

Datum ontvangst DEC: 30 juni 2009

DEC nr: 2804

Herzien nav vraagbrief 26 augustus 2009

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: [Redacted]

ALGEMEEN**1. Onderzoeksplan**

1.1. titel: *Juvenile (immuno) developmental study in Göttingen Minipigs*®

1.2. studienummer: 8584

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

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

E-mail adres onderzoeker: [Redacted]; [Redacted]

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

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

Externe samenwerking (indien van toepassing): Ellegaard Göttingen Minipigs A/S

3. Geplande aanvangsdatum onderzoeksplan: 8 september 2009

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

[Redacted])

Geplande duur van de onderzoeksplan: *Laatste sectie 9 oktober 2009*

Locatie waar dieren worden gehouden: [Redacted]

4. Codenummers volgens VWA-registratie:

Groep	< kolommen >												
	1	2	3	4*	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1-4	1	42	2	45	37	1	1	01	01	1	1	2	1

*: inclusief 5 zwangere moeder dieren. Een minipig werpt per nest ongeveer 4 nakomelingen zodat er waarschijnlijk dus circa 20 nakomelingen zullen worden geboren. In deze studie zullen we 8 mannelijke en 8 vrouwelijke nakomelingen gebruiken. Omdat van te voren niet zeker is hoe de sexe verhouding zal zijn zullen er iets meer dieren geboren worden, deze worden aan het eind van de studie zonder verder onderzoek afgevoerd.

RELEVANTIE

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

Het verkrijgen van kennis over de ontwikkeling van belangrijke orgaansystemen om de bruikbaarheid van de minipig in juveniele (safety) testing te vergroten.

We willen kennis verwerven op het gebied van:

- *Physical and sensory development (developmental landmarks)*
- *hematologische en klinisch chemische parameters tijdens ontwikkeling*
- *immunologische parameters tijdens ontwikkeling*
- *histopathologie/microscopie van belangrijke organen tijdens ontwikkeling*

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**
- 6.a.2 **Economisch belang**
- 6.a.3 **Milieu belang**
- 6.a.4 **Maatschappelijk belang, anders dan 6.a.1-3**

6.b Wetenschappelijk belang:

Er komt steeds meer interesse in testen van juvenile safety. De rat is vaak de gekozen species voor dit onderzoek. Echter, voor wetenschappelijke redenen kan het zijn dat de rat niet de meest geschikte species is. In dit geval zou de minipig een goede alternatieve species zijn. Ook zou de minipig een goed alternatief kunnen zijn voor apenstudies.

Er is nog weinig ervaring en ook nog weinig bekend in de open literatuur betreffende de vroege ontwikkeling van minipigs.

Toevoeging naar aanleiding van vraag 1 van vraagbrief:

Minipig zal/kan in reprotox, juvenile en developmental onderzoek als alternatief worden ontwikkeld voor studies met aap en konijn. Als illustratie van het belang van alternatieven voor aap en konijn voor dit soort studies hierbij de meest recente klantcontacten hierover (in het verleden hebben we wel vaker vragen gehad of we repro/developmental studies met aap konden uitvoeren):

.....
*Met name in de reprotox is dat ook voor ons een steeds weer oppoppend idee, om voor bepaalde stoffen een alternatief species te overwegen niet zijnde konijn. De aap loopt dan meestal dood op ethische en cost-effectiviteit issues. De mini-pig op gebrek aan database. Voor mijn begrip: hebben jullie al achtergronddata in mini-pig en reprotox?
Ook in de pathologie van de general tox moet iets te doen zijn met dit onderwerp. Groet, [REDACTED]*

.....
Thank you for your time just now. I really appreciate any advise you can give me on where to place a Segment II reprotox study in Cynomolgus monkeys.

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?

De wetenschappelijke kwaliteit van dit onderzoeksplan is gestaafd aan de huidige stand van zaken met betrekking tot wetenschappelijke publicaties en is getoetst door [REDACTED] (TNO afdeling TAP), [REDACTED] (TNO afdeling TAP) en [REDACTED] (Ellegaard, Göttingen Minipigs A/S, Denemarken).

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.:
- ☐ proef op grond van wettelijke eisen, hierna te specificeren:
wettelijke eis:
testrichtlijn:
- ☐ 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.

