

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC- UM

Versie 2006

Herziene versie

DECNR: 2011-029

Ontvangen: 17-03-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
18-03-2011	Nieuw / Herz.versie / Pilot

VROM/GGONR ³

LNV/CBDNR ⁴

Hoofdproject	CARIM	NUTRIM	Hersenen en gedrag	GROW	biomaterialen	Ander UM	Geen UM
--------------	-------	--------	--------------------	------	---------------	----------	---------

Deelproject	1. 2. 3.	1. 2. 3. 4.	1. 2. 3.	1. 2. 3.			X
-------------	----------	-------------	----------	----------	--	--	---

Financieel beheerder	
----------------------	--

Budgetnummer	503220 10010578 (TU/e,
--------------	---------------------------

Titel van het onderzoek:

Snelle technieken voor cardiovasculaire MRI van de muis

startdatum 01-04-2011

einddatum 30-03-2015

Duur van de proef¹⁰:

6 maanden

Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en VM)	E-mailadres	Bevoegdheid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)			Art.9	
2. Vervanger VO (VVO)			Art.9	
3. Verantwoordelijk medewerker (VM) GGO ⁷				
4. overige uitvoerenden			Art. 12 Art. 12 Art. 12.	

Diergroep	1	2					
ctrl/exp/sham	Exp	Exp					
Diersoort	01	01					
Stam	C57bl/6	C57bl/6					
Construct / mutatie ?	nee	nee					
Herkomst (leverancier) *	02	02					
Aantal	29	15					
Geslacht	V	V					
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja					
Leeftijd/gewicht	20-25g	20-25g					
Doel van de proef *	31	31					
Belang van de proef *	01	01					
Toxicologisch onderzoek *	01	01					
Bijzondere technieken *	01	01					
Anesthesie *	04	04					
Pijnbestrijding *	01	01					
Mate ongerief *	03	03					
Toestand dier einde exp*	01	01					

* VIII-coderingen zie bijlage

1 Verantwoording

Aanvraag dierproef DEC-UM (kaders zijn licht flexibel, maar het geheel is max. 5 pag. versie 2006)

Titel: Snelle technieken voor cardiovasculaire MRI van de muis

1. Doel van de proef.

Muismodellen worden veel gebruikt in onderzoek naar hart- en vaatziekten. En er is een grote verscheidenheid aan ziektemodellen beschikbaar. Een belangrijke niet-invasieve techniek die in dit onderzoek gebruikt wordt is MRI. Naast gedetailleerde anatomische beelden wordt MRI ook gebruikt voor bijvoorbeeld functiemetingen van het hart, bloedperfusie metingen van (hart)weefsel, detectie van ziektemarkers m.b.v. (bindende) contrastmiddelen en kunnen met verschillende wegingen endogene contrasten uitgebuit worden. Deze 'toolbox' van de cardiovasculaire MRI is voortdurend in ontwikkeling en er worden voortdurend nieuwe technieken ontwikkeld en bestaande technieken verbeterd waarmee efficiënter, sneller of meer informatie kan worden verkregen.

Veel van deze technieken worden niet direct ontwikkeld voor gebruik in kleine proefdieren, of voor cardiovasculaire toepassingen. Cardiovasculaire MRI van kleine proefdieren is de meest uitdagende toepassing gezien de kleine afmetingen en hoge hart- en ademritmes die zware eisen aan resolutie en snelheid stellen.

Doel van dit project is aanpassing en optimalisatie van diverse nieuwe en verbeterde MRI technieken voor cardiovasculaire toepassingen in muizen.

Dit project kan gezien worden als een vervolg op de ontwikkeling van een _____ voor het _____ (DEC 2009-078) waarin ook al een techniek aangepast werd voor gebruik in de muis. Deze techniek is nu succesvol geïmplementeerd¹ en wordt in diverse nieuwe projecten gebruikt (waaronder DEC 2010-109).

De technieken die in het huidige project geïmplementeerd worden zullen van toepassing zijn voor veel cardiovasculaire studies die op de Technische Universiteit Eindhoven uitgevoerd worden. Door de potentiële winst in efficiëntie, snelheid en hoeveelheid informatie uit één experiment zal dit direct bijdragen aan verfijning en vermindering van het proefdiergebruik in deze projecten.

