

DIEREXPERIMENTENCOMMISSIE TNO

AANMELDINGSFORMULIER VOOR EEN NIEUW ONDERZOEKSPLAN

Dit formulier dient uiterlijk **7 werkdagen** voor de DEC vergadering (zie TNO Bulletin Dierproeven en Alternatieven op Intranet) volledig ingevuld in het bezit te zijn van:

Secretaresse DEC en proefdierdeskundige

[Redacted]

[Redacted]

E-mail: [Redacted]

telefoon: [Redacted] / fax: [Redacted]

Kerngebied en locatie:

ALGEMEEN

1. Onderzoeksplan

1.1. **titel:** In vitro kinetisch en toxicologisch onderzoek

1.2. **studienummer:** n.v.t.

1.3. **titel van het onderzoeksproject, waarvan deze dierproef deel uitmaakt (indien van toepassing):** n.v.t.

2. Verantwoordelijk onderzoeker (ex art. 9 WOD): [Redacted]

E-mail adres onderzoeker: [Redacted]

Telefonisch bereikbaar tijdens DEC-vergadering onder telnr: [Redacted]

Medewerkers (ex art. 9 WOD/ ex art. 12 WOD): o.a. [Redacted], [Redacted]

Externe samenwerking (indien van toepassing): n.v.t.

3. Geplande aanvangsdatum onderzoeksplan: juni 2008 – juni 2010

(Opmerking: definitieve aanvangsdatum z.s.m. doorgeven aan de proefdierdeskundige o.v.v. DEC nr., via e-mail: [Redacted])

Geplande duur van de onderzoeksplan: 2 jaar (voor deze DEC, dieren 0 dagen in een studie/behandeling).

Locatie waar dieren worden gehouden: [Redacted] of, worden bij binnenkomst meteen 'verwerkt'.

4. Codenummers volgens VWA-registratie:

Groep	< kolommen >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	1	02, 01, 11	2	90	37	1	1	11	02	1	1	1	1
	1	42 (mini- pig)		2	37	1	1	11	02	1	1	1	1
	1	21		2	37	1	1	11	02	1	1	1	1

NB: Afgelopen periode van twee jaar zijn geen minipigs of honden gebruikt.

RELEVANTIE

5. Welke concrete vraag/vragen wilt u met deze dierproef beantwoorden:

De dieren worden gebruikt voor verschillende onderzoeksprojecten binnen verschillende afdelingen van TNO met name: 1) huidabsorptie en dermale toxiciteit, 2) biotransformatie en toxiciteit van chemicaliën, voedingsingrediënten en geneesmiddelen in diverse *in vitro* systemen (bijv. orgaanslices (lever-, long), en primaire cellen (bijv. hepatocyten) 3) darmabsorptie en –metabolisme (gebruik van primair weefsel in zgn., Ussing-chambers), 4) Verkrijgen van controle weefsel voor diverse analyses (niet het ‘oefenen’ van handelingen; dit betreft een andere DEC).

Deze projecten zijn met name gericht op de toepassing en ontwikkeling van in vitro alternatieven voor dierproeven, het verminderen van het proefdier gebruik en het zo efficiënt mogelijk gebruiken van (reserve)dieren.

6. Omschrijf het maatschappelijk en wetenschappelijk belang van dit onderzoeksplan:

6.a Maatschappelijk belang (meer dan één onderdeel kan van toepassing zijn):

6.a.1 Gezondheid mens/dier

In vitro toxicologisch en farmacologisch onderzoek naar chemicaliën, voedingsmiddelen en geneesmiddelen (met name gericht op dermale opname in vergelijking met humane huid in het kader van risicobeoordeling).

6.a.2 Economisch belang

In vitro testen worden steeds meer ingezet om negatieve en positieve effecten van stoffen te screenen in een vroeg stadium van ontwikkeling. Het doel hiervan is een efficiëntere (en dus goedkopere) ontwikkeling van producten.

6.a.3 Milieu belang

-

6.a.4 Maatschappelijk belang, anders dan 6.a.1-3

(o.a.) De ontwikkeling en verdere toepassing van in vitro alternatieven voor dierproeven.

6.b Wetenschappelijk belang:

Inzicht verkrijgen in de cellulaire en mechanistische aspecten die betrokken zijn bij absorptie processen (darm, huid), chemisch geïnduceerde toxiciteit en biotransformatie van xenobiotica (mn. darm, huid, long en lever).

7. Is of wordt de wetenschappelijke kwaliteit van dit onderzoeksplan of het totale onderzoeksproject beoordeeld?

Zo ja, door welk daartoe aangewezen college, in welke context en met welk resultaat?

Zo nee, waarom niet?

Het dierlijk weefsel wordt met namen gebruikt bij onderzoek volgens OECD/US-EPA richtlijnen (m.n. huidabsorptie) en FDA (m.n. darmtransport). Daarnaast zal het worden toegepast binnen specifiek vraaggericht onderzoek vanuit de markt als mede binnen lopende kennisinvesteringsprojecten en -programma's.

