

Datum ontvangst DEC: 1 februari 2010
25 februari 2010 final

DEC nr: 2902

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: Zebravis als alternatief toxiciteits model: Toxiciteit van doxorubicin

1.2. studienummer: (Nog niet bekend)

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

De zebravis: Een alternatief model voor generieke toxiciteitstesten

Bij het opzetten van het zebravis model richten wij ons in eerste instantie op de algemene toxiciteits testen. Hierbij ligt de nadruk op het karakteriseren van de pathologie van de target organen, zoals de lever, de nieren, het hart en de hersenen. In de huidige aanvraag willen we de toxiciteit van doxorubicine onderzoeken op het hart.

2. Verantwoordelijk onderzoeker (ex art. 9 WOD):

[Redacted]

E-mail adres onderzoeker:

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Telefonisch bereikbaar tijdens DEC-vergadering onder telnr:

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Medewerkers (ex art. 9 WOD/ ex art. 12 WOD):

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

Externe samenwerking (indien van toepassing): NVT

3. Geplande aanvangsdatum onderzoeksplan: Nog niet bekend

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

[Redacted]

Geplande duur van het onderzoeksplan: 6 weken

Locatie waar dieren worden gehouden: TNO [Redacted]

4. Codenummers volgens VWA-registratie:

Pilot dose-range finder

Groep	< kolommen >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	1	89	1	4	37	1	1	1	1	4	1	3	1
2	1	89	1	4	37	1	1	1	1	4	1	4	1
3	1	89	1	4	37	1	1	1	1	4	1	4	1
4	1	89	1	4	37	1	1	1	1	4	1	4	1
5	1	89	1	4	37	1	1	1	1	4	1	4	1

Opm bij 2: het betreft AB zebravissen verkregen uit eigen kweek

Opm bij 4: het betreft 2 mannelijke en 2 vrouwelijke vissen per groep

Hoofdstudie:

Groep	< kolommen >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	1	89	1	8	37	1	1	1	1	4	1	3	1
2	1	89	1	8	37	1	1	1	1	4	1	3	1
3	1	89	1	8	37	1	1	1	1	4	1	3	1
4	1	89	1	8	37	1	1	1	1	4	1	3	1
5	1	89	1	8	37	1	1	1	1	4	1	4	1

Opm bij 2 en 3: het betreft AB zebravissen verkregen uit eigen kweek

Opm bij 4: het betreft 4 mannelijke en 4 vrouwelijke vissen per groep

RELEVANTIE

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

De zebravis is een relatief nieuw dierenmodel voor onderzoek naar humane ziekten. Zo zijn er bijvoorbeeld verschillende modellen ontwikkeld voor hart – en vaatziekten, kanker, spierziekten en neurologische aandoeningen, waaronder Alzheimer. Wij willen deze modellen in de toekomst gaan gebruiken voor gecombineerde “Efficacy/Toxicity studies” waarin nieuwe geneesmiddelen getest zullen worden.

Helaas staat dit type onderzoek nog in zijn kinderschoenen. Als gevolg hiervan is er weinig tot geen informatie beschikbaar wat betreft de histopathologie, de anatomie, de effecten van toxische stoffen en de gevoeligheid van dit model ten opzichte van andere ‘hogere diersoorten’. Deze kennis zal moeten worden opgebouwd alvorens er nieuwe stoffen in dit model getest kunnen worden. In het kader hiervan willen we een viertal experimenten uitvoeren met stoffen welke toxisch zijn voor target organen zoals de lever, het hart, de nieren en de hersenen. De huidige stof die we willen gaan testen is doxorubicine welke toxisch is voor het hart.

Doxorubicin induceert apoptosis in hartspier cellen en dit is naar alle waarschijnlijkheid het mechanisme dat ten grondslag ligt aan de door doxorubicine veroorzaakte cardiomyopathie bij mensen [Gilman et al. 1990], honden [Booth et al. 1982], konijnen [IARC 1976], ratten [Roelof et al. 2004] en muizen [Doroshov et al. 1981].

De zebravissen worden gedurende de proef (3 weken lang) dagelijks (ma t/m vrijdag) om de 2 uur geobserveerd (tijdens werktijd) en aan het einde van de proef opgeofferd voor een volledig histopathologische onderzoek.

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

Er zijn veel zebrafismodellen voor humane ziekten. Deze modellen helpen bij het vinden van nieuwe behandel methoden. Voor de hiermee verbonden “efficacy en safety studies” is het van belang dat we histopathologie van de zebrafis volledig beheersen.