2. Maatschappelijke relevantie en/of wetenschappelijk belang



Dit project is erop gericht om MRI technieken te verbeteren in het kader van onderzoek in muismodellen van hart- en vaatziekten. Deze modellen worden veelvuldig gebruikt omdat translatie naar de mens mogelijk gebleken is. Zo worden ze bijvoorbeeld ingezet in onderzoeken naar nieuwe strategieën voor diagnostiek en therapie of naar de oorzaken en pathologie van bepaalde aandoeningen. Verbetering van MRI-technieken in de muis hebben daarom indirect een bijdrage aan het cardiovasculaire onderzoeksveld in de kliniek.

3. Alternatieven

Het gaat in dit project om aanpassing van MRI technieken voor toepassing in muismodellen. Aan in vivo toepassing gaat een traject van computer simulatie en/of optimalisatie in fantoomexperimenten vooraf. Op deze manier wordt het aantal benodigde muizen tot een minimum beperkt. Het is echter onontkoombaar om de technieken uiteindelijk in vivo in muizen te testen. Alleen dan zijn alle omgevingsfactoren zoals adem- en hartbeweging en bloedstroom aanwezig. Bij andere afbeeldingstechnieken, zoals PET of CT wordt het dier blootgesteld aan schadelijke ioniserende straling, terwijl MRI niet schadelijk is. Daarnaast heeft MRI een zeer hoge resolutie, wat leidt tot minimale variatie in de metingen.

4. Ethische afweging

In deze proeven worden MRI technieken getest en vergeleken die in potentie kunnen bijdragen aan verfijning en vermindering van proefdiergebruik voor cardiovasculair onderzoek. Het experiment kan geplaatst worden in het bredere kader van fundamenteel onderzoek naar de toepasbaarheid van (moleculaire) imaging technieken om de ernst van hart- en vaatziekten beter te kunnen diagnosticeren. In dat kader vinden wij dat het belang van het onderzoek opweegt tegen het ongerief van de proefdieren.

3 Wetenschap

5. Wetenschappelijke onderbouwing

Muismodellen worden veel gebruikt in onderzoek naar hart- en vaatziekten. En er is een grote verscheidenheid aan ziektemodellen beschikbaar. Een belangrijke niet-invasieve techniek die in dit onderzoek gebruikt wordt is MRI. Met MRI kunnen gedetailleerde anatomische beelden gemaakt worden waarbij verschillende endogene contrasten gebruikt worden. Daarnaast wordt MRI ook gebruikt voor bijvoorbeeld functiemetingen van het hart, bloedperfusie metingen van (hart)weefsel en detectie van ziektemarkers m.b.v. (bindende) contrastmiddelen. Deze 'toolbox' van de cardiovasculaire MRI is voortdurend in ontwikkeling en er worden voortdurend nieuwe technieken ontwikkeld en bestaande technieken verbeterd waarmee efficiënter, sneller of meer informatie kan worden verkregen.²⁻⁴

Veel van deze technieken worden niet direct ontwikkeld voor gebruik in kleine proefdieren, of voor cardiovasculaire toepassingen. Cardiovasculaire MRI van kleine proefdieren is de meest uitdagende toepassing gezien de kleine afmetingen en hoge hart- en ademritmes die zware eisen aan resolutie en snelheid stellen.

Doel van dit project is aanpassing en optimalisatie van diverse nieuwe en verbeterde MRI technieken voor cardiovasculaire toepassingen in muizen. Meer concreet gaat het om een aantal vernieuwingen, in te delen in 4 benaderingen.

Hieronder volgt een uitgebreide beschrijving van de nieuwe MRI technieken verdeeld naar de 4 benaderingen, zie tabel 1 voor een samenvatting.