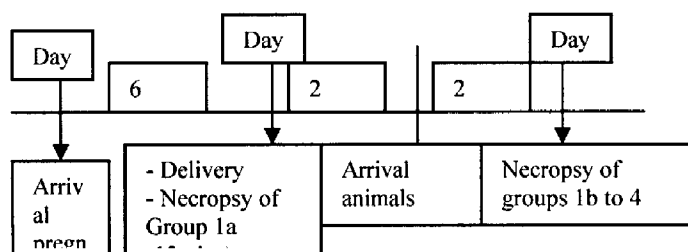
5 zwangere dieren zullen worden geleverd (+/-6 weken voor de bevalling (volgens de leverancier kunnen de dieren tot 6 weken voor de bevalling probleemloos getransporteerd worden) . De moederdieren zullen bij aankomst en tijdens de zwangerschaps- en lactatieperiode tenminste 1 maal per week gewogen worden. De dieren zullen bevallen bij TNO, waarschijnlijk op 8, 9 of 10 september 2009.

Van de pasgeboren dieren zullen zo snel mogelijk na geboorte 4 mannetjes en 4 vrouwtjes worden opgeofferd voor necropsie (bloedafname via de vena jugularis vóór opoffering = groep 1a). Vervolgens zullen tijdens de lactatieperiode de overige biggetjes intensief (dagelijks) worden gevolgd om de (algemene) ontwikkeling in kaart te brengen (in tegenstelling tot knaagdieren is er voor minipigs nog maar weinig beschreven over algemene ontwikkelingsparameters).

Bij spenen (na 4 weken) zullen de overige biggetjes (=groep 1b) en de moederdieren worden opgeofferd na bloedafname via de vena jugularis (25 ml). Bloedafname gebeurt op dag van opoffering of 1 dag eerder.

Op ongeveer dag 58 zullen de dieren van groepen 2, 3 en 4 geleverd worden (dieren met verschillende leeftijden). Twee weken later worden deze dieren (groepen 2, 3 en 4) opgeofferd na bloedafname via de vena jugularis (25 ml). Bloedafname gebeurt op dag van opoffering of 1 dag eerder.

Doden van de dieren zal gebeuren door sedatie met Domitor (medetomidine HCl, 1 mg/ml) 0.5 ml/10 kg body weight i.m. + Dormicum (midazolam, 5 mg/ml) 0.5 ml/10 kg lichaamsgewicht i.m. Daarna worden de dieren geanesthetiseerd met Na-pentobarbital (60 mg/ml) ca. 1 ml/kg body weight, intracardially tot diepe anesthesie waarna de dieren worden opgeofferd door verbloeding via de axillary artery.



Group (color code)	Number of animals	Approximate age at necropsy	Necropsy (day of study)
1a (white)	4♂/4♀	1 – 4 days	Day 43-45
1b (white)	4♂/4♀	4 weeks	Day 70-72
2 (blue)	4♂/4♀	8 weeks	Day 70-72
3 (green)	4♂/4♀	3 months	Day 70-72
4 (red)	4♂/4♀	6 months	Day 70-72

Toevoeging naar aanleiding van vraag 2, 3, en 4 van vraagbrief:

Voor een overzicht van immunologische, klinische chemische en hematologische parameters welke in dit onderzoek zullen bepaald wordt verwezen naar het onderzoeks protocol (met name paragraaf 4.5.6, 4.5.7 en 4.5.8) waarin uitgebreid wordt beschreven wat er in het bloed wordt bepaald.

Voor wat betreft de ‘algemene’ ontwikkelingsparameters: uitgebreid literatuur onderzoek naar deze parameters in minipig heeft nauwelijks iets opgeleverd, er wordt voornamelijk naar groei gekeken. Er worden in de literatuur niet net zo als voor bijv rat standaard parameters beschreven. We hebben daarom besloten om in deze studie vooral uitgebreide clinicalobservations te doen waarbij er speciaal gelet zal worden op specifieke ontwikkelings ‘stappen’ analoog als welke we ook in rat meten (tanden, haar, gaan staan, gaan lopen etc.). Ellegaard zal nogmaals ook gevraagd worden om specifieke parameters voor minipig (inmiddels is er overleg geweest met [REDACTED], expert op het gebied van onderzoek met minipigs. Minipigs worden relatief (tov andere zoog en knaagdieren) mature geboren. Tandem, haren etc zijn allemaal bij geboorte al aanwezig. Groei is dus inderdaad de belangrijkste parameter. Echter, duidelijk is ook dat er voor toxicologisch onderzoek nooit echt goede parameters zijn ontwikkeld. Uitgebreide klinische waarnemingen blijft dus heel belangrijk. Hiernaast zal (o.a via proefdierdeskundige) getracht worden meer informatie over ontwikkeling van varkens te verkrijgen. Hiernaast is ook getracht informatie te verkrijgen uit het ‘welzijnsonderzoeks in varkensteelt’ maar dit is voornamelijk gericht op ‘grotere’ volwassen dieren. Voor de fokker (Ellegaard) is groei de belangrijkste parameters. Via Ellegaard zijn we wel in contact gekomen met bovengenoemde expert.

