dhr. ☐ Mw.																
Functie	[Redacted]																	
Afdeling	[Redacted]																	
Telefoonnummer	[Redacted]																	
E-mailadres	[Redacted]																	

- | | | | |
|-----|--|--|--|
| 1.6 | (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning. | (Titel) Naam en voorletters | ☐ Dhr. ☐ Mw. |
| | | Functie | |
| | | Afdeling | |
| | | Telefoonnummer | |
| | | E-mailadres | |
| 1.7 | Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde? | ☐ Ja > <i>Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag</i>
☒ 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 <i>wijziging</i> 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 <i>melding</i> 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 | 0 1 _ 1 0 _ 2 0 1 7 |
| | | Einddatum | 0 1 _ 1 0 _ 2 0 2 2 |
| 3.2 | Wat is de titel van het project? | Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection. | |
| 3.3 | Wat is de titel van de niet-technische samenvatting? | Schildklierhormoon is belangrijk voor de functie van witte bloedcellen tijdens infectie. | |
| 3.4 | Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt? | Naam DEC | DEC AMC |
| | | Postadres | Meibergdreef 31 |
| | | E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1287.00 Lege
- ☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☒ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

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

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening





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.

Bacterial infections are very common and a major cause of death. Bacterial infections are associated with altered expression of enzymes that regulate cellular thyroid hormone (TH) availability. The thyroid gland produces the prohormone thyroxine (T4) and, to a lesser extent, the biologically active TH triiodothyronine (T3). Cellular TH concentrations depend not only on serum TH levels, but also on the activity of TH converting enzymes (deiodinases). Type 3 deiodinase (D3) is the major TH inactivating enzyme, as it catalyzes the conversion of both T4 and T3 into inactive forms.

defense. Neutrophils are the first cells to be recruited to the site of inflammation and are the most abundant type of blood leukocyte. Upon inflammation and infection, neutrophils from the circulation are recruited to the site of inflammation. Neutrophils are highly specialized cells that have multiple microbial killing mechanisms at their disposal. The three main killing mechanisms utilized by neutrophils are degranulation, the production of reactive oxygen species (ROS) using the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase system and the generation of neutrophil extracellular traps (NETs). NETs consist of a web-like structure of chromatin and bactericidal proteins and can then trap and kill extracellular pathogens. NETosis is highly regulated and eventually results in the death of the neutrophil. In severe bacterial infections clinical outcome is determined by the ability of neutrophils to kill pathogens. Defects in the killing of microorganisms enhances susceptibility to infection.

function. In contrast, preliminary work showed that displayed reduced bacterial load in the spleen compared to WT counterparts following *S. pneumoniae* infection (unpublished). These preliminary results suggest a significant role for type 3 deiodinase in neutrophil function, the mechanism involved is however incompletely understood and it's also unclear if type 3 deiodinase (and thus altered TH availability) contributes to host defense and recovery.

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?

We hypothesize that intracellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection. This project aims to answer two research questions:

1) Does altered thyroid hormone availability in the neutrophil result in altered bacterial clearance capacity of the host?

2) What is the effect of altered thyroid hormone availability in the neutrophil on neutrophil-specific function and transcriptome?

This project expects to have the following impact:

A better understanding of the role of neutrophil-specific thyroid hormone action in cellular pathways and/or mechanisms common to the pathogenesis of bacterial sepsis. Animal studies will identify the underlying cellular and molecular basis of the functional role of thyroid hormone in the neutrophil.

With regard to the hypothesis investigated: by now has been clearly demonstrated in human and mouse neutrophils. In addition, our preliminary results indicate a functional role (unpublished data). However, the underlying mechanism has not been studied yet. We aim to do this via analyzing the functional aspects of neutrophils and the neutrophil-specific transcriptome.

The animal experiments proposed contain no major risks, as we have ample experience with the techniques described and the targeted mutant mice are available to us. Our research group has

extensive experience in performing functional assays in primary cells and a track record in molecular thyroidology.

3.3 Belang

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

We hypothesize that cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection. If confirmed, this mechanism is extremely relevant for the functional response of neutrophils during bacterial infections in particular in view of the importance of the innate immune response for host defence in Intensive care unit (ICU) patients. The outcome of this project increases our knowledge about the innate immune response during bacterial infection (scientific relevance) but is also likely to lead to novel therapeutic intervention strategies. The development of novel therapeutic approaches in septic ICU patients based on increased insight into the pathogenesis of sepsis represents an unmet medical need (social relevance).

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Preliminary work suggests a functional role for reduced intracellular thyroid hormone concentrations in infiltrating neutrophils during infection. The mechanisms involved are however unknown. We have formulated the following aims based on *in vivo* (infection) experiments and *in vitro* (functional assays/transcriptome) in order to study in this project:

a) To determine the effect of altered thyroid hormone availability in the neutrophil on bacterial clearance capacity of the host.

[Redacted text block]

[Redacted text block]

and spleen will be determined. Bacterial outgrowth is a measure for the bacterial killing capacity of the host. Once determined and different compared to WT controls, neutrophils will be used for functional assays and measuring the transcriptome.

This study will determine if host bacterial clearance capacity is regulated by neutrophil thyroid hormone availability.

b) To determine the effect of modulation of thyroid hormone availability in the neutrophil on neutrophil-specific function using bone marrow derived neutrophils.

To determine the effect of altered neutrophil thyroid hormone availability on neutrophil specific functions we will perform apoptosis, MPO activity, NADPH oxidase activity, phagocytosis and chemotaxis assays.

[Redacted text block]

We will use bone marrow derived neutrophils as a representative for blood derived neutrophils because of the fact that the isolation procedure is easier and the yield higher. These cells will be harvested from untreated mice.

c) To determine the effect of modulation of thyroid hormone availability in the neutrophil on transcriptome using bone marrow derived neutrophils.

To identify the key T3-target genes in neutrophils we will use RNAseq analysis to determine the

The experiments will be done with bone marrow derived neutrophils. These cells will be harvested from untreated mice.

These studies will identify the underlying cellular and molecular basis of the functional role of thyroid hormone availability in the neutrophil.

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

To determine the effect of altered thyroid hormone availability in the neutrophil on bacterial clearance capacity of the host – infection experiments (type dierproef 1)

To determine the effect of modulation of thyroid hormone availability in the neutrophil on neutrophil-specific function and transcriptome (type dierproef 2).

See section 3.4.3

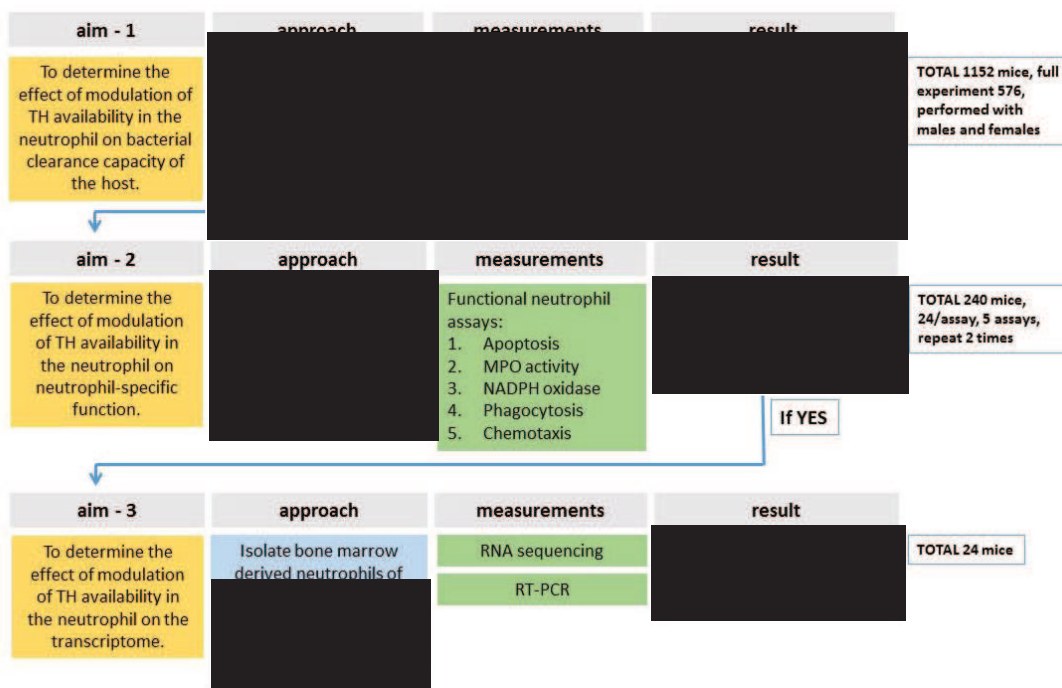
3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Phase 1: Bacterial killing capacity of the neutrophil is determined by a combination of functional aspects of the cell. The *in vivo* experiments will show whether altering **local** thyroid hormone levels affects the bacterial killing capacity of the host.

