

Datum ontvangst DEC: 13 april 2011
30 mei 2011 final

DEC nr: 3099

DIEREXPERIMENTENCOMMISSIE TNO

AANMELDINGSFORMULIER VOOR EEN NIEUW ONDERZOEKSPLAN

Dit formulier dient voor de uiterste inzendtermijn (zie Spider, cluster onderzoekers Art.9) volledig ingevuld **elektronisch** in het bezit te zijn van:

E-mail: [redacted]

Postadres:

[redacted]
[redacted]
[redacted]

telefoon: [redacted]

Kerngebied en locatie:

ALGEMEEN

1. Onderzoeksplan

1.1. titel: Biomarkers van effect na de blootstelling aan TNT.

1.2. studienummer: 032.18519

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

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): [redacted]

Externe samenwerking (indien van toepassing):

3. Geplande aanvangsdatum onderzoeksplan:

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

Geplande duur van de onderzoeksplan: Een doorlooptijd van de experimenten van ca. 6 maanden wordt voorzien. Een eerste oriënterend deel met 1 controle en 1 testdier zal 3 weken duren. Gebaseerd op de resultaten van deze dieren, zal de definitieve proefopzet van de resterende dieren worden vastgesteld.

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
Alle groepen 1 en 2	1	2	1	12	24	1	1	1	1	1	1	3	1
3 oefendier	1	2	1	1	24	1	1	1	1	1	1	3	1

RELEVANTIE

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

Is het mogelijk om in de rat, als model voor de mens, gedurende langere tijd na een *in vivo* blootstelling aan TNT een up- en/of down-regulatie van bepaalde genen (als biomarker) vast te kunnen stellen?

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

Voor het Ministerie van Defensie is het beheersen van risico's van de manschappen van belang, zowel vanuit een wettelijk kader (zorgplicht) als vanuit het oogpunt van goed werkgeverschap en vanwege het behoud van het militair vermogen van Defensie. Er wordt gestreefd naar situaties waarin risico's bekend zijn, zodat deze ofwel worden vermeden danwel dat daarmee bewust en zorgvuldig wordt omgegaan. Toch kan er sprake zijn van onvermijdbare blootstellingen die onlosmakelijk verbonden zijn aan het militair optreden. Voorbeelden hiervan zijn blootstelling aan brandstoffen, pesticiden en explosieven. Defensie acht het retrospectief vaststellen van blootstellingen aan toxische stoffen en de effecten daarvan bij de militairen belangrijk. Daarom werd een Programma opgezet met als doel het ontwikkelen van een systematiek waarmee ziektebeelden die zich geruime tijd na een missie/oefening manifesteren, kunnen worden toegekend aan een blootstelling aan (klassen van) toxische stoffen. Deze studie vormt onderdeel van het onderdeel Proof of principle voor het vinden van Biomarkers van Effect. Gekozen werd voor de blootstelling aan het militair relevante TNT.

6.a.2 Economisch belang

Indien bekend is dat een persoon is blootgesteld aan een toxisch agens, kan worden gestart met een (gerichte) therapie waardoor die persoon meer kans heeft op een normaal functioneren. Daarnaast kan deze methode ook worden gebruikt om een persoon bij vermeende blootstelling gerust te stellen

indien geen effecten worden aangetoond. Op dat moment zal de persoon in kwestie ook effectiever zijn of haar taak uit kunnen voeren.

6.a.3 Milieu belang

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

Blootstelling van de mens aan allerlei toxische stoffen kan veelal resulteren in een up- en/of down-regulatie van bepaalde genen in de PBMCs (witte bloedcellen). Met behulp van allerlei kitjes kan uit de blootgestelde of controle PBMC's het RNA worden geïsoleerd. Na de omzetting in cDNA kan daarna door methoden als Micro-array en RT-PCR worden gekeken naar eventuele verschillen op gen-niveau. Op deze wijze zijn *in vitro* met PBMC's van de mens potentiële biomarkers gevonden voor meerdere stoffen, waaronder TNT (voor TNT zijn 8 biomarkers verder in detail onderzocht). Daarna is deze benadering bevestigd voor TNT met PBMC's van de rat. Om de haalbaarheid van het vinden van biomarkers enige tijd ná de blootstelling nog vast te stellen, wordt nu voorgesteld middels een diermodel (rat) de persistentie van een aantal biomarkers voor de blootstelling aan TNT te bepalen. In eerste instantie wordt deze korter durende pilotproef van 3 weken voorgesteld om na te gaan of er iets kan worden gezegd over de mate van persistentie. Indien de biomarkers of enkele ervan langer dan 3 weken aantoonbaar zijn, kan worden nagedacht over de opzet van een langere studie met grotere groepen dieren. Indien in deze kortere proef (pilot voor een proof of principle) blijkt dat geen persistentie van de markers aanwezig is, heeft het geen zin om voor de gekozen markers een proef met veel dieren in te zetten.