Daarnaast is de zebrafis mogelijk een beter model voor het voorspellen van toxiciteit bij mensen. De klassieke proefdier modellen hebben een overall concordance van 71%. Er zijn echter verschillen per orgaan. Met name de huid en lever hebben een lage concordance. De zebrafis is mogelijk beter voorspellend voor humane toxiciteit voor bepaalde organen zoals de lever. Betere voorspelling van toxiciteit van nieuwe stoffen, verhoogt de veiligheid van de samenleving.

Daarnaast is het economisch gunstiger voor de producenten van nieuwe stoffen. Zebrafissen zijn goedkoper in verzorging en huisvesting dan de huidige proefdiermodellen. Indien tevens blijkt dat de zebrafis een gevoeliger model is dat beter humane toxiciteit voorspelt, dan zal dit tot vermindering van proefdier gebruik leiden omdat dan minder proefdieren nodig zijn om dezelfde relevante informatie te krijgen. Tevens zal dit leiden tot een situatie waarbij nieuwe produkten minder vaak stranden in de klinische fase. Hierdoor moet er niet steeds weer opnieuw, voor een vergelijkbaar produkt, de hele batterij aan preklinische studies gedaan worden (zie ook 21).

6.b Wetenschappelijk belang:

De zebrafis is een interessant wetenschappelijk model doordat het relatief eenvoudig is om bepaalde genetische pathways te veranderen met behulp van morpholino's. Hierdoor kan het effect van bepaalde genen op normale en verstoorde ontwikkeling bestudeerd worden. Daar de embryonale ontwikkeling zich buiten de moedervis plaatsvindt, kan dit gemakkelijk bestudeerd worden in microwell systemen. Hierdoor is het mogelijk om, “high throughput”, te screenen voor stoffen die de ontwikkeling van de zebrafis beïnvloeden en/of de afwijking corrigeren. Tegelijkertijd kan er gekeken worden naar de toxiciteit van deze stoffen. Dit is van belang voor het ontwikkelen van nieuwe medicijnen maar ook voor een beter begrip van bepaalde ziekteprocessen.

Om dit in de toekomst mogelijk te maken dienen we meer inzicht te krijgen in de zebrafis als alternatief model voor de generieke toxiciteits testen. In het huidige voorstel concentreren wij ons in eerste instantie op algemeen toxicologisch onderzoek.

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

Het onderzoek is deel van het VP In life Sciences en als zodanig op wetenschappelijke kwaliteit beoordeeld. Het onderzoeksproject is opgesteld door experts in het veld waaronder [REDACTED] (Neurotox), [REDACTED] & [REDACTED] (Reprotox), [REDACTED] Immunotox) en [REDACTED] (Toxicology/Pathology).

PROEFOPZET

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

- X nieuw onderzoeksplan (ook bij gebruik van bestaande modellen met nieuwe behandeling/ teststof)
- O herhaling van reeds eerder aan DEC voorgelegd en uitgevoerd onderzoeksplan , DECnr.:
- O proef op grond van wettelijke eisen, hierna te specificeren:
 - wettelijke eis:
 - testrichtlijn:
- O proef waarbij biotechnologische handelingen worden verricht zoals bedoeld in Art. 66 van de Gezondheids- en welzijnswet voor dieren
- O anders, n.l.:

9. Aan welke behandelingen worden de dieren onderworpen?

Dose range-finding (DRF) studie

Er zal eerst een “dose-range finding” studie worden uitgevoerd om de optimale concentratie te bepalen voor toxicologisch onderzoek. Een week voor aanvang van de proef (Dag -7), wordt bij de vissen een tatoeage aangebracht zodat ze individueel van elkaar te onderscheiden zijn. De vissen worden hiervoor onder narcose gebracht door ze te plaatsen in een waterbad met 0.15% Tricaine. Onder narcose wordt 2 µl inkt, subcutaan geïnjecteerd.

De zebravissen [5 groepen van 4 (2M & 2V)] worden op dag 0 verdoofd met Tricaine (150 mg Tricaine, 97.9 ml dH₂O, 2.1 ml Tris (1M pH 7), gewogen en vervolgens intraperitoneaal geïnjecteerd met 0, 0.25, 0.5, 1.5 of 5 mg doxorubicin per kg in een volume van 10 ml/kg. De zebravissen wegen ongeveer 0,25 gram en derhalve zal er ongeveer 2,5 µl per vis geïnjecteerd worden. De bovenstaande procedure wordt op dag 7 en dag 14 herhaald. Op dag 21 worden de vissen geëuthenaseerd worden door ze te plaatsen in water met Tricaine (400 mg Tricaine, 97.9 ml dH₂O, 2.1 ml Tris (1M pH 7)). Na de euthenasie wordt de staartvin afgeknipt voor de isolatie van bloed. Vervolgens worden de vissen gefixeerd in Bouin's fixatief.