Phase 2: Once establish the role of thyroid hormone, ***in vitro* experiments** are necessary to determine the functional role, we therefore aim to perform functional assays with bone marrow derived neutrophils from mice that over express [REDACTED] and mice that do not have [REDACTED]

Phase 3: Performing **RNA sequencing on bone marrow derived neutrophils** from mice that over [REDACTED]

responsive on local thyroid hormone availability and performing this analysis with mouse neutrophils can therefore result in unraveling the mechanisms involved in altered function.



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

Volgnummer	Type dierproef
1	Infection experiments with transgenic and WT mice
2	Isolation bone marrow derived neutrophils from transgenic and WT mice
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



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	Schildklierhormoon is belangrijk voor de functie van witte bloedcellen tijdens infectie.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Ontsteking, schildklierhormoon, witte bloedcel

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	☒ Fundamenteel onderzoek
	☒ Translationeel of toegepast onderzoek
	☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	☐ 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 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Tijdens een ernstige infectie treden er belangrijke veranderingen op in de stofwisseling van het schildklierhormoon. In het bloed vinden we een lagere concentratie van dat hormoon, en de eiwitten die zorgen voor de productie en de afbraak functioneren anders dan normaal. Wij denken, op basis van een langlopend onderzoek in ons laboratorium, dat de hoeveelheid schildklierhormoon die beschikbaar is voor een speciale witte bloedcel (neutrofiele granulocyt) belangrijk is bij de afweer tegen infecties. Met deze serie experimenten willen we aantonen dat als je de hoeveelheid schildklierhormoon in de cel aanpast, de functie van de cel bij een infectie ook verandert. En we willen weten waarom dat zo werkt. Met deze experimenten willen we de volgende vragen beantwoorden:
---	---

1. Bepaalt de hoeveelheid schildklierhormoon in de neutrofiele granulocyt de ernst van een bacteriële infectie?
2. Wat doet dat hormoon in de neutrofiele granulocyt?
3. Op welke processen in de cel heeft het schildklierhormoon invloed?

Deze serie experimenten hebben als gevolg dat we beter snappen hoe neutrofiele granulocyten werken en op welke processen in de cel schildklierhormoon van invloed is.

We hopen in de toekomst de werking van de cel zo te kunnen beïnvloeden dat de infectie sneller geneest. |

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

|Wanneer we bovenstaande vragen hebben beantwoord, gaan we nieuwe behandelstrategieën ontwikkelen voor patiënten met een ernstige bacteriële infectie. Dat is extra belangrijk voor patiënten met een bloedvergiftiging op de intensive care, aangezien het sterftcijfer voor bloedvergiftiging nog altijd hoog is. |

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

|Er worden ongeveer 1400 transgene muizen gebruikt; dit zijn muizen die zo gefokt zijn dat ze een verandering in hun DNA hebben waardoor ze een specifiek eiwit niet of in grote hoeveelheden maken. |

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

|De bacteriële infectie waaraan het merendeel van de muizen (78%) wordt blootgesteld geeft amper klachten; we noemen dit gering ongerief. Dit komt doordat de tijdsduur van de infectie kort is en de muizen nog niet echt ziek zijn wanneer ze afgemaakt worden. De overige muizen (22%) zitten langer in de proef na de infectie en worden daar een beetje ziek van; we noemen dit matig ongerief. Daarnaast worden er ook muizen gebruikt die niet behandeld zijn, omdat we uit deze muizen cellen kunnen isoleren waarmee we proeven doen. Deze cellen worden geïsoleerd uit beenmerg. De dieren die hiervoor gebruikt gaan worden hebben licht ongerief. |

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

|Het project beschrijft een serie aan experimenten waarbij gestart wordt met infectie-experimenten. Deze experimenten geven het meeste ongerief maar geven wel antwoord op de vraag of schildklierhormoon een rol speelt. Daarna zullen we experimenten doen met witte bloedcellen geïsoleerd uit onbehandelde muizen; dit geeft licht ongerief. |

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

|Aan het eind van de proef worden de muizen gedood, omdat organen gebruikt worden voor laboratoriumonderzoek. |

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.

|Neutrofielen zijn witte bloedcellen en de eerste cellen die bij een infectie die wordt veroorzaakt door een bacterie, geactiveerd worden. Neutrofielen hebben verschillende mechanismen waarmee ze bacteriën doden. We bestuderen dit aan de hand van de bacteriegroei in de long (lokale infectie), milt (infectie verspreidt zich) en bloed (sepsis). Omdat we meerdere organen tegelijk bekijken en de respons in de long het verdere verloop van de infectie beïnvloedt, kunnen deze experimenten niet in een cel-model gedaan kunnen worden. |

4.2 Vermindering Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Voor de start van een experiment berekenen we de benodigde muizen met behulp van een statistische test die gebaseerd is op de variatie in de uitkomst. Deze variatie hebben we al vastgesteld middels pilot experimenten. Op deze manier gebruiken we niet te veel dieren.
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.	De experimenten worden uitgevoerd met zowel mannetjes als vrouwtjes muizen; dit om geen fokoverschot te genereren. De experimenten worden gedaan met muizen die genetisch zo aangepast zijn dat alleen hun witte bloedcellen veranderd zijn. We noemen dit conditionele transgene muizen. In het algemeen levert het gebruik van conditionele transgene muizen een beter resultaat op dan wanneer er gebruikgemaakt wordt van niet-conditionele transgene dieren. Ook is de spreiding in de uitkomstmaat kleiner. Op deze manier kunnen er dus ook minder dieren gebruikt worden.
Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	We observeren de muizen twee keer per dag en hebben humane eindpunten die we toepassen om erger ongerief te voorkomen. In geval van twijfel raadplegen we de IvD.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	
Beoordeling achteraf	
Andere opmerkingen	



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.	11800	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Academisch Medisch Centrum	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		1	Infection experiments with transgenic and WT mice

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.

Het schildklierhormoon inactiverende enzym D3 lijkt een belangrijke rol te spelen in de functie van bepaalde witte bloed cellen (neutrofiële granulocyten). Muizen die geen D3 hebben zijn minder goed in staat bacteriën te doden. We weten echter niet of dit komt omdat er geen D3 aanwezig is in de witte bloedcel of omdat hun schildklierhormoon metabolisme in z'n geheel beïnvloed is.

onderzoeken of de muizen verschillen in de manier waarop ze een bacteriële infectie ondergaan.

worden geïnfecteerd met verschillende doses *Streptococcus pneumoniae* en de primaire uitkomst is de hoeveelheid bacteriën in de long, milt en bloed op verschillende tijdstippen na infectie. We kiezen voor een *S. pneumoniae* infectie omdat de respons op deze infectie voornamelijk neutrofiel gemedieerd is, bovendien

concentraties in de cel. Het meten van TH concentraties in de cel is dus geen primaire uitkomstmaat.

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.

We testen **3 doseringen *S. pneumoniae*** in de range van 10^4 - 10^5 intranasaal, toegediend onder korte isofluraan anesthesie op **3 verschillende tijdstippen** (t=16, 24 en 40 uur). Aan het eind van het experiment (na 16, 24 en 40h wordt bloed afgenomen en organen uitgenomen, bacterie uitgroei wordt

bepaald in bloed, milt en longen. Pilot experimenten hebben aangetoond dat de ernst van de infectie mogelijk van belang is voor de bijdrage van D3. Met drie doseringen willen we dit testen. De pilots die we gedaan hebben hadden als eindpunt $t=40h$, we weten niet hoe snel D3 een effect heeft. Dit willen we testen door op verschillende tijdstippen te kijken.

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

Eerdere resultaten hebben laten zien dat er veel variatie zit op het infecteren van muizen (SD is 50%) wat tot uiting komt in de uitgroei in diverse organen. Uitgaande van een effect grootte van 50%, een power van 80% en een α van 5% komen we uit op een groepsgrootte van $n=16$. [$n = 2 * (1.96 + 0.84)^2 * (0.50)^2 / (0.5)^2$, $n = 15.68 * (0.25 / 0.25) = 16$]. De uitgroei wordt uitgedrukt in log cfu/gram orgaan. Afhankelijk van de verdeling wordt er parametrisch of non-parametrisch getoetst.