6.b Wetenschappelijk belang:

In het voorgestelde onderzoeksplan is precies duidelijk wanneer blootstelling aan een specifieke stof heeft plaatsgevonden via een relevante blootstellingsmethode. Er is dan sprake van een gecontroleerde blootstelling. Vanuit de praktijk zijn er 3 belangrijke toedieningsroutes: oraal door inslikken, inademen via de luchtwegen en besmetting via de huid. Besmetting via de huid en luchtwegen bemoeilijken in een proef vooralsnog de dosisbepaling. De permeabiliteit van de huid is nog onbekend en de inhalatoire expositie aan TNT deeltjes is uitermate complex. Aangezien er geen ervaring is met dergelijke blootstellingen aan TNT lijken dergelijke toedieningsmethoden in deze fase van het onderzoek (pilot voor een proof of principle) niet opportuun. De orale toedieningsroute is op dit moment de meest relevante keuze waarbij de dosis en tijdstip van expositie bekend zijn. Daar komt nog bij dat vanuit DEC 2323 bekend is dat bij een dergelijke blootstelling aan TNT de dieren niet overlijden of ziek worden ten gevolge van de toediening van TNT. Er zijn indertijd ook geen tekenen van onwelbevinden gevonden terwijl wel metaboliëten van TNT in de urine en faeces konden worden aangetoond. Dit geeft aan dat het TNT, in de gebruikte dosis, wel goed in de dieren is binnengekomen.

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?

Door de begeleiders van het Programma aan [REDACTED]

Zo nee, waarom niet?

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, voor zover van toepassing, naar standaardstudieplan voor de nadere uitwerking.

Het experiment bestaat uit twee experimentele groepen van 6 dieren: een controlegroep en een experimentele TNT-groep.

In eerste instantie zullen twee dieren worden ingezet in een oriënterende proef van drie weken. In deze dieren is sprake van ofwel toediening van TNT in olie (n=1 TNT) ofwel toediening van alleen olie (n=1; controle). Uit een eerdere proef (DEC 2323) is bekend dat bij een aantal dieren op 1 dag na de toediening, TNT in de faeces aantoonbaar was. Verder konden tot 2 dagen TNT-metabolieten in de urine worden aangetoond. Omdat de dieren elkaars faeces kunnen opeten en urine binnen zouden kunnen krijgen, zullen deze dieren dus na toediening van de TNT apart gehuisvest moeten worden. Op grond van deze resultaten zal de definitieve proefopzet voor de overige 10 dieren worden bepaald. De laatste 10 dieren zullen gedurende het gehele experiment worden gehuisvest in macrolon Type IV bakken.

De dieren kunnen gedurende tenminste 7 dagen na aankomst acclimatiseren. Op de avond van de laatste dag (dag -1), worden de dieren zonder voedsel weggezet zodat de dieren de volgende ochtend nuchter zijn. Dit ter bevordering van de homogene opname na orale toediening (via een sonde) van een bolus van een TNT-suspensie in zonnebloemolie op dag 1. De toegediende dosis bedraagt 5 mg TNT/ml/kg rat. De controleratten krijgen alleen zonnebloemolie toegediend. In DEC 2323 ondervonden de dieren geen negatieve effecten van deze dosis.

Vlak voor de toediening van het TNT in olie of de olie zal een bloedmonster (300 µl) worden afgenomen (t=0). Na toediening van de bolus zal op de volgende tijdstippen een bloedmonster worden afgenomen: 3, 6, 24 en 30 uur en dag 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18 en 19. Bloedafname zal plaatsvinden via een sneetje in de staart. Hiertoe gaan de dieren 15 min voor de bloedafname onder een warmtelamp. Na fixatie van de dieren in een fixatiehouder kan dan gemakkelijk bloed worden afgenomen. Het RNA in het bloed zal na afname worden

gestabiliseerd waarna het monster zal worden opgeslagen. Alle verzamelde monsters zullen na het einde van het experiment tegelijk verder worden opgewerkt en doorgemeten. Na het afnemen van het laatste bloedmonster zullen de dieren mbv Nembutal (i.p.) worden geëuthanaseerd.