Gedurende het experiment worden de vissen dagelijks om de 2 uur geobserveerd (Ma - Vrij, 9.00 -17.00 uur).

Hoofdstudie (HS)

Een week voor aanvang van de proef (Dag -7), wordt bij de vissen een tatoeage aangebracht zodat ze individueel van elkaar te onderscheiden zijn. De vissen worden hiervoor onder narcose gebracht door ze te plaatsen in een waterbad met 0.15% Tricaine. Onder narcose wordt 2 µl inkt, subcutaan geïnjecteerd.

Bij de hoofdstudie worden de zebravissen [5 groepen van 8 (4M & 4V)] op dag 0 verdoofd met Tricaine (150 mg Tricaine, 97.9 ml dH₂O, 2.1 ml Tris (1M pH 7), gewogen en vervolgens intraperitoneaal geïnjecteerd met doxorubicin in een volume van 10 ml/kg. De concentraties zijn afhankelijk van de bevindingen in de DRF studie. De zebravissen wegen ongeveer 0,25 gram en derhalve zal er ongeveer 2,5 µl per vis geïnjecteerd worden. De bovenstaande procedure wordt op dag 7 en dag 14 herhaald. Op dag 21 worden de vissen verdoofd/geëuthenaseerd worden door ze te plaatsen in water met Tricaine (400 mg Tricaine, 97.9 ml dH₂O, 2.1 ml Tris (1M pH 7)). Na de euthenasie wordt de staartvin afgeknipt voor de isolatie van bloed. Vervolgens worden de vissen gefixeerd in Bouin's fixatief.

Gedurende het experiment worden de vissen dagelijks om de 2 uur geobserveerd (Ma - Vrij, 9.00 -17.00 uur).

NB Mocht tijdens de “dose-range finding” (DRF) studie reeds een duidelijk dosis-afhankelijk effect worden waargenomen, waaruit een “no adverse effect level” (NOAEL) kan worden afgeleid, dan zal de hoofdstudie niet worden uitgevoerd.

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

Dose-range finding studie (DRF)

Groep	Behandeling	BIOTECHN.HANDELING(EN)	Aantal	Sexe
A	0 mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0,7 & 14 Op dag 21	4	2M & 2F
B	0.15 mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0,7 & 14 Op dag 21	4	2M & 2F
C	0.5 mg/Kg Doxorubicin	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0, 7 & 14 Op dag 21	4	2M & 2F
D	1.5 mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0, 7 & 14 Op dag 21	4	2M & 2F
E	5 mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0, 7 & 14 Op dag 21	4	2M & 2F

Hoofdstudie (Dosering hangt af van de dose-range finding studie)

Groep	Behandeling	BIOTECHN.HANDELING(EN)	Aantal	Sexe
A	*0 mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0,7 & 14 Op dag 21	8	4M & 4F
B	*? mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0,7 & 14 Op dag 21	8	4M & 4F
C	*? mg/Kg Doxorubicin	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0, 7 & 14 Op dag 21	8	4M & 4F
D	*? mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0, 7 & 14 Op dag 21	8	4M & 4F
E	*? mg/Kg Doxorubicine	Verdoving d.m.v. Tricain Intraperitoneale injectie Doxorubicine Euthenasie d.m.v. Tricaine Op dag 0, 7 & 14 Op dag 21	8	4M & 4F

* Concentraties zijn afhankelijk van de resultaten van de pilot studie.

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

Voor de dose-range finding studie hebben we 20 dieren nodig en voor de hoofdstudie 40. Totaal: 60

We streven er naar het aantal proefdieren zo laag mogelijk te houden. De DRF studie heeft als doel het vinden van een dosis waarbij we een effect zien. Er is daarom gekozen voor slechts 2 mannetjes en 2 vrouwtjes per groep. De hoofdstudie heeft als doel om de NOAEL te bepalen. Hierbij zullen hoogstwaarschijnlijk andere proefstof concentraties gebruikt worden dan in de DRF studie. Ook hier streven we er naar om het aantal proefdieren zo laag mogelijk te houden. Om statistiek te kunnen doen is gekozen voor 4 mannetjes en 4 vrouwtjes per groep. Er is gekozen voor 5 groepen omdat we met 5 verschillende doses een betere NOAEL kunnen bepalen.

PROEFDIEREN, HUISVESTING EN VERZORGING

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

Er wordt gebruikt gemaakt van mannetjes en vrouwtjes zebravissen (AB stam).

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?

De zebravissen worden bij TNO onder standaard condities gehuisvest. In groepen van 4-8.