B. De dieren

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

[Redacted content]

Alle experimenten zijn in vivo experimenten met transgene muizen en bijbehorend wild type uit eigen fok. Deze muizen zijn door hun genetische make up geschikt om onze experimenten mee te doen. In het geval [Redacted] gebruiken aangezien [Redacted] We doen de experimenten met zowel mannetjes als vrouwtjes omdat de immuunrespons geslachtsafhankelijk is. De dieren worden gebruikt tussen 8-16 weken, eerdere studies hebben aangetoond dat dit tijdsframe gebruikt kan worden.

De groepsgrootte is $n=16$. We testen drie doseringen en drie tijdstippen, in totaal 144 muizen per genotype. We hebben 4 genotypes, totaal 576 muizen per compleet experiment (= alle tijdstippen en alle doseringen). **Elk experiment wordt een keer gedaan met zowel mannetjes als vrouwtjes. In totaal geeft dit 1152 muizen.**

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.

[Redacted content]

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.

[Redacted content]

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

Om te bepalen hoe belangrijk het voor een neutrofiel is om heel veel (D3 knock down) of geen (D3 over-expressie) schildklierhormoon te hebben is het belangrijk om een duidelijke uitkomstmaat te hebben. Neutrofielen zijn de eerste cellen die bij een infectie geactiveerd worden en noodzakelijk voor de ontstekingsrespons. Neutrofielen hebben verschillende mechanismen waarmee ze bacteriën doden. We

monitoren dit aan de hand van de bacterie uitgroei in de long (lokale infectie), milt (infectie verspreidt zich) en bloed (sepsis). Het is daarom dat deze experimenten niet in een cel model gedaan kunnen worden.

Vermindering

We verminderen het aantal dieren tot een minimum gebaseerd op een statistische poweranalyse waarbij we de effect grootte weten vanuit eerdere pilots. Deze pilots zijn oa gedaan op tijdstip 40h maar ook op t=16h. Daarnaast maken we gebruik van cel-specifieke transgene muis modellen, deze zogenaamde conditionele muizen hebben als voordeel dat de modificatie alleen aanwezig is in de cel van interesse (in ons geval de neutrofiel). Op deze manier heb je geen last van effecten van de modificatie op andere orgaansystemen wat de uitkomst kan beïnvloeden omdat het daardoor onzeker blijft of je interventie een effect heeft (en er dus meer proeven gedaan moeten worden).

Verfijning

We nemen verscheidene maatregelen om onze experimenten te verfijnen. We laten de dieren minimaal een week acclimatiseren in de proefopstelling teneinde stress te verminderen. Daarnaast worden ze in een groep gehuisvest. Voor dat deze serie experimenten wordt uitgevoerd checken we XXXXXXXXXX granulocyt. Deze moet > 90% zijn.

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.

We monitoren het welzijn van onze dieren twee keer per dag gedurende het experiment aan de hand van de volgende criteria: piloerectie, alertheid, gedrag, lichaamshouding.

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 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.

We inoculeren onder kortdurende anesthesie en ook de hartpunctie wordt onder algehele verdoving gedaan. De infectie zelf leidt ook tot ongerief maar aangezien ontstekingsremmers als pijnbestrijding de infectie beïnvloeden en dus het experiment kunnen we dit niet geven. Pijnbestrijding op zich doet bovendien niets aan het gevoel van ziekzijn.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Intranasale inoculatie onder kortdurende anesthesie: gering ongerief.
Algeheel ziek voelen, longontsteking, mogelijk voor sommige muizen kortademig, tgv de *S. pneumoniae* infectie, afhankelijk van de bacterieconcentratie en de duur zal dit gering zijn bij lage concentratie en korte duur en matig bij hoge concentratie en lange duur van de infectie.
Anaesthesie voor het doden van de dieren is gering ongerief.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De anesthesie toediening, *S. pneumoniae* infectie in de longen.

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

Anesthesie bij intranasale toediening van de bacterie suspensie, anaesthesie voorafgaand aan hartpunctie en twee maal daagse controle om HEPs toe te kunnen passen als het ongerief ernstig zou worden

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.

Als HEP worden de volgende criteria aangehouden, lichaamshouding, bolle rug, inactief, piloerectie, isolatie van de groep. Lichaamsgewicht wordt bijgehouden maar dit is alleen relevant bij tijdstip t=40h. Indien gewichtsafname >15% tussen 24 en 40 uur is, worden de muizen gedood.

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

Van de 1152 dieren die geïnfecteerd worden krijgt 1/3 de hoogste dosis. Een derde daarvan zit 40h in de proef (=128 dieren, 11%). Ik verwacht op basis van eerdere experimenten dat minder dan 10% van die groep vraagt om het toepassen van HEP. Van de totale hoeveelheid dieren dus < 1%.

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.

Licht ongerief voor lage en midden bacterie dosis voor alle tijdstippen. Licht ongerief voor hoogste bacterie-dosis kort tijdstip (= 78%) en matig ongerief voor hoogste bacterie dosis t=24 en 40h (= 22%).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

☒ Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.
Organen worden gebruikt voor metingen
Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?
☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.
☒ Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	11800				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	AMC				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="0"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Volgnummer</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Type dierproef</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">2</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Isolation bone marrow derived neutrophils from transgenic and WT mic</td> </tr> </table>	Volgnummer	Type dierproef	2	Isolation bone marrow derived neutrophils from transgenic and WT mic
Volgnummer	Type dierproef					
2	Isolation bone marrow derived neutrophils from transgenic and WT mic					

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.

Het schildklierhormoon inactiverende enzym D3 lijkt een belangrijke rol te spelen in de functie van bepaalde witte bloed cellen (neutrofiële granulocyten). D3 is een enzym dat schildklierhormoon (T3 en T4) afbreekt en bepaalt daardoor de hoeveelheid schildklierhormoon in de cel. Neutrofielen zijn witte bloedcellen die belangrijk zijn bij het bestrijden van een infectie. Ze leven kort en zijn makkelijk te activeren.

isoleren uit het beenmerg en er vervolgens functionele in vitro testen (apoptosis, MPO activity, NADPH oxidase activiteit, fagocytose en chemotaxis = uitkomstmaat) mee doen. Daarnaast willen we kijken welke genen worden beïnvloedt tijdens activatie en of de hoeveelheid schildklierhormoon in de cel hiervoor bepalend is. Hiervoor gebruiken we RNA wat geïsoleerd is uit deze neutrofielen. De uitkomstmaat is een overzicht aan genen die tot expressie komen na activatie van de cel al dan niet met hoge schildklierhormoon concentraties.

Alle in vitro experimenten zullen drie keer worden uitgevoerd. Met deze experimenten krijgen wij belangrijk inzicht in de rol van schildklierhormoon in de verschillende mechanismen die een neutrofiel heeft om bacteriën te bestrijden. Met behulp van RNA sequencing kijken we op moleculair niveau welke genen hierin een rol spelen.

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.

Dieren worden onder CO₂ geëuthanaseerd (< 5 min). Tibia en femurs worden geïsoleerd en beenmerg uitgespoeld Tibia en femurs van 1 muis worden gepoeld. Neutrofielen worden geïsoleerd en gebruikt voor *in vitro* testen.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot

een minimum te beperken.

Eerdere resultaten hebben laten zien dat de grootste variatie op de in vitro testen rond de 30% ligt (SD=30%). Uitgaande van een effect grootte van 50%, een power van 80% en een α van 5% komen we uit op een groeps grootte van $n=6$. [$n = 2 * (1.96 + 0.84)^2 * (0.30)^2 / (0.5)^2$, $n = 15.68 * (0.16 / 0.25) = 5,6$]. Pilots hebben laten zien dat deze groeps grootte voldoende is.

B. De dieren

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

[Redacted content]

Alle experimenten worden gedaan met geïsoleerde neutrofielen uit beenmerg van transgene muizen en bijbehorend wild type (mannetjes en vrouwtjes). De muizen worden door ons zelf gefokt en zijn door hun genetische make up geschikt om onze experimenten mee te doen. In het geval [Redacted] muizen kunnen we zowel homozygote als heterozygote muizen gebruiken aangezien is aangetoond dat de [Redacted]. De dieren worden gebruikt tussen 8-20 weken, eerdere studies hebben aangetoond dit tijdsframe gebruikt kan worden. We doen 5 functionele *in vitro* testen, $n=6$ per groep, 4 groepen. Per test dus 24 muizen, van elke muis worden de cellen met en zonder stimulus gebruikt, per test panel 120 muizen.