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

GROEP	BEHANDELING	BIOTECHNISCHE HANDELING(EN)	AANTAL	SEXE
1a	Orale toediening van TNT in zonnebloemolie - pilot	1 nacht nuchter zetten, individuele huisvesting na toediening TNT, bloedafnames na plaatsen onder warmtelamp en in fixatiehouder, euthanasie	1	man
1b	Orale toediening van zonnebloemolie – pilot (blanco)	1 nacht nuchter zetten, individuele huisvesting na toediening zonnebloemolie, bloedafnames na plaatsen onder warmtelamp en in fixatiehouder, euthanasie	1	man
2a	Orale toediening van TNT in zonnebloemolie - definitief	1 nacht nuchter zetten, sociale huisvesting na toediening TNT, bloedafnames na plaatsen onder warmtelamp en in fixatiehouder, euthanasie	5	man
2b	Orale toediening van zonnebloemolie - definitief	1 nacht nuchter zetten, sociale huisvesting na toediening zonnebloemolie, bloedafnames na plaatsen onder warmtelamp en in fixatiehouder, euthanasie	5	man
3	Oefendier	Oefenen handelingen in dit protocol	1	vrouw

De totale proef met de 12 dieren zoals hier voorgesteld, is een pilot-proef. Het is voor het eerst dat wij deze proef in de huidige vorm uit gaan voeren. Tot nu toe hebben we de assays die bij deze proef horen, alleen uitgevoerd op *in vitro*-monsters. Nu gaan we werken met monsters afkomstig uit een levend dier. Hierdoor is het aantal en de grootte van de monsters beperkt. We hebben een protocol opgesteld op grond van gegevens uit andere protocollen en informatie van de leverancier. Op grond van de ons beschikbare informatie, zou het opgestelde protocol moeten werken. Om zeker te weten dat het voorgestelde schema van bloedafname en de grootte van de voorgestelde monsters ook bij ons goed werkt, willen wij

toch de pilot starten met een eerste oriënterende deelexperiment met 1 blanco controle en 1 bloedmonster uit een TNT-blootgestelde rat.

De genen die wij in de bloedmonsters gaan meten, zijn altijd in het bloed aanwezig. Na blootstelling aan TNT zal de mate van de expressie van deze genen down- of up-gereguleerd zijn (meer gen of minder gen dan de controle). Op grond van dit oriënterende deelexperiment kan geen statistisch juiste vergelijking worden gemaakt. Dat is ook niet ons doel. Wij willen met de $n=1$ voor de controle met olie en $n=1$ voor het blootgestelde dier aan TNT in olie alleen weten of de grootte van het bloedmonster voldoende is voor een goede bepaling van het gen.

Als alles verloopt zoals gepland, verlopen de metingen goed en hebben we voor beide groepen $n=1$ na het oriënterende deelexperiment. Daarna kan het voorgestelde protocol op dezelfde wijze worden uitgevoerd en worden aangevuld met $n=5$ per groep tot een totaal van $n=6$ per groep voor het gehele pilot-experiment.

Indien na het oriënterende deelexperiment blijkt dat de wij geen genen kunnen meten, is de gekozen monstergrootte te klein voor een goede assay. Dan zal het voorgestelde protocol moeten worden aangepast. De PDD stelde in een telefonisch overleg dat in dat geval het aantal dieren dat wordt aangevraagd dan ook verhoogd zal moeten worden. In dat geval volgt hierover dan in een later stadium overleg.

Als op enig moment een pilotproef met $n=6$ per groep is uitgevoerd, zal bekend zijn of de gekozen effecten op de genen een biomarker zijn die gedurende langere tijd na blootstelling gebruikt kan worden om blootstelling aan TNT aan te tonen. Dan zal ook meer bekend zijn over de periode waarop die biomarker bruikbaar is. Indien de effecten op de gekozen biomarkers na twee weken nog steeds aanwezig zijn, kan worden nagedacht over een proef die langer duurt (denk eerder aan maanden dan aan weken). Het leek ons te vroeg om direct een heel groot, langdurig experiment op te zetten, met bijbehorende controlegroepen waarbij achteraf blijkt dat de gekozen marker in vivo slechts kort bruikbaar is.

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.

Aangezien wij geen gegevens hebben over de statistische parameters uit deze proef, kunnen wij alleen afgaan op de fouten uit de *in vitro*-proeven. Daar is gebleken dat bij een aantal van 4-6 een trend kan worden aangetoond. Om te komen tot een goede statistische onderbouwing van de vervolg *in vivo* proeven, hebben wij de resultaten van de onderhavige pilot nodig. Wel willen wij 1 reservedier aanvragen voor de redenen zoals omschreven onder vraag 23. De verwachting is echter dat dit dier niet nodig zal zijn. Indien het dier wel nodig is, zal daar niet speciaal een dier bij de fokker worden aangekocht, maar zal worden gewerkt met een surplus-dier uit een andere faciliteit van TNO.