ONGERIEF

16. Beschrijf de aard van het ongerief:

Dose-range finding studie

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	(be)handeling en effecten ³	Tijdsduur of frequentie ⁴	Verwachte mate van ongerief ⁵
1	4	0.15% Tricaine Tatoeering 0 mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 1 3
2	4	0.15% Tricaine Tatoeering 0.15 mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 4 3
3	4	0.15% Tricaine Tatoeering 0.5 mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 4 3
4	4	0.15% Tricaine Tatoeering 1.5 mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 4 3
5	4	0.15% Tricaine Tatoeering 5 mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 4 3

Hoofdstudie (Aantal groepen & dosering hang af van de dose-range finding studie)

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	(be)handeling en effecten ³	Tijdsduur of frequentie ⁴	Verwachte mate van ongerief ⁵
1	8	0.15% Tricaine Tatoeering 0 mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 1 3
2	8	0.15% Tricaine Tatoeering * mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 1 3
3	8	0.15% Tricaine Tatoeering * mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 2 3
4	8	0.15% Tricaine Tatoeering * mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 3 3
5	8	0.15% Tricaine Tatoeering * mg/Kg Doxorubicine 0.4% Tricaine	4x 1x 3x 1x	3 1 4 3

*** Concentraties zijn afhankelijk van de resultaten van de pilot studie.**

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 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.]
- 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

Pilot studie

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	Totaal ongerief ⁶
1 (0 mg/Kg)	4	3
2 (5 mg/Kg)	4	4
3 (10 mg/Kg)	4	4
4 (25 mg/Kg)	4	4
5 (50 mg/Kg)	4	4

Hoofdstudie

Groep(en) ¹	Aantal dieren ²	Totaal ongerief ⁶
1 (0 mg/Kg)	8	3
2 (?* mg/Kg)*	8	3
3 (? *mg/Kg)*	8	3
4 (?* mg/Kg)*	8	3
5 (?* mg/Kg)*	8	4

* Concentraties zijn afhankelijk van de resultaten van de pilot studie.

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

De vissen worden onder narcose gebracht alvorens ze worden getatoeerd of intraperitoneaal geïnjecteerd.

De vissen worden elke dag geobserveerd en gescreend op afwijkend gedrag dat kan wijzen op pijn, stress of ander ongerief (Zie 19).

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

Een ervaren biotechnicus beoordeelt of het klinisch beeld in overeenstemming is met dat van een zieke/gestresste vis. De onderstaande criteria dienen hierbij als leidraad.

- Eet niet
- Lethargy/Isolatie
- Operculum flaring
- Ademhalingsfrequentie
- Ademhappend aan oppervlak
- Starre vinnen
- Flashing
- Evenwichtsstoornissen

- Huid laesies
- Verlies schubben
- Kleurveranderingen
- Ascites (dropsy)
- Abnormaal drijfvermogen

Klinisch beeld van zieke/gestresste vis

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

NVT

ALTERNATIEVEN

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

De opzet van deze proef is het verkrijgen van kennis van de zebravis als toxicologisch model. Indien de zebravis een gevoeliger model is, dat beter humane toxiciteit voorspelt, dan zal dit in de toekomst tot vermindering van proefdier gebruik leiden omdat dan minder proefdieren nodig zijn om dezelfde relevante informatie te krijgen. Tevens zal dit leiden tot een situatie waarbij nieuwe produkten minder vaak stranden in de klinische fase. Prescreening met het zebravismodel zal een produkt met negatieve effecten eerder identificeren. Hierdoor moet er niet opnieuw weer de hele batterij aan preklinische studies gedaan worden voor een vergelijkbaar produkt.

Het is van belang om te realiseren dat het zebravismodel door de regulerende autoriteiten nog niet als een alternatief wordt gezien voor de huidige proefdiermodellen en dat het model alleen nog wordt gebruikt voor prescreening. De autoriteiten moeten nog overtuigd worden dat de zebravis een beter model is om toxiciteit in mensen te voorspellen. Om dit aan te tonen zullen er op korte termijn meer proefdieren (zebravissen) gebruikt worden. Op de lange termijn echter zal dit, naar onze stellige overtuiging, leiden tot vermindering van het aantal proefdieren. Met name bij prenatale toxiciteit en reprotoxiciteit studies zijn enorme winsten te behalen qua aantallen dieren; zo'n 2200 minder dieren per proefstof.

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

Nee. Het doel van de deze proef is het verkrijgen van kennis in de zebravis als toxicologisch model. Zebravis wordt gezien als alternatief model dat mogelijk leidt vermindering van het proefdier gebruik (Zie 21).

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 NVT

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

Onderzoeker



Management



datum: 22-02-2010