PROEFOPZET

8. Wat is de aard van deze dierproef (meer dan 1 rondje kan van toepassing zijn):

- ☐ nieuw onderzoeksplan (ook bij gebruik van bestaande modellen met nieuwe behandeling/ teststof)
- ☒ herhaling van reeds eerder aan DEC voorgelegd en uitgevoerd onderzoeksplan , DECnr.: 332, 778, 1277, 1667, 2115
- ☒ Gedeeltelijk proef op grond van wettelijke eisen, hierna te specificeren:
 - wettelijke eis: huidabsorptie
 - testrichtlijn: OECD 428

- ☐ proef waarbij biotechnologische handelingen worden verricht zoals bedoeld in Art. 66 van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren
- ☐ anders, n.l.:

9. Aan welke behandelingen worden de dieren onderworpen?

Omschrijf zodanig dat dit op het niveau van het individuele dier duidelijk wordt, met inbegrip van het tijdschema en de frequentie waarmee behandelingen worden uitgevoerd. Beschrijf daarbij alle experimentele technieken waaraan de dieren worden onderworpen, met inbegrip van ingrepen, doseringstechnieken, euthanasietechnieken, enz.

Verwijs, voorzover van toepassing, naar standaardstudieplan voor de nadere uitwerking.

De (reserve) dieren die in deze experimenten zullen worden gebruikt worden gehouden op standaard voer en water en zullen niet in vivo worden behandeld. De dieren zullen worden gedood (m.b.v. een i.v. overdosis Nembutal, of door CO₂/O₂ verdovingen en vervolgens decapitatie) en de verschillende organen zullen worden uitgeprepareerd waarna in vitro blootstelling plaats kan/zal vinden. Voor de hepatocyten isolatie uit ratten worden de dieren geanesthetiseerd mbv Nembutal. De dieren worden uiteindelijk verbloedt tijdens de isolatie (leverperfusie).

10. Beschrijf de proefopzet en geef het proefschema bij voorkeur volgens onderstaand voorbeeld:

GROEP	BEHANDELING	BIOTECHNISCHE HANDELING(EN)	AANTAL	SEXE
	Geen in vivo behandeling	Euthanasie door i.v. overdosis Nembutal of door CO ₂ /O ₂ verdovingen/decapitatie	90	

11. Hoeveel dieren zullen in totaal worden gebruikt? Onderbouw dit aantal op basis van statistische parameters, literatuurgegevens of verwijs, indien van toepassing, naar proefopzet/standaard studieplan:

Indien reservedieren voor het onderzoeksplan worden bestemd, dient dit nader te worden gespecificeerd. Motiveer de noodzaak voor reservedieren en het aantal, en geef aan welke behandelingen deze dieren eventueel ondergaan.

Op jaarbasis zullen voor de verschillende projecten (maximaal) ongeveer 45 dieren worden gebruikt. Dit aantal is gebaseerd op het aantal dieren dat de afgelopen twee jaar is gebruikt voor dit type onderzoek. Getracht zal worden om de verschillende experimenten zodanig op elkaar af te stemmen dat de dieren zo 'efficiënt' mogelijk gebruikt zullen worden, d.w.z. dat van elk dier een aantal organen zullen worden gebruikt waardoor het aantal dieren wat moet worden gebruikt zo laag mogelijk zal worden gehouden. Er zal zoveel mogelijk gebruik worden gemaakt van reserve dieren, maar ook zullen dieren apart besteld worden (in het gaval van het verkrijgen van huidweefsel voor dermale absorptie experimenten).

PROEFDIEREN, HUISVESTING EN VERZORGING

12. Welke diersoort, welk ras/stam en welke sexe worden gebruikt? Licht de gemaakte keuze toe:

N.B. indien sprake is van een transgene lijn, in Nederland gemaakt na 1 april 1997, dient hiervoor een vergunning door de Minister van LNV te zijn verleend. Specificeer bij vraag 8.

Er zal gebruik worden gemaakt van ratten (m/v), verschillende stammen bijv. Wistar, Sprague Dawley, Fisher. Deze ratten worden ook veel in in vivo toxicologisch onderzoek gebruikt. Daarnaast kan een enkele keer een muis of een

konijn gebruikt worden of minipig of hond. Van de laatste twee worden uitsluitend reserve dieren uit andere studies gebruikt ('hergebruik').

13. Wat is de herkomst van de dieren:

- ☒ aangekocht van proefdierfokker
- ☐ aangekocht elders, n.l.:
- ☒ overcomplete dieren
- ☐ eigen fok
- ☐ reeds eerder gebruikte proefdieren (geef aan in welk soort dierproef)
- ☐ anders, n.l.:

14. Wat is het eindpunt van de dierproef:

- ☒ euthanasie ten behoeve van de proef
- ☐ euthanasie na afloop van de proef
- ☐ gebruik voor een volgende proef
- ☐ andere vergunninghouder
- ☐ anders, n.l.:

15. Hoe worden de dieren gehuisvest en verzorgd?

Vermeld groepssamenstelling, kooitype, voedsysteem en andere zaken die relevant zijn voor het welzijn van de dieren.

