

45

Begeleidingsformulier aanvraag dierproef DEC-UM

Versie 2006

Herziene versie

DECNR: 2011-023

Ontvangen: 17-04-2011

DEC datum goedkeuring#	Type aanvraag 2
29-04-2011	Nieuw

VROM/GGONR ³

LVN/CBDNR ⁴

Hoofdproject	Geen UM						
--------------	---------	--	--	--	--	--	--

Deelproject	nvt						
-------------	-----	--	--	--	--	--	--

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

Budgetnummer	3001000N
--------------	----------

Titel van het onderzoek:

Endoluminal placement for the protection of colonic anastomoses against leakage

startdatum 01-04-2011

einddatum 01-10-2011

Duur van de proef¹⁰: 7 dagen

	Naam	Tel (+ Tel privé enkel VO, VVO en ...)	E-mailadres	Bevoegd- heid ⁵	Cap. groep /afdeling
1. Verantwoordelijk onderzoeker (VO)				Art 9	
2. Vervanger VO (VVO)				Art 9	
3. overige uitvoerenden				Art 9	
4.					
5.					

Diergroep	1	2	3	4	5	6	
ctrl/exp/sham	Exp	Exp	Exp	Exp	Sham	Sham	
Diersoort	02	02	02	02	02	02	
Stam	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar	
Construct / mutatie ?	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	
Herkomst (leverancier) *	01	01	01	01	01	01	
Aantal	11	19	11	19	11	19	
Geslacht	m/f	m/f	m/f	m/f	m/f	m/f	
Dieren immuuncompetent ?	ja	ja	ja	ja	ja	ja	
Leeftijd/gewicht	250-350g	250-350g	250-350g	250-350g	250-350g	250-350g	
Doel van de proef *	05	05	05	05	05	05	
Belang van de proef *	01	01	01	01	01	01	
Toxicologisch onderzoek *	01	01	01	01	01	01	
Bijzondere technieken *	01	01	01	01	01	01	
Anesthesie *	04	04	04	04	04	04	
Pijnbestrijding *	04	04	04	04	04	04	
Mate ongerief *	04	04	04	04	05	05	
Toestand dier einde exp*	01	01	01	01	01	01	

* VHI-coderingen zie bijlage

Application animal experiment DEC-UM

Titel: Endoluminal
against leakage

placement for the protection of colonic anastomoses

1. The aim of the experiment

The aim of this study is to evaluate the protective value of two types of fully
... against leakage of the colonic suture line after colorectal surgery
(anastomotic leakage). Up until now gastrointestinal ... s have not been used for this
purpose.

We hypothesize that peroperatively placed ... eliminate the adverse effects (risk of
peritonitis) in case of anastomotic leakage and thus reduce post operative complications and
mortality.

We will test this hypothesis in a rat model of anastomotic leakage, in which the intervention
group will have a ... placed during a partial colectomy procedure.

2. Social and scientific significance

Colorectal cancer is the third most common cancer in adults. Surgery is the only curative
therapy in which anastomotic leakage is the most common and severe complication.

Anastomotic leakage can lead to intra-abdominal abscesses, faecal peritonitis and sepsis
which is often fatal. In addition, the oncological outcome is significantly worse in patients with
anastomotic leakage. Although an extensive amount of research is performed on this topic,
leakage rates are still between 5 to 20 percent. Therefore, there is an urgent need for
efficient preventive measures against anastomotic leakage.

In the current practise, faecal deviation with a stoma is used to reduce the risk of adverse
events in case of leakage. A stoma results in additional morbidity and need for a second
surgical procedure. The use of ... s could eliminate the need of a stoma and thus
eliminate the need of a second surgical procedure and associated complications.

In oesophageal perforation, ... have already proven to be an effective treatment.
This success may also apply to colorectal surgery.

3. Alternatives

Due to the complex structure and (patho)physiology of the gut, in vitro models are not
suitable in the context of anastomotic leakage.

Direct use of ... s in humans is not yet feasible because this technique has not yet
proven to be safe. Possible adverse effects of ... placement on wound healing especially
in the gut have not been studied yet.

As is stated in section 7a, rats will be used since this surgical procedure is not feasible in
mice. To our best knowledge, no further reduction, refinement or replacement could be
integrated in this study. (1,2)

4. Ethical considerations

As stated above, anastomotic leakage is a major problem in colorectal surgery, leading to severe morbidity, high mortality rates and an increase in healthcare costs. Therefore, it is important to reduce the risk of leakage, especially since the amount of colorectal surgery performed these days is increasing rapidly.

The animals in this experiment have to endure abdominal surgery and recovery. With use of pain medication, we expect the animals to experience moderate to severe discomfort.

In the control group, some of the animals will develop anastomotic leakage and clinical relevant peritonitis. In time, this will cause major discomfort and the need to scarify these animals according to the humane endpoints. As soon as signs of delayed recovery or a new period of weightloss and altered behaviour is observed, the animals will be taken out of the experiment as described in 9c.

We will respect the intrinsic value of the animals as best as we can by taking suffering animals out of the experiment and by providing adequate pain relief. In our concluding opinion, the goal of the experiment outweighs the discomfort of these animals.

Scientific

5. Scientific background

Colonic anastomotic leakage is a major adverse event after colonic surgery. In the past decades, hundreds of studies are performed to investigate many factors and techniques to reduce the leakage percentage. The main cause of current leakage rate of 5-20% is still unknown. Experts suggest that compromised anastomotic healing, for instance due to anastomotic hypoxia, suboptimal nutritional state and preoperative irradiation causes anastomotic leakage. This failure in the healing process can explain the delay clinical signs until day 3-5.

have been successfully used before in the gastrointestinal tract, for instance to cover an oesophageal rupture or