PROEFDIEREN, HUISVESTING EN VERZORGING

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

Er zal gebruik worden gemaakt van de mannelijke wistarrat van 280-300g van Harlan. In de proef zoals goedgekeurd in DEC 2323 is eveneens met dit type dieren gewerkt. De dieren zijn bij gebruik van de voorgestelde dosis TNT toen niet overleden of ziek geworden ten gevolge van de toediening van TNT. Er zijn ook geen tekenen van onwelbevinden gevonden terwijl wél metabolieten van TNT in de urine en faeces konden worden aangetoond. Daarom wordt nu ook voorgesteld om dezelfde dosis en hetzelfde mannelijke dier te gebruiken. Om later eventueel proeven (in modellen) te kunnen vergelijken, wordt daarnaast ook gekozen voor hetzelfde type dier.

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.

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.

Alle dieren zullen tijdens de gewenningsperiode sociaal worden gehuisvest. Alle dieren zullen de nacht voor de toediening nuchter worden gezet. Zij hebben dan wel de beschikking over water. De eerste twee dieren zullen individueel gehuisvest worden na de TNT/zonnebloemolie-toediening. Van de overige dieren kunnen TNT dieren en zonnebloemoliedieren (gescheiden) sociaal worden gehuisvest. Kooitype: macrolon Type IV bakken. Dagelijks voer en vers water *ad libitum*. Kooiverrijking met plastic bakjes om te schuilen, tissues en knaaghoutjes.

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
1a, 1b, 2a, 2b	12	Nuchter	nacht	2, gering/matig
1a, 1b, 2a, 2b	10	Bloedafnames in fixatiehouder	18 maal	3, matig
1a, 1b, 2a, 2b	10	Orale toediening; TNT in zonnebloemolie of zonnebloemolie	1 x	1, gering
1a, 1b	2	Individuele huisvesting	19 dagen	2, gering/matig
1a, 1b, 2a, 2b	12	Euthanasie met nembutal (i.p.)	1 x	1, gering
oefendier	1	Alle handelingen, behalve nuchter		

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

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 en 2	12	3
3 (indien gebruikt)	1	3

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

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

De dieren krijgen kooiverrijking (zie vraag 15). Voor de bloedafname gaan de dieren 15 min onder de warmtelamp zodat de bloedafname uit de staart gemakkelijker is en daardoor minder ongerief veroorzaakt. Pijnbestrijding is niet nodig. Alleen de twee pilot-dieren zullen na aanvang van de proef individueel worden gehuisvest. De overige dieren worden sociaal gehuisvest.

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

De dosering van de stof is zodanig gekozen dat geen toxische effecten worden verwacht. De resultaten uit DEC 2323 bevestigen dit ook. Er is verder geen reden om te verwachten dat er dieren uit proef moeten worden genomen.

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.

Geen.

ALTERNATIEVEN

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

Voorafgaand aan deze *in vivo* proef is *in vitro* gewerkt met PBMC's van de mens en later van de rat. Hierbij konden effecten op bepaalde genen worden aangetoond. Het doel van deze proef is het bestuderen hoe lang deze effecten aanhouden. Het systeem met de *in vitro* PBMC's is niet robuust genoeg om meer dan een aantal dagen (1-2 dagen maximaal) de persistentie van een marker goed te onderzoeken. Hiervoor is een geheel levend dier een beter model. Daarom wordt voorgesteld deze dierproef uit te voeren.

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:

In personen die zijn blootgesteld aan TNT zouden mogelijk ook dezelfde biomarkers van effect kunnen worden onderzocht. Het nadeel hiervan is dat de blootstelling dan vaak onbekend is in de zin van tijd en dosis. Daarnaast kunnen bepaalde genen ook worden beïnvloed door geheel andere blootstellingen dan aan TNT. Dergelijke personen zijn daarom

geen goede basis wanneer het gaat om een proof of principle waarbij een gecontroleerde blootstelling aan TNT noodzakelijk is.

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

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

- ☐ TNO-Netwerk voor Alternatieven, tel. [REDACTED]
- ☐ Art. 14 functionaris ([REDACTED])
- ☐ Nationaal Centrum Alternatieven voor Dierproeven (tel. 030 - 253 21 63)
- ☐ elders, n.l.:
- ☒ X zo nee; waarom niet: zie vraag 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 brengen.

nvt

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

TNT	Trinitrotolueen
PBMC's	Peripheral blood mononuclear cells (verzamelnaam voor witte bloedcellen)
RT-PCR	In dit geval Realtime-Polymerase Chain Reaction (een methode om een hoeveelheid DNA om te zetten in een grotere, goed meetbare hoeveelheid DNA).
Microarray	Een RT-PCR bepaalt veelal een specifiek gen. Met een microarray kunnen meerdere genen tegelijkertijd worden bepaald.

[REDACTED]
[REDACTED]

datum:

datum:

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