Elke functionele test wordt twee keer gedaan. In totaal geeft dit 240 muizen, 60 per fenotype.

Voor RNA sequencing is het gebruikelijk om 6 dieren per groep te nemen. We hebben 4 stammen en alle cellen worden al dan niet geactiveerd (= 2 condities, kan van dezelfde cel-pool). **In totaal komt dat op 24 dieren.**

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.

[Redacted content]

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.

[Redacted content]

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 welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging: Om te bepalen hoe belangrijk het is voor de neutrofiel [Redacted] schildklierhormoon te hebben is het belangrijk om de functionele aspecten van de cel te testen. Neutrofielen zijn de eerste cellen die bij een infectie geactiveerd worden en noodzakelijk voor de ontstekingsrespons. Neutrofielen hebben verschillende mechanismen waarmee ze bacteriën doden. Met behulp van functionele testen gaan we deze mechanismes testen in neutrofielen geïsoleerd uit beenmerg van de verschillende transgene modellen. Neutrofielen zijn erg kwetsbaar en leven maar kort, het is daarom niet mogelijk om met behulp van genetische technieken (CRISP/Cas, siRNA) neutrofielen te modificeren. We zijn daarom aangewezen op de transgene muismodellen die we hebben en waarmee we ook in vivo infectie experimenten doen.

Vermindering

We verminderen het aantal dieren tot een minimum gebaseerd op een statistische poweranalyse waarbij we de effect grootte weten vanuit eerdere pilots. Als blijkt dat we meerdere functionele testen op 1 dag kunnen waardoor we gebruik kunnen maken van de zelfde pool geïsoleerde cellen dan gaan we dat doen. Dit heeft tot gevolg dat er minder muizen nodig zijn.

Verfijning

We nemen verscheidene maatregelen om onze experimenten te verfijnen. We laten de dieren minimaal een week acclimatiseren in de proefopstelling teneinde stress te verminderen. Daarnaast worden ze in een groep gehuisvest. Voor dat deze serie experimenten wordt uitgevoerd checken we de [REDACTED] granulocyt. Deze moet > 90% zijn.

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.

De dieren ondergaan geen behandeling dus er is geen ongerief

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 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.

☐ licht.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

☐ Botten worden gebruikt om beenmerg te oogsten

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja

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 Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection
3. Titel van de NTS Schildklierhormoon is belangrijk voor de functie van witte bloedcellen tijdens infectie
4. Type aanvraag:
 - ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
 - ☐ wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC DEC-AMC
 - telefoonnummer contactpersoon [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☐ in vergadering besproken 1 juni 2017
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van / tot
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag
 - ☐ advies aan CCD
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.

De relevante onderdelen van de vergunningaanvraag (projectvoorstel en bijlagen) zijn in een traject voorafgaand aan de indiening ervan bij de DEC in overleg met de IvD tot stand gekomen.

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 achtergrond informatie 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 nvt
- Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrekt(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager nvt
- Datum
 - Gestelde vraag/vragen
 - Datum antwoord
 - Verstrekt(e) antwoord(en)
 - De antwoorden hebben wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) nvt
- Aard expertise
 - Deskundigheid expert
 - Datum verzoek
 - Strekking van het verzoek
 - Datum expert advies
 - Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.
Indien niet vergunningplichtig, ga verder met onderdeel E. Advies.
>ja
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag ~~/een wijziging op een bestaande vergunning.~~
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?
>ja
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.
>nee

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*).

Deze aanvraag heeft een concrete hoofddoelstelling (het verkrijgen van mechanistisch inzicht in de rol van intracellulair beschikbaar schildklierhormoon in de neutrofiel in de afweer tegen bacteriën met twee subdoelvragen:

A) Wat is het effect van een veranderde beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel op de capaciteit van de gastheer om bacteriën te verwijderen?

B) Wat is het effect van een veranderde beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel op de functie en het transcriptoom van de neutrofiel?

De subdoelen zijn tijdsafhankelijk en dragen beiden bij aan de hoofddoelstelling. Eerst zal subdoel A behaald worden voordat subvraag B beantwoord zal worden. Dit maakt de aanvraag tot een toetsbaar en navolgbaar geheel. Het project lijkt haalbaar, afgaande op de ervaring van deze onderzoekers met deze technieken, de beschikbaarheid van de muizen met de benodigde mutaties.

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).

>nvt

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 aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling. Er wordt fundamenteel onderzoek gedaan naar de rol van de beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel in de afweer tegen bacteriën. Op langere termijn zou dit een bijdrage kunnen leveren aan de ontwikkeling van betere behandelmethoden van septische patiënten op de intensive care afdeling.

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 directe doel (het verkrijgen van mechanistisch inzicht in de rol van beschikbaar schildklierhormoon in neutrofielen op de afweer tegen bacteriën heeft een directe en reële relatie met het uiteindelijke doel (het verbeteren van de behandelmethoden van septische patiënten op de intensive care afdeling. Al zal de toepassing van deze behandelmethode in de verre toekomst liggen en niet binnen dit project gehaald worden, acht de DEC het onderzoek naar deze strategie noodzakelijk en gerechtvaardigd binnen de context van het onderzoeksveld.

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 in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op het verkrijgen van inzicht in de rol van beschikbaar schildklierhormoon in de neutrofiel op de afweer tegen bacteriën, zijn de proefdieren, de onderzoekers en in mindere mate patiënten met sepsis.

De muizen worden door dit onderzoek geschaad omdat ze gedood worden om de weefsels te verzamelen of doordat de blootstelling aan de bacterie de dieren ziek zal maken. Dit kan stress en/of pijn veroorzaken in de proefdieren. De onderzoekers, zullen door dit onderzoek hun fundamentele kennis en inzichten vergroten, welke gedeeld zullen worden met het wetenschappelijk veld. Aanvullende belangen van onderzoekers zouden kunnen zijn dat het onderzoek hun carrièremogelijkheden vergroot door publicaties en dat zij mogelijk patenten op nieuwe bevindingen kunnen verkrijgen. De kennis die verkregen wordt uit dit onderzoek kan bijdragen aan een betere behandeling van sepsis.

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

Er is geen aanleiding om te twijfelen aan het afwezig zijn van effecten op het milieu, zoals beschreven in de aanvraag.

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 IvD ziet er op toe dat alle personen die betrokken zijn bij dit onderzoek, zowel de onderzoekers als de analisten die de experimenten gaan uitvoeren, als de onderzoekers die het project hebben vormgegeven en hebben opgeschreven, voldoen aan de wettelijke eisen van kennis en deskundigheid.

De kennis en kunde van de onderzoekers worden geborgd door de ruime ervaring van de onderzoeksgroep met de beschreven technieken. De benodigde muislijnen zijn beschikbaar voor deze groep.

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*).

Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en de uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstellingen gesteld binnen het project. Eerst zal bepaald worden of een verlaagde beschikbaarheid van schildklierhormoon in neutrofielen *in vivo* zal leiden tot een verhoogde afweer tegen bacteriën. Indien dit het geval blijkt te zijn, zal het onderliggende mechanisme verder onderzocht worden. Hiertoe zullen *in vitro* functionele bepalingen met neutrofielen uitgevoerd worden en zal het transcriptoom bepaald worden. Dit Go/No Go moment is een logische strategie, waardoor onnodig proefdiergebruik kan worden voorkomen.

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*).

- ☐ 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)

Er is geen sprake van bijzondere dieren, omstandigheden of behandelingen.

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.

Er wordt voldaan aan bijlage III.

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*).

Ongeriefinschatting is in overleg met de IvD tot stand gekomen, met gebruikmaking van de Toelichting Codering Ongerief. De DEC meent dat deze inschatting juist is. Het ongerief in het in vitro model is licht omdat de dieren (n=360) zonder voorafgaande behandeling worden opgeofferd waarna de weefsels verwijderd worden voor verder onderzoek. Het ongerief van de *in vivo* proeven wordt veroorzaakt door een bacteriële infectie met *Streptococcus pneumoniae*. Het ongerief hangt af van de gekozen dosis en het gekozen tijdstip van doden na de blootstelling aan de bacterie. Dieren die opgeofferd worden op het korte tijdstip na blootstelling ondergaan licht ongerief (Binnen dit infectiemodel betreft dit 78% van de muizen). De muizen die behandeld worden met de hoogste bacteriedosis en op de latere tijdstipen (t=24 en 40) worden gedood ondergaan matig ongerief (22% binnen infectiemodel). Voor de gehele aanvraag zullen 1416 muizen gebruikt worden waarvan er 82% licht ongerief ondergaan en 18% matig.