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

GROEP	BEHANDELING	BIOTECHNISCHE HANDELING(EN)	AANTAL	SEXE
1-4	geen	Wegen bloedafname	40	20 mannen 20 vrouwen
1b	geen	Wegen bloedafname Dagelijks hanteren voor vaststellen ontwikkelingsparameters	8	4 mannen 4 vrouwen
Zwangere vrouwen	geen	Wegen tijdens zwangerschap en lactatie.	5	vrouwen

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.

Per leeftijd zullen 4 mannetjes en 4 vrouwtjes worden gebruikt. Het gaat om een beschrijvende studie. We willen een beschrijving geven van de ontwikkeling van de minipig. Het gaat hierbij niet om statistische bevindingen. In overleg met

de sponsor wordt een aantal van 4 mannen en 4 vrouwen beschouwd als voldoende dieren om een goed beeld te krijgen van de spreiding binnen de populatie. Bovendien, is het gebruikelijk om 4 dieren per sex te nemen in een standaard toxiciteit studie met een grotere diersoort (b.v. Beagles of primaten)

Er worden 5 zwangere vrouwen geleverd. Elke vrouw zou goed moeten zijn voor ongeveer 4 nakomelingen. Als meer varkentjes geboren worden dan voor de studie nodig is, zullen deze tot het einde van de studie in leven worden gehouden als reservedieren en indien nodig dienen als sentinel dieren.

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.

Göttingen minipig vrouwtjes en mannetjes.

De keuze is gemaakt voor de minipig omdat de minipig in de toekomst meer zal worden gebruikt voor het testen van de veiligheid en effectiviteit van nieuwe (bio)pharmaceuticals. Het doel van deze studie is het bestuderen van de (vroege) ontwikkeling van de minipig. We kiezen voor mannen en vrouwen om het verschil in ontwikkeling tussen de sexen te kunnen observeren.

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, voedersysteem en andere zaken die relevant zijn voor het welzijn van de dieren.

De moederdieren zullen tot ongeveer 1 week voor de geplande bevallingsdatum in groepen gehuisvest worden (groep van 2 en groep van 3). Daarna zullen de moeders tot aan de bevalling individueel gehuisvest worden. De dieren die bij TNO geboren worden, worden tot aan opoffering gehuisvest bij de moeders. De dieren die later worden geleverd zullen ook in groepen worden gehuisvest (mannen per groep bij elkaar en vrouwen per groep bij elkaar). De hokken voldoen aan de Europese richtlijnen voor de huisvesting van proefdier-minipigs. Zij hebben hierbij de beschikking over stro en speelbal. De dieren krijgen 2x daags een afgemete hoeveelheid voer, en water is ad libitum beschikbaar. (de dieren van groep 1 zullen uiteraard drinken bij de moeders)

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
1-4	40	Bloedafname	1x	2
1-4	40	Wegen	6-12x	1
moederdieren	5	Wegen	Max 10x	1

Toelichting:

- Vermeld op 1 regel alle proefgroepen waarbij het ongerief naar verwachting gelijk zal zijn als gevolg van de beschreven (be)handeling (kolom 3).
- Vermeld het aantal dieren dat met de onder 1 aangegeven groepen gemoeid is.
- Vermeld (be)handeling overeenkomstig vraag 9 en 10, vermeld tevens effecten die het gevolg zijn van de (be)handeling en die ongerief kunnen veroorzaken.
- 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).
- Vermeld het ongerief dat verwacht wordt bij de (be)handeling of het behandelings-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.]
- 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
1-4	40	1
moederdieren	5	1

18. Wat wordt gedaan om eventuele pijn, stress of ander ongerief te verminderen, respectievelijk te voorkomen?

Beschrijf hier anesthesie, pijnbestrijding, aangepaste huisvesting e.d.

Groepshuisvesting, verder geen ongerief voor de dieren wat verminderd zou kunnen worden. (bloedafname tijdens opofferen levert logistiek problemen op bij het opwerken van het bloed, daarom bloedafname nodig vóór opoffering).

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

Als er dieren zijn die meer dan matig ongerief ondervinden zullen deze worden opgeofferd. Dit wordt echter niet verwacht aangezien geen handelingen met de dieren worden verricht.

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.

De dieren worden niet behandeld. Er worden daarom geen complicaties verwacht.

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:

Geen alternatieven beschikbaar. De ontwikkeling van een dier kun je alleen volgen in het dier zelf.

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

☐ TNO-Netwerk voor Alternatieven, tel. [REDACTED]

☐ Art. 14 functionaris ([REDACTED], tel [REDACTED])

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

☐ elders, n.l.:

x zo nee; waarom niet: de ontwikkeling van een dier kun je alleen volgen in het dier zelf.

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:

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.