De eerste groep omvat nieuwe MRI technieken met kortere dan meer traditionele methoden. Dit zijn Deze technieken maken het afbeelden van materialen met zeer korte tijd mogelijk. Dit zijn bijvoorbeeld fibreuze weefsels en calcificaties in atherosclerotische plaques of hartinfarct, maar ook bepaalde (hoge concentraties) contrastmiddelen. De verschillende technieken maken gebruik van een verschillende benadering welke de toepasbaarheid voor cardiovasculair onderzoek kan beïnvloeden. Verder hebben ze een verschillend bereik. Daarom is het belangrijk om alle vier de technieken te optimaliseren en te vergelijken voor cardiovasculaire MRI van muizen.⁵

De tweede groep omvat versnellingsstrategieën die op verschillende MRI sequenties toegepast kunnen worden. Het gaat hierbij om de manier waarop de k-ruimte bemonsterd wordt. Klassiek gebeurt dit lijn voor lijn en dat kost veel tijd. Bij wordt door snelle gradiënten de of in () uitgelezen. Deze techniek wordt bijvoorbeeld gebruikt voor snelle Maar ook op zichzelf voor een acquisitie van een snelle tijdsserie van beelden als bijvoorbeeld bij perfusie-metingen. Een andere interessante strategie is vaarbij () uitgelezen worden in plaats van bemonsterd worden, waardoor de meting versneld wordt. Een derde strategie, Door gebruik van meerdere spoelen wordt er in het voldoende informatie verkregen om de In gebeurt dit door gebruik te maken van het signaal. Zo kan bijvoorbeeld een meting met op basis van gemaakt worden.⁶

Naast versnellingen zijn er ook een aantal technieken die nieuwe contrasten op kunnen leveren en daarmee betere weefseldifferentiatie mogelijk maken. Dit zijn en

Met kan de diffusie coëfficiënt bepaald worden, welke in bijvoorbeeld atherosclerotische plaques helpt de fibreuze kap van de lipide kern te onderscheiden.

is een contrast waarvan de gevoeligheid vooral in het macromoleculaire domein ligt. Dit maakt de techniek potentieel zeer geschikt voor het onderscheiden van plaque inhoud. Daarnaast is de hypothese dat deze techniek

De laatste benadering gaat over het verbeteren van de hart- en ademtriggering van MRI sequenties. Zo zijn er MRI metingen waarbij uitbreiding met ; zeer bruikbaar is. Hiermee kunnen exacte acquisitietijden vastgelegd worden. Bijvoorbeeld bij perfusie metingen zou deze : een nauwkeurige bepaling van de tijd-as van perfusiecurves mogelijk maken. Nu gebeurt dat nog door uit te gaan van de gemiddelde hartslag over de gehele meting. Maar ook voor een , l meting, waarbij de T1 weging afhankelijk is van de tijd tussen inversiepuls en acquisities, is het van belang om een zeer nauwkeurige tijdsbepaling te hebben. Daarnaast zijn er sequenties als de waarbij puls series over meerdere hart slagen heen gaat. Voor deze sequenties is het van belang dat pulsen in de juiste hartfase gegeven worden. Dit wordt nu nog bereikt door uit te gaan van de gemiddelde hartslag voor de start van het experiment, maar kan veel nauwkeuriger door gebruik te maken van . Ook dit vergt echter aanpassing van de sequenties.

Een schematisch overzicht van de sequenties die we in dit project willen implementeren, aanpassen en/of optimaliseren voor toepassing in cardiovasculair onderzoek met muizen:

Sequentie	implementeren	EPI	k-t GRAPPA	Radial		
	X					
	X					
	X					
	X					
		X			X	X
		X				
						X
	X	X		X		
	X					
		X	X	X	X	
		X	X	X		

Tabel 1: schematische weergave voorgestelde sequenties/aanpassingen

6. Wetenschappelijke beoordeling

De opzet van de experimenten als beschreven in dit DEC protocol zijn beoordeeld en goedgekeurd door ; van de Technische Universiteit Eindhoven.

5 Proefdier

7. Proefdier keuze

7a. Soort, stam / herkomst / eindbestemming

Er is gekozen voor de C57bl/6 muis, omdat deze muis, genetisch gemodificeerde varianten en chirurgische modellen hiervan veel gebruikt worden in het cardiovasculair onderzoek.

Herkomst: Charles River

Het dier zal na de proef opgeofferd worden. Kadavers worden tijdelijk opgeslagen in de daarvoor bestemde diepvries en vervolgens aangeboden aan het van de Technische Universiteit Eindhoven.

7b. Sexe

Voor een goede validatie is het nodig dat de dieren ongeveer hetzelfde gewicht en hart grootte hebben. Het gebruik van beide geslachten zou tot onnodig veel variatie in de experimenten leiden en daarmee tot een groter aantal proefdieren. Ten behoeve van de reproduceerbaarheid wordt daarom gekozen voor één geslacht, namelijk vrouw. Daarnaast zijn vrouwtjes beter in groepsverband te huisvesten, omdat ze minder vechten.