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*).

De "heelheid" van het dier wordt niet aangetast zodanig dat er sprake is van vermindering of ontneming van soort-specifieke eigenschappen.

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*).

De criteria voor een humaan eindpunt zijn goed gedefinieerd. Uiterlijke kenmerken van ongerief (lichaamshouding, niet-sociaal gedrag, opstaande vacht) en verlies van lichaamsgewicht zijn redenen om dieren vroegtijdig uit de proef te nemen. Er wordt uit ervaring geschat dat <1% dit eindpunt zou halen. Het betreft de dieren die geïnfecteerd worden met de hoogste dosis. Een derde daarvan zit 40 uur in de proef (=128 dieren, 11%). Van deze subgroep verwachten de aanvragers op basis van eerdere experimenten dat minder dan 10% vraagt om het toepassen van HEP.

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 aanvrager geeft aan dat het onderzoeken van het *in vivo* effect van een verlaagde beschikbaarheid van het schildklierhormoon in neutrofielen op de afweer tegen bacteriën alleen onderzocht kan worden in een proefdier omdat het een complexe

interactie betreft tussen de longen (lokale infectie), de milt (infectie verspreidt zich) en het bloed (sepsis). Deze vraagstelling kan daarom niet verricht worden in een proefdiervrij alternatief.

In de tweede bijlage worden geïsoleerde neutrofielen verder onderzocht. Neutrofielen leven maar kort en zijn erg kwetsbaar, het is daarom niet mogelijk om met CRISPR/cas9 of siRNA neutrofielen te modificeren. De aanvrager kan daarom alleen neutrofielen gebruiken uit de transgene muislijnen die ook voor de *in vivo* proeven gedaan worden. Er wordt getracht om zoveel mogelijk dieren uit de *in vivo* proeven te gebruiken als donor voor de *in vitro* proeven. Gezien de vraagstellingen van de aanvrager vindt de DEC dat de aanvrager voldoende heeft onderbouwd dat voor dit onderzoek geen proefdiervrij alternatief voor handen is.

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*).

Het aantal dieren is realistisch ingeschat op basis van statistische methoden en met waarden uit eerdere proeven. Er is een voorlopige power berekening gedaan om de aantallen te schatten voor de verschillende subdoelen. Daarnaast voorkómen de verschillende Go/No Go momenten dat er onnodig dieren gebruikt zullen worden.

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 oordeelt dat het project in overeenstemming is met de vereisten van verfijning van dierproeven en dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd omdat:

- 1) de proeven uitgevoerd worden in een redelijk kort tijdsbestek (maximaal t=40);
- 2) er genetisch gemodificeerde lijnen gebruikt worden die verder geen behandeling hoeven te ondergaan voor het benodigde fenotype;
- 3) de onderzoekers over voldoende kennis en kunde bezitten om de proeven zo optimaal uit te voeren.

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.

nvt

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*).

Er wordt in dit onderzoek in gelijke mate gebruik gemaakt van mannelijke en vrouwelijke dieren.

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, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De dieren worden in het kader van het onderzoek gedood voor verdere analyse van de weefsels.

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.

nvt

NTS

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

Ja, de NTS is een evenwichtige weergave van het project.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).
Rechtvaardigt het onderzoeken van de rol die de beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel in de afweer tegen bacteriën (in het bijzonder de Streptococcus pneumoniae), het gebruik van 1416 muizen en het lichte tot matige ongerief dat deze muizen als proefdieren in het onderzoek zullen ervaren?

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).

De belangrijkste belanghebbenden in dit fundamentele en translationele project dat gericht is op het onderzoeken van de rol van de mate van beschikbaarheid van schildklierhormoon op de afweer tegen bacteriën, zijn op korte termijn de proefdieren en de onderzoekers.

Op lange termijn bestaan de belanghebbenden uit (toekomstige) patiënten met sepsis. Deze kennis zou op langere termijn kunnen bijdragen aan een therapie gericht op neutrofielen en/of het intracellulaire schildklierhormoon.

De muizen worden door dit onderzoek geschaad omdat ze gedood worden om de weefsels te verzamelen of doordat de blootstelling aan de bacterie de dieren ziek zal maken. Dit kan stress en/of pijn veroorzaken in de proefdieren.

De andere groep belanghebbenden, namelijk de onderzoekers, zullen door dit onderzoek hun fundamentele kennis en inzichten vergroten, welke gedeeld zullen worden met het wetenschappelijk veld. Aanvullende belangen van onderzoekers zouden kunnen zijn dat het onderzoek hun carrièremogelijkheden vergroot door publicaties en mogelijke patenten op nieuwe bevindingen kunnen verkrijgen.

Minder direct aanwezig zijn de waarden en belangen van de patiënten. De inzichten die

dit onderzoek zullen opleveren, kunnen op lange termijn een bijdrage leveren aan een betere behandeling van sepsis. Dit valt echter buiten het directe onderzoeksdoel van deze studie.

Hoewel 1416 muizen licht tot matig ongerief ondergaan doordat ze gedood worden voor het gebruik van hun weefsels of doordat ze ziek worden door een bacteriële infectie, acht de DEC dit gerechtvaardigd door de verwachte gunstige gevolgen van dit onderzoek. Het wetenschappelijk belang is in dit project duidelijk geformuleerd en dit projectvoorstel zal hier direct aan bijdragen. Het maatschappelijk belang van dit projectvoorstel is dat er meer inzicht komt in de rol van de beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel in de afweer tegen bacteriën. De toepassing van deze inzichten in de kliniek zal echter nog jaren op zich laten wachten en ligt buiten dit projectvoorstel.

De DEC waardeert de vermeerdering van de fundamentele kennis over de rol van beschikbaar schildklierhormoon in neutrofielen in de afweer tegen bacteriën, als het meest zwaarwegende gevolg dat tegen het lichte tot matige ongerief van maximaal 1416 muizen opweegt.

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*).

Schildklierhormoon is belangrijk voor de functie van witte bloedcellen tijdens infectie

De DEC is van mening dat het belang van het onderzoeken van de rol die de beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel in de afweer tegen bacteriën speelt, het gebruik van 1416 muizen en het lichte tot matige ongerief dat ze zullen ondergaan, rechtvaardigt.

De DEC acht het aannemelijk dat de doelstelling behaald zal worden. Het wetenschappelijke en maatschappelijke belang van de doelstelling is duidelijk geformuleerd. In dit onderzoek zal eerst onderzocht worden of een verlaagde schildklierhormoon beschikbaarheid in neutrofielen een effect heeft op de afweer tegen bacteriën. Als dit zo blijkt te zijn, wordt het onderliggende mechanisme verder onderzocht. De uitkomsten van dit onderzoek zullen bij kunnen dragen aan de ontwikkeling van een therapie die gericht is op de schildklierhormoon beschikbaarheid binnen de neutrofiel voor patiënten met sepsis.

Om dit doel te bereiken zullen muizen gebruikt worden. In vivo wordt onderzocht of een verlaagde beschikbaarheid van schildklierhormoon in de neutrofiel een verschil laat zien in bacteriële load in de longen, milt en bloed. Afhankelijk van de gekozen bacteriedosis en het tijdstip van doden ondergaan de dieren licht tot matig ongerief. De dieren die gedood worden voor het verzamelen van neutrofielen ondergaan licht ongerief. Er is geen proefdier-vrij alternatief voor het verkrijgen van neutrofielen, omdat ze zeer kwetsbaar zijn en kort leven. Een genetische modificatie *in vitro* is daardoor niet mogelijk. De onderzoeksstrategie is logisch en navolgbaar en bevat verschillende Go/No Go momenten. Deze Go/No Go stap borgt dat alleen dan het onderliggende mechanisme onderzocht wordt als er daadwerkelijk sprake is van een verschil in de afweer tegen

bacteriën. De DEC is van mening dat alle onderzoeksvragen bijdragen en noodzakelijk zijn voor het behalen van de uiteindelijke doelstelling. De proeven worden zo verfijnd mogelijk uitgevoerd omdat het onderliggende mechanisme ex-vivo wordt bestudeerd. De dieren ondergaan voor dit deel van het onderzoek geen voorafgaande behandeling. De DEC is bovendien van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven wetenschappelijke doelstellingen en dat de gekozen strategie en de experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de kaders van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstelling te behalen. Tevens verwacht de DEC op basis van deze aanvraag dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om zowel het ongerief van de dieren alsmede het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken door groepsgrootte berekeningen te verrichten met data verkregen uit eerdere experimenten. De aanvrager heeft volgens de DEC overtuigend aangegeven dat gebruik van muizen voor het behalen van het directe doel noodzakelijk is en dat er geen geschikte proefdiervrije alternatieven mogelijk zijn.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.