De ratten zullen worden gehuisvest in Macrolon kooien met bedding en volgens standaardcondities worden gevoerd. (voor andere species zal de huisvesting conform worden aangepast).

ONGERIEF

16. Beschrijf de aard van het ongerief:

Geef hierbij, gespecificeerd **per handeling** of mogelijk gevolg van doseringen, het ongerief dat de dieren waarschijnlijk ondergaan.

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	(be)handeling en effecten ³	Tijdsduur of frequentie ⁴	Verwachte mate van ongerief ⁵
	90	Zie pnt 9 en 10	1 malig	1 (gering)

Toelichting:

- 1 Vermeld op 1 regel alle proefgroepen waarbij het ongerief naar verwachting gelijk zal zijn als gevolg van de beschreven (be)handeling (kolom 3).
- 2 Vermeld het aantal dieren dat met de onder 1 aangegeven groepen gemoeid is.
- 3 Vermeld (be)handeling overeenkomstig vraag 9 en 10, vermeld tevens effecten die het gevolg zijn van de (be)handeling en die ongerief kunnen veroorzaken.
- 4 Tijdsduur wordt in uren, dagen, weken (resp u, d, w) uitgedrukt. Frequentie heeft betrekking op het aantal maal dat een (be)handeling wordt verricht (b.v. bloedmonsters, gavage).
- 5 Vermeld het ongerief dat verwacht wordt bij de (be)handeling of het behandel-effect.
Gebruik de codering:
Code 1: gering
Code 2: gering/matig
Code 3: matig

Code 4: matig/ernstig

Code 5: ernstig

Code 6: zeer ernstig

[Zeer ernstig ongerief is op wettelijke gronden niet toelaatbaar indien geen sprake is van essentiële belangen van de mens.]

- 6 Vermeld bij vraag 17 het ongerief dat verwacht wordt t.g.v. alle (be)handelingen en effecten, die de omschreven groep(en) ondervinden met gebruikmaking van de codes onder punt 5 code 1 t/m 5.

17. Geef een inschatting van het totale verwachte ongerief voor het proefdier

Op basis van de tabel onder vraag 16 wordt per groep het totale ongerief geschat.

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	Totaal ongerief ⁶
	90	1 (gering)

- 18. Wat wordt gedaan om eventuele pijn, stress of ander ongerief te verminderen, respectievelijk te voorkomen? Beschrijf hier anesthesie, pijnbestrijding, aangepaste huisvesting e.d.**

Wordt niet verwacht omdat de dieren niet in vivo behandeld worden.

- 19. Op welke indicatie (criteria!) worden dieren uit de proef genomen, dan wel voortijdig gedood?**

Wordt niet verwacht omdat de dieren niet in vivo behandeld worden.

- 20. Zijn er bijkomende risico's te voorzien, en wat is de kans hierop?**

Specificeer hier het risico op en de aard van mogelijke complicaties, in aanvulling op het antwoord op vraag 16 en in samenhang met de beantwoording van vraag 19.

Wordt niet verwacht omdat de dieren niet in vivo behandeld worden.

ALTERNATIEVEN

- 21. Welke alternatieve methoden (in termen van vervanging, vermindering, verfijning), zowel *in vivo* als *in vitro*, bestaan voor deze dierproef?**

Geef aan, in relatie tot het antwoord op vraag 5 (doel van de proef), waarom alternatieven (in vivo én in vitro) in dit geval niet bruikbaar zijn:

Geef ook aan in welke zin eventueel gebruik wordt gemaakt van alternatieve methoden:

De studies zijn gericht op de ontwikkeling en toepassing van alternatieven voor dierproeven en daarnaast het verminderen van het gebruik / efficiënt mogelijk gebruiken maken van dieren.

- 22. Is info of advies gevraagd over alternatieve methoden aan:**

X TNO-Netwerk voor Alternatieven, tel. ()

X Art. 14 functionaris (), tel. ()

O Nationaal Centrum Alternatieven voor Dierproeven (tel. 030 - 253 21 63)

O elders, n.l.:

O zo nee; waarom niet:

ANDERE ASPEKTEN

- 23. Welke andere dan de hiervoor vermelde aspecten zijn naar uw mening voor de toetsing van deze dierproef door de DEC van belang?**

Hier kan alle informatie aan de orde gesteld worden die u verder nog onder de aandacht van de Commissie wenst te brengen.

-

- 24. Geef hieronder, indien van toepassing, toelichting op de door u in dit aanmeldformulier gebruikte afkortingen:**

OECD: Organization for Economic Co-operation and Development

FDA: Food and Drug Administration

US-EPA: United States Environmental Protection Agency

onderzoeker

Management

datum:

datum:

Na behandeling ontvangt de vergunninghouder het advies van de DEC TNO. Kopie van dit advies gaat tevens naar management en onderzoeker.