7c. Aantallen

Experiment 1: In vorige projecten is gebleken dat implementatie van een sequentie en optimalisatie van de meetparameters gemiddeld 16 uur in vivo meettijd per methode kost. In experiment 1 gaat het om alle meetmethoden die zonder contrastmiddel injectie getest kunnen worden. Dit zijn er in totaal 20, zie tabel 1 (ook de perfusie metingen moeten geoptimaliseerd worden alvorens met injecties te starten). Per muis wordt uitgegaan van 6 meetmomenten van 3 uur, waarvan na positioneren en plannen nog ± 2 uur over blijft. Per muis zijn er dus $6 * 2 = 12$ uur effectieve meettijd. Met 20 methodes en 16 uur per methode zijn er in totaal $20 * 16 = 320$ meeturen nodig. Dit resulteert in $320/12 = 26,7$ dieren. Deze uitval zal echter zeer gering zijn (5%). Met 5% uitval zijn er dus $26,7/0,95 = 28.1 \rightarrow 29$ dieren benodigd.

In experiment 2 worden de vernieuwde methoden voor perfusie metingen met elkaar vergeleken. Het gaat hierbij om de technieken waarbij de acquisitie aangepast wordt: EPI, radial en k-t GRAPPA. De trigger feedback hoeft niet apart met contrastinjectie getest te worden. De verschillende methoden kunnen niet in dezelfde meting onderzocht worden. De meting moet tijdens de injectie gedaan worden en er is per meting maar één contrastinjectie mogelijk. Het is bij deze meting van belang dat de piek van de signaalversterking met voldoende tijdsresolutie gemeten wordt. Naar verwachting is deze signaalversterking ($=\delta$) 40% met een spreiding ($=\sigma$) van 20%. Gebruik makend van een power π van 0.8 en $\alpha = 0.05$, geeft de formule van L. Sachs: $N = 15.7 * (20/40)^2 = 3.93$.

Inclusief 10% uitval zijn er $4.37 \rightarrow 5$ dieren benodigd per methode. Met 3 te onderzoeken methodes is het totaal voor deze groep 15 dieren.

Samengevat:

Experiment 1 $\rightarrow 29$

Experiment 2 $\rightarrow 15$

De totale aanvraag omvat 44 dieren.

6 Dierproef

8. Experiment

Experiment 1: Niet contrastversterkte metingen

In experiment 1 worden de sequenties getest waarvoor geen contrastmiddel injectie nodig is. De muizen worden gescand volgens SOP1 volgens onderstaand schema. Het is bij dit experiment niet noodzakelijk om een strikt tijdsschema aan te houden, daarom wordt ervoor gekozen om de muizen minimaal 10 dagen rust te geven. Na een dergelijke herstelperiode is er geen cumulatief effect meer van herhaalde scans op het ongerief. Daarom kunnen de muizen vaker in de scanner en kan het totaal aantal dieren omlaag. Om hier toch een grens aan te stellen wordt iedere muis maximaal 6 keer gescand. Om een bovengrens te stellen aan de tijd die de dieren in experiment zitten, wordt de laatste meting uiterlijk 6 maanden na de eerste meting uitgevoerd. Direct na afloop van de laatste scan worden de muizen onder algehele anesthesie geëuthanaseerd d.m.v. cervicale dislocatie.

MRI 1	MRI 2	MRI 3	MRI 4	MRI 5	MRI 6+†	Max
	↔ >10 dgn →	↔ >10 dgn →	↔ >10 dgn →	↔ >10 dgn →	↔ >10 dgn →	6 mnd

Experiment 2: Contrastversterkte metingen

In experiment 2 worden de sequenties getest waarbij injectie van een MRI contrastmiddel tijdens de scan nodig is, dit zijn de metingen. De muizen worden maximaal 3x gescand volgens SOP1. Hierbij worden uit het oogpunt van het herstel van de muizen en klaring van het contrastmiddel minimaal 2 dagen rust tussen opeenvolgende scans gehouden. De contrastmiddel injectie verloopt volgens SOP2. Direct na afloop van de laatste scan worden de muizen onder algehele anesthesie geëuthanaseerd d.m.v. cervicale dislocatie.