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*).

Dit DEC advies is unaniem tot stand gekomen.

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*).

Er zijn geen knelpunten of dilemma's naar voren gekomen bij dit projectvoorstel.

Bijlage I: Voorbeelden

De in deze bijlage weergegeven voorbeelden zijn alleen bedoeld om een indicatie te geven van het gewenste antwoord en dienen niet letterlijk overgenomen te worden.

A. Algemene gegevens over de procedure

A7. Voorbeeld: "De IvD geeft aan dat de aanvrager de aanvraag met de IvD heeft afgestemd en dat deze de instemming heeft van de IvD."

C. Beoordeling (inhoud)

C1. Maak gebruik van de handreiking 'Invulling definitie project' om te bepalen of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. Overleg de argumenten waarom dit wel of niet het geval is. Geef hierbij ook aan of 1) de aanvraag als programma of project getypeerd wordt (Een programma omvat meerdere projecten en heeft een hoger gelegen doel, terwijl een project een concrete onderzoeksvraag heeft met in principe één concrete doelstelling en een helder geformuleerd resultaat), 2) het project coherent is, waarbij alle dierexperimenten logisch samenhangen en nodig zijn om het beoogde concrete resultaat te bereiken en 3) alle stappen in het project voldoende zijn uitgewerkt en geen onzekerheden bevatten, die voor de ethische toetsing relevant zouden kunnen zijn.

Voorbeeld: "Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. De aanvraag komt overeen met voorbeeld 1 uit de handreiking 'Wat is een project': De verschillende subdoelen zijn zowel tijdsafhankelijk als uitkomstafhankelijk van elkaar. Deze subdoelen zijn allemaal noodzakelijk om de doelstelling te behalen. Het is niet mogelijk de individuele doelen te toetsen, omdat er sprake is van onderlinge afhankelijkheid. Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is ook duidelijk welk ongerief individuele dieren zullen ondergaan. De aanvrager heeft, zowel binnen de doelstellingen en bijlagen dierproeven, als tussen de doelstellingen, beschreven op basis van welke criteria zij zal besluiten het project wel of niet te continueren. De DEC is er daardoor van overtuigd dat de aanvrager gedurende het project op zorgvuldige wijze besluiten zal nemen over de voortgang van het project en er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden. Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft."

C4. Voorbeeld: "Het directe doel van het project is het verkrijgen van inzichten in de mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van bot. Het uiteindelijke doel is het ontwikkelen van nieuwe behandelingsmogelijkheden die bijdrage aan het herstel van bot na trauma. Het betreft hier een fundamenteel project. Er is binnen dit project geen reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel. De DEC acht het niet waarschijnlijk dat het uiteindelijke doel behaald zal worden binnen de duur van dit project. De aanvrager heeft helder gemaakt wat de status van het onderzoeksveld is en wat de bijdrage van dit project aan het onderzoeksveld zal zijn. Uit de aanvraag blijkt dat de kennis van de mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van bot op dit moment zeer beperkt is, dat deze kennis noodzakelijk is voor het ontwikkelen van nieuwe behandelingsmogelijkheden en dat er behoefte is aan nieuwe behandelingsmogelijkheden. De DEC is van mening dat het directe doel, het verkrijgen van kennis over botontwikkeling, gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld."

C5. Voorbeeld: "De belangrijkste belanghebbenden in dit translationele project dat gericht is op de ontwikkeling van een therapie voor de ernstige ziekte X zijn de proefdieren, de onderzoekers en de doelgroep/patiënt.
Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress ondervinden en pijn ondergaan.
Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: De onderzoeker zullen kennis verkrijgen. Ook zal de carrièremogelijkheden van de onderzoekers verbeteren door publicaties en patenten.
Waarden die voor patiënten bevorderd worden: De gezondheid van patiënten zal verbeterd worden. Hierdoor zal de kwaliteit van leven verbeterd worden."

C9. Het uitgangspunt is dat deze categorieën van dieren, omstandigheden of handelingen niet in dierproeven worden gebruikt. Hier kan alleen van af worden geweken indien er wetenschappelijk is onderbouwd waarom het doel van het project niet kan worden bereikt dan door gebruikmaking van de desbetreffende dieren. Daarnaast gelden er voor elk van de genoemde categorieën specifieke beperkende voorwaarden.

Voorbeeld A: "Er worden dieren uit het wild gebruikt. De aanvrager heeft als volgt onderbouwd waarom het noodzakelijk is wilde dieren te gebruiken:..... De DEC is van mening dat de doelstellingen van de proef niet behaald kunnen worden met dieren die speciaal voor onderzoek worden gefokt. De DEC is er verder van overtuigd dat het vangen van de dieren door deskundige personen zal gebeuren waardoor de kans op pijn en lijden beperkt zal worden. Ook is er een dierenarts beschikbaar om de dieren te onderzoeken/behandelen mocht tijdens of na het vangen blijken dat de dieren een slechte gezondheid hebben of gewond zijn geraakt."

Voorbeeld B: "Er wordt een dodingsmethode gebruikt die niet beschreven staat in bijlage IV van de richtlijn. De aanvrager heeft als volgt onderbouwd dat dit noodzakelijk is:..... De DEC is van mening dat de doelstellingen van de proef niet behaald kunnen worden indien een in de bijlage IV beschreven methode gebruikt wordt en het dus noodzakelijk is om een alternatieve methode te gebruiken. De DEC is van mening dat de beschreven alternatieve methode, te weten....., een acceptabel alternatief is, omdat....."

C12.Voorbeeld: "De integriteit van dieren wordt fysiek aangetast door de dieren genetisch te veranderen. De integriteit zal ook gedragsmatig worden aangetast. Gedurende het project worden de dieren namelijk beperkt in hun bewegingsvrijheid en zullen de dieren individueel gehuisvest worden. Hierdoor zullen de dieren geen natuurlijk gedrag kunnen vertonen."

C18.Voorbeeld: "De aanvrager zal in het project alleen gebruik maken van vrouwelijke

dieren. De aanvrager geeft aan dit in het verleden altijd zo te hebben gedaan en wil dit graag op deze wijze voorzetten. De DEC is van mening dat de aanvrager niet in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd dat het om de doelstellingen te bereiken noodzakelijk is om de proeven met alleen vrouwelijke dieren uit te voeren. Ook heeft de aanvrager niet kunnen aantonen dat het uitvoeren van het project met zowel mannelijke als vrouwelijke dieren zal leiden tot een dermate grote variatie dat er aanzienlijk meer dieren gebruikt dienen te worden.

D. Ethische afweging

D2. Voorbeeld A: "Project gericht op ontwikkeling van een vaccin voor een ernstige, besmettelijke ziekte:

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: matig nadeel.

Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: gering voordeel.

Waarden die voor de doelgroep (de samenleving) bevorderd worden: veel voordeel

De DEC is van mening dat de belangen van de samenleving in dit project zwaarder wegen dan de belangen van en waarden voor de proefdieren. Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit leiden tot de ontwikkeling van een vaccin tegen een tot dusverre onbehandelbare ernstige, besmettelijke ziekte waar een grote groep mensen aan lijdt. Het is aannemelijk dat de doelstellingen behaald zullen worden. Om dit doel te bereiken worden dieren gebruikt. De onderzoekers doen er echter alles aan om het lijden van de dieren te beperken d.m.v. pijnbestrijding waardoor het werkelijke ongerief van de dieren beperkt blijft."

Voorbeeld B: "Project gericht op het ontwikkelen van een therapie tegen een ziekte waar al veel behandelingsmogelijkheden voor zijn.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: ernstig nadeel.

Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: gering voordeel

Waarden die voor patiënten bevorderd worden: weinig voordeel

De DEC is van mening dat de belangen van de proefdieren in dit project zwaarder wegen dan de belangen van en waarden voor de patiënten. De DEC is van mening dat het om een ziekte gaat waar al goede behandelingsmogelijkheden voor zijn, de verwachte winst door een nieuwe behandeling zeer beperkt is en de kans dat de doelstellingen behaald worden zeer klein is. Daartegenover staat het ernstige ongerief dat de dieren zullen ondergaan."

D3. Voorbeeld (Zie D2 voorbeeld A): "De DEC is overtuigd van het belang van de doelstellingen: het ontwikkelen van een vaccin voor een ernstige, besmettelijke ziekte. De DEC is van mening dat de waarden die voor de doelgroep bevorderd kunnen worden zwaarder wegen dan de waarden die voor de proefdieren in het geding zijn. Het project is goed opgezet. De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstellingen te behalen, te kunnen voldoen aan de 3V-beginselen en om te kunnen voorkomen dat mens, dier en het milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is ook van mening dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om het ongerief van de dieren te beperken en het aantal dieren tot een minimum te beperken. Hoewel er sprake is van een bijzondere categorie dieren, dodingsmethode niet volgens bijlage IV, heeft de aanvrager in voldoende mate onderbouwd dat de doelstellingen niet anders bereikt kunnen worden. De DEC is van mening dat het gekozen alternatief acceptabel is en niet leidt tot meer ongerief. Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat het voor het eerst ontwikkelen van een vaccin tegen ziekte X met als uiteindelijk doel het uitbannen van deze ziekte wereldwijd op de wijze zoals beschreven in dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt."

E. Advies

- E2. Voorbeeld: "Het advies is gebaseerd op een meerderheidsstandpunt. Twee van de DEC leden zouden tot een negatief advies komen. Deze leden zijn van mening dat voor dit project de waarden van de proefdieren die in het geding zijn zwaarder wegen dan de waarden van de doelgroep die bevorderd zullen worden. De redenen hiervoor zijn....."



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef

1105 AZ AMSTERDAM

**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
AVD118002017946

Bijlagen

2

Datum 15 augustus 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte ,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 15 augustus 2017. Het gaat om uw project "Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD118002017946. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Datum:

15 augustus 2017

Aanvraagnummer:

AVD118002017946

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
15 augustus 2017
Aanvraagnummer:
AVD118002017946

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 11800
Naam instelling of organisatie: Academisch Medisch Centrum
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 343362777
Straat en huisnummer: Meibergdreef [REDACTED]
Postcode en plaats: 1105 AZ AMSTERDAM
IBAN: NL68RABO0136166741
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: AMC Amsterdam

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? ☒ [x] 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 oktober 2017
Geplande einddatum: 1 oktober 2022
Titel project: Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection
Titel niet-technische samenvatting: Schildklierhormoon is belangrijk voor de functie van witte bloedcellen tijdens infectie
Naam DEC: DEC AMC
Postadres DEC: Meibergdreef 31, 1105 AZ Amsterdam
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Datum:

15 augustus 2017

Aanvraagnummer:

AVD118002017946

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.287,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

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

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Amsterdam
Datum: 15 augustus 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

AMC Crediteurenadministratie
Postbus 400
1115 ZJ DUIVENDRECHT
|||||

**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
AVD118002017946
Bijlagen
2

Datum 15 augustus 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 15 augustus 2017
Vervaldatum: 14 september 2017
Factuurnummer: XXXXXXXXXX
Ordernummer: Kostenplaatsnummer: XXXXXXXXXX

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD118002017946	€ 1.287,00

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

Van: Info-zbo
Verzonden: woensdag 23 augustus 2017 10:21
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: AVD118002017946: aanvullende informatie

Geachte [REDACTED]

Op 15 augustus 2017 hebben wij een aanvraag van u ontvangen met aanvraagnummer AVD118002017946. Wij hebben nog een aantal vragen over uw aanvraag.

- U gebruikt zowel mannelijke als vrouwelijke dieren. U geeft aan dat de immuunrespons geslachtsafhankelijk is. Om die reden worden mannelijke en vrouwelijke dieren in bijlage 3.4.4.1. niet samen in 1 experiment getest. Dit leidt tot een verdubbeling van het benodigd aantal dieren. U maakt echter niet inzichtelijk waarom het noodzakelijk is om alle proeven met zowel mannelijke als vrouwelijke dieren uit te voeren. Kunt u, in het kader van vermindering, aangeven of het mogelijk is te starten met een van beide geslachten, terwijl alleen de belangrijkste uitkomsten in het andere geslacht worden geverifieerd?

- U geeft in de NTS aan hoeveel dieren er ongeveer worden gebruikt. Hier dient u echter het werkelijk aangevraagde aantal dieren te vermelden.

Opsturen binnen veertien dagen

De CCD zou uw aanvraag graag tijdens de eerstvolgende vergadering willen bespreken. Indien mogelijk ontvangen wij uw reactie daarom graag uiterlijk donderdag 24 augustus. Mocht dit niet mogelijk zijn, u heeft veertien dagen de tijd om de informatie aan te leveren. U kunt dit aanleveren via NetFTP of e-mail.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben 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).

Namens de Centrale Commissie Dierproeven

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (Let op: nieuw e-mail adres)

-----Oorspronkelijk bericht-----

Van: Info-zbo

Verzonden: dinsdag 15 augustus 2017 13:57

Aan: [REDACTED]

CC: [REDACTED]

Onderwerp: OntvangstBevestiging 1946

Geachte [REDACTED]

Deze brief is ook per post verzonden.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl



Academisch Medisch Centrum

Universiteit van Amsterdam

Centrale Commissie Dierproeven

Amsterdam, 28-8-2017
Betreft aanvraag AVD118002017946

Beste [REDACTED]

Bij deze mijn antwoorden naar aanleiding van vragen:

- U gebruikt zowel mannelijke als vrouwelijke dieren. U geeft aan dat de immuunrespons geslachtsafhankelijk is. Om die reden worden mannelijke en vrouwelijke dieren in bijlage 3.4.4.1. niet samen in 1 experiment getest. Dit leidt tot een verdubbeling van het benodigd aantal dieren. U maakt echter niet inzichtelijk waarom het noodzakelijk is om alle proeven met zowel mannelijke als vrouwelijke dieren uit te voeren. Kunt u, in het kader van vermindering, aangeven of het mogelijk is te starten met een van beide geslachten, terwijl alleen de belangrijkste uitkomsten in het andere geslacht worden geverifieerd?

Pilot infectie experimenten waarop deze aanvraag is gebaseerd is uitgevoerd met vrouwtjes muizen. We hebben ook gezien dat er mogelijk een geslachtsafhankelijk effect is wat betreft de functie van de neutrofiel en de rol van schildklierklierhormoon. Om dit in kaart te brengen willen we de experimenten in elk geval graag met vrouwtjes doen. In het kader van de vermindering kan ik me wel vinden in de aanpassing dat we de infectie experimenten met vrouwtjes gaan doen, dit scheelt 576 muizen.

- U geeft in de NTS aan hoeveel dieren er ongeveer worden gebruikt. Hier dient u echter het werkelijk aangevraagde aantal dieren te vermelden.

Een infectie-experiment kost 576 dieren. Bijlage 2 gaat met 264 dieren, in totaal 840.

Ik hoop dat ik de vragen naar tevredenheid heb beantwoord.

Hartelijke groet, [REDACTED]



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.	11800	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Academisch Medisch Centrum	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer 1	Type dierproef Infection experiments with transgenic and WT mice

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.

Het schildklierhormoon inactiverende enzym D3 lijkt een belangrijke rol te spelen in de functie van bepaalde witte bloed cellen (neutrofiële granulocyten). Muizen die geen D3 hebben zijn minder goed in staat bacteriën te doden. We weten echter niet of dit komt omdat er geen D3 aanwezig is in de witte bloedcel of omdat hun schildklierhormoon metabolisme in z'n geheel beïnvloed is. Recent zijn er transgene muizen beschikbaar

worden geïnfecteerd met verschillende doses *Streptococcus pneumoniae* en de primaire uitkomst is de hoeveelheid bacteriën in de long, milt en bloed op verschillende tijdstippen na infectie. We kiezen voor een *S. pneumoniae* infectie omdat de respons op deze infectie voornamelijk neutrofiel gemedieerd is, bovendien hebben we in dit model laten zien dat D3 hoog tot expressie komt in de neutrofiel tijdens de infectie. Het model () is gebruikt in een andere setting en we weten dat het manipuleren van D3 leidt tot sterk veranderde TH concentraties in de cel. Het meten van TH concentraties in de cel is dus geen primaire uitkomstmaat.