Dag 0	Dag 3 of later	Dag 6 of later
MRI + injectie	MRI + injectie	MRI + injectie + opofferen

9. Experimentele condities

9a. Anesthesie

Tijdens de MRI scans wordt algehele anesthesie toegepast met behulp van inhalatie anesthesie (mondkapje) met isofluraan (inductie: 3-4%, onderhoud: 1-3%). Het anestheticum wordt toegediend met behulp van medische lucht als dragergas (0.4 l/min).

9b. Pijnbestrijding

Aanvullende pijnbestrijding is niet noodzakelijk.

9c. Euthanasie en Humane eindpunten

- Na afloop van het experiment worden de muizen onder algehele anesthesie geëuthanaseerd middels cervicale dislocatie.
- Indien de dieren gedurende huisvesting abnormale gedragsverandering of sterke gewichtsafname (>15% in een week) ondergaan, wordt in overleg met de art. 14/art. 12 besloten of het dier geëuthanaseerd moet worden.

10. Ongerief



Exp 1	Handeling	Duur	Frequentie	Ongerief
	ontwaken anesthesie	10 min	5x	03
	MRI-scan	<3 uur	6x	03
	Euthanasie	1 min	1x	01
Totaal Exp 1				03

Exp 2	Handeling	Duur	Frequentie	Ongerief
	ontwaken anesthesie	10 min	2x	03
	MRI-scan + injectie	<3 uur	3x	03
	Euthanasie	1 min	1x	01
Totaal Exp 2				03

11. Verzorging en huisvesting

De huisvesting en verzorging vinden plaats in het dierenverblijf van de Technische Universiteit Eindhoven, onder de daar geldende condities en normen (groepshuisvesting). De muizen hebben ad libitum toegang tot voer en drinken.

12. Deskundigheid

Alle betrokkenen zijn bevoegd en bekwaam voor de beschreven procedures.

13. Standard Operation Procedures (SOP)

SOP1: in vivo MRI scans

Anesthesie:

- Algehele anesthesie met behulp van inhalatie anesthesie (dragergas: medische lucht 0.4 l/min) met isofluraan (inductie: 3-4%; onderhoud: 1-3%). De diepte van de anesthesie wordt gecontroleerd via testen van het ooglid- en teenreflex.

Preparatie en positionering:

- De muis wordt in een speciaal ontworpen muizenspoel gelegd met geïntegreerde anesthesietoevoer. Ook een warmtematje en oogzalf worden aangebracht.
- De ECG elektroden worden aangebracht
- Het lichaam wordt licht gefixeerd en een klein ballonnetje wordt op de onderbuik gedrukt om een ademhalingssignaal te monitoren, mede als doel het effect van de anesthesie te beoordelen. De temperatuur wordt tevens gemonitord.
- De spoel met muis wordt in de scanner geschoven.

Scannen:

- De MRI scanner wordt ingesteld. Vervolgens wordt er maximaal 4 uur gescand. MRI scans vinden plaats in de MRI ruimte van de groep van de TUE.



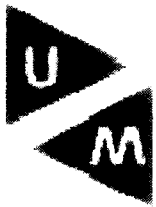
SOP2: Inbrengen van infuus voor toedienen van contrastmiddel

De muizen zullen voorafgaand aan of tijdens (DCE-MRI) het scannen de volgende handelingen ondergaan:

- Algehele anesthesie met behulp van inhalatie anesthesie (dragergas: medische lucht 0.4 l/min) met isofluraan (inductie: 3-4%; onderhoud: 1-3%). De diepte van de anesthesie wordt gecontroleerd via testen van het ooglid- en teenreflex.
- Gedurende het experiment wordt de lichaamstemperatuur op peil gehouden door middel van een warmteplaat, waarop de muis gepositioneerd wordt, onder voortdurende bewaking van de ademhalingsfrequentie.
- De staartvene zal worden aangeprikt en een infuusslangetje en spuit met het contrastmiddel wordt aangesloten.