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.

We testen **3 doseringen *S. pneumoniae*** in de range van 10^4 - 10^5 intranasaal, toegediend onder korte isofluraan anesthesie op **3 verschillende tijdstippen** (t=16, 24 en 40 uur). Aan het eind van het experiment (na 16, 24 en 40h wordt bloed afgenomen en organen uitgenomen, bacterie uitgroei wordt

bepaald in bloed, milt en longen. Pilot experimenten in vrouwtjes hebben aangetoond dat de ernst van de infectie mogelijk van belang is voor de bijdrage van D3. Met drie doseringen willen we dit testen. De pilots die we gedaan hebben hadden als eindpunt $t=40h$, we weten niet hoe snel D3 een effect heeft. Dit willen we testen door op verschillende tijdstippen te kijken.

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

Eerdere resultaten hebben laten zien dat er veel variatie zit op het infecteren van muizen (SD is 50%) wat tot uiting komt in de uitgroei in diverse organen. Uitgaande van een effect grootte van 50%, een power van 80% en een α van 5% komen we uit op een groepsgrootte van $n=16$. [$n = 2 * (1.96 + 0.84)^2 * (0.50)^2 / (0.5)^2$, $n = 15.68 * (0.25 / 0.25) = 16$]. De uitgroei wordt uitgedrukt in log cfu/gram orgaan. Afhankelijk van de verdeling wordt er parametrisch of non-parametrisch getoetst.

B. De dieren

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

[Redacted content]

Alle experimenten zijn in vivo experimenten met transgene muizen en bijbehorend wild type uit eigen fok. Deze muizen zijn door hun genetische make up geschikt om onze experimenten mee te doen. In het geval van de over-expressie muizen kunnen we zowel homozygote als heterozygote muizen gebruiken aangezien is aangetoond dat de [Redacted content]. We doen de experimenten met vrouwtjes omdat de immuunrespons geslachtsafhankelijk is en de eerdere experimenten waarop deze aanvraag gebaseerd is ook met vrouwtjes zijn gedaan. De dieren worden gebruikt tussen 8-16 weken, eerdere studies hebben aangetoond dat dit tijdsframe gebruikt kan worden.

De groepsgrootte is $n=16$. We testen drie doseringen en drie tijdstippen in vrouwtjes muizen, in totaal 144 muizen per genotype. We hebben 4 genotypes, totaal 576 muizen per compleet experiment (= alle tijdstippen en alle doseringen). **In totaal geeft dit 576 muizen.**

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.

[Redacted content]

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.

[Redacted content]

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

Om te bepalen hoe belangrijk het voor een neutrofiel is om heel veel (D3 knock down) of geen (D3 over-expressie) schildklierhormoon te hebben is het belangrijk om een duidelijke uitkomstmaat te hebben. Neutrofielen zijn de eerste cellen die bij een infectie geactiveerd worden en noodzakelijk voor de ontstekingsrespons. Neutrofielen hebben verschillende mechanismen waarmee ze bacteriën doden. We monitoren dit aan de hand van de bacterie uitgroei in de long (lokale infectie), milt (infectie verspreidt zich) en bloed (sepsis). Het is daarom dat deze experimenten niet in een cel model gedaan kunnen worden.

Vermindering

We verminderen het aantal dieren tot een minimum gebaseerd op een statistische poweranalyse waarbij we de effect grootte weten vanuit eerdere pilots. Deze pilots zijn oa gedaan op tijdstip 40h maar ook op t=16h. Daarnaast maken we gebruik van cel-specifieke transgene muis modellen, deze zogenaamde conditionele muizen hebben als voordeel dat de modificatie alleen aanwezig is in de cel van interesse (in ons geval de neutrofiel). Op deze manier heb je geen last van effecten van de modificatie op andere orgaansystemen wat de uitkomst kan beïnvloeden omdat het daardoor onzeker blijft of je interventie een effect heeft (en er dus meer proeven gedaan moeten worden).

Verfijning

We nemen verscheidene maatregelen om onze experimenten te verfijnen. We laten de dieren minimaal een week acclimatiseren in de proefopstelling teneinde stress te verminderen. Daarnaast worden ze in een groep gehuisvest. Voor dat deze serie experimenten wordt uitgevoerd checken we de eliminatie van D3 in de granulocyt. Deze moet > 90% zijn.

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.

We monitoren het welzijn van onze dieren twee keer per dag gedurende het experiment aan de hand van de volgende criteria: piloerectie, alertheid, gedrag, lichaamshouding.

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 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.

We inoculeren onder kortdurende anesthesie en ook de hartpunctie wordt onder algehele verdoving gedaan. De infectie zelf leidt ook tot ongerief maar aangezien ontstekingsremmers als pijnbestrijding de infectie beïnvloeden en dus het experiment kunnen we dit niet geven. Pijnbestrijding op zich doet bovendien niets aan het gevoel van ziekzijn.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Intranasale inoculatie onder kortdurende anesthesie: gering ongerief.
Algeheel ziek voelen, longontsteking, mogelijk voor sommige muizen kortademig, tgv de *S. pneumoniae* infectie, afhankelijk van de bacterieconcentratie en de duur zal dit gering zijn bij lage concentratie en korte duur en matig bij hoge concentratie en lange duur van de infectie.
Anaesthesie voor het doden van de dieren is gering ongerief.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De anesthesie toediening, *S. pneumoniae* infectie in de longen.

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

Anesthesie bij intranasale toediening van de bacterie suspensie, anaesthesie voorafgaand aan hartpunctie en twee maal daagse controle om HEPs toe te kunnen passen als het ongerief ernstig zou worden

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.

Als HEP worden de volgende criteria aangehouden, lichaamshouding, bolle rug, inactief, piloerectie, isolatie van de groep. Lichaamsgewicht wordt bijgehouden maar dit is alleen relevant bij tijdstip t=40h. Indien gewichtsafname >15% tussen 24 en 40 uur is, worden de muizen gedood.

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

Van de 576 dieren die geïnfecteerd worden krijgt 1/3 de hoogste dosis. Een derde daarvan zit 40h in de proef (=64 dieren, 11%). Ik verwacht op basis van eerdere experimenten dat minder dan 10% van die groep vraagt om het toepassen van HEP. Van de totale hoeveelheid dieren dus < 1%.

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.

Licht ongerief voor lage en midden bacterie dosis voor alle tijdstippen. Licht ongerief voor hoogste bacterie-dosis kort tijdstip (= 78%) en matig ongerief voor hoogste bacterie dosis t=24 en 40h (= 22%).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

Organen worden gebruikt voor metingen

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Academisch Medisch Centrum

Meibergdreef 31

1105 AZ AMSTERDAM

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

AVD118002017946

Bijlagen

1

Datum 11 september 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte

Op 15 augustus 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection" met aanvraagnummer AVD118002017946. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 8 september 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op 23 augustus hebben wij u een vraag gesteld over het gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren en de NTS. Bij uw antwoord heeft u een aangepaste bijlage dierproeven meegestuurd waarin het benodigd aantal dieren omlaag is gebracht. Wij kunnen ons vinden in uw aanpassing.

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 "Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 oktober 2017 tot en met 30 september 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat een vergunning voor niet langer dan 5 jaar mag worden afgegeven.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC AMC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 15 augustus 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

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

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

Bezwaar

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

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

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

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

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

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

Meer informatie

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

Datum:

11 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD118002017946

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

Datum:
11 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD118002017946


M. G. de Venter
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: Academisch Medisch Centrum

Adres: Meibergdreef 31

Postcode en plaats: 1105 AZ AMSTERDAM

Deelnemersnummer: 11800

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 oktober 2017 tot en met 30 september 2022, voor het project "Cellular thyroid hormone availability determines neutrophil function during infection" met aanvraagnummer AVD118002017946, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC AMC. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is .

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 15 augustus 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 8 september 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 8 september 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 15 augustus 2017, ontvangen op 15 augustus 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 8 september 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1. Infection experiments with transgenic and WT mice				
	Muizen (Mus musculus) /	576	22% Matig 78% Licht	
3.4.4.2. Isolation bone marrow derived neutrophils from transgenic and WT mice				
	Muizen (Mus musculus) /	264	100% Licht	

Aanvraagnummer:

AVD118002017946

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.

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:

AVD118002017946

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:

AVD118002017946

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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

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