Relevante literatuur

1. Coolen et al. (2010). *Mouse myocardial first-pass perfusion MR imaging*. Magn. Reson. Med. 64(6):1658-63
2. Makowski et al. (2010). *Cardiovascular MRI in small animals*. Expert Rev. Cardiovasc. Ther. 8(1):35-47.
3. Hiller et al. (2008). *Magnetic resonance of mouse models of cardiac disease*. Handb Exp Pharmacol. (185 Pt 2):245-57.
4. Epstein (2007). *MR in Mouse models of cardiac disease*. NMR Biomed. 20:238-255.
5. Chan et al. (2010). *Ultra-short echo time cardiovascular magnetic resonance of atherosclerotic carotid plaque*. J Cardiovasc Magn Reson. 12:17
6. Huang et al. (2005). *k-t GRAPPA : a k-space implementation for dynamic MRI with high reduction factor*. Magn. Reson. Med. 54:1172-1184



University Maastricht

Faculty of Health, Medicine

and Life Sciences

Dierexperimenten Commissie

DEC

Aan:

(voorzitter
p/a Secretariaat DEC-UM
Postbus 616
NL-6200 MD Maastricht
Telefoon: (

Uw referentie:

Onze referentie :

Maastricht, 01-03-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: "*Snelle technieken voor cardiovasculaire MRI van de muis*", is op de DEC vergadering van 25 februari 2011 besproken.

De DEC heeft één enkele vraag:

- De DEC verzoekt bij punt 7c de uitval te motiveren.

Gelieve eventuele vragen te beantwoorden in **een brief en indien noodzakelijk Uw project aan te passen en duidelijk de aanpassingen grijs te markeren.**

Uw project staat bij de DEC geregistreerd onder nummer **2011-029**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Postbus 513
5600 MB Eindhoven

I
Postbus 616
6200 MD Maastricht

Uw referentie: .

Eindhoven, 3 maart 2011

Beste

Ik heb de wijzigingsbrief ontvangen voor projectaanvraag 2011-029, welke op de DEC vergadering van 25 februari jl. behandeld is. Naar aanleiding van de vraag van de DEC heb ik een wijziging in de projectaanvraag aangebracht. Graag beantwoord ik uw vraag en licht ik de wijziging toe.

Uw vraag was om bij punt 7c de uitval te motiveren. Voor experiment 1 verwacht ik dat de enige mogelijk bron van uitval veroorzaakt door het experiment het herhaaldelijk toedienen van anesthesie is. Deze uitval zal echter zeer gering zijn en heb ik (in overleg met onze biotechnici) geschat op 5%. Door deze lagere uitval (deze was 10%) wordt het aantal dieren voor dit experiment 29 (dit was 30). Mogelijke bronnen van uitval voor experiment 2 zijn het herhaaldelijk toedienen van anesthesie en het falen van de injectie. De injectie kan mis gaan als de naald in de tijd tussen aanprikken en injectie uit het vat komt. Gezien de duur van de meting is het geen optie om de muis dan uit de scanner te halen en opnieuw aan te prikken en moet de meting dus als verloren beschouwd worden. Door goede fixatie van de naald in de staart wordt deze vorm van uitval echter tot een minimum beperkt. De totale uitval wordt daarom geschat op 10%. Het uitvalspercentage van experiment 2 blijft daarmee ongewijzigd.

Ik hoop dat ik hiermee de vraag van de DEC voldoende beantwoord heb. Ik wacht graag uw antwoord af.

Met vriendelijke groet,

Aan:

*Ons kenmerk**Doorkiesnummer**Maastricht*
29-03-2011Project: *Snelle technieken voor cardiovasculaire MRI van de muis.*DEC-UM
Voorzitter DEC-UM

Verantwoordelijk onderzoeker (VO):

p/a secretariaat DEC-UM

Hierbij delen wij U mede dat voornoemd project aan de ethische
toetsingscriteria voor proefdiergebruik voldoet.*Secretariaat DEC-UM*De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals
aangevraagd en geeft een **positief advies**.*Bezoekadres*

Projectnummer: 2011-029

Diersoort: muis

Aantal dieren: 44

Einddatum: 18-03-2015

Postadres
Postbus 616
6200 MD MaastrichtUw project staat bij de DEC en CPV geregistreerd onder bovenstaand
nummer. Gelieve dieren, die voor dit project bestemd zijn, ook onder dit
nummer aan te vragen.

Voorzitter DEC-UM

Vice-Voorzitter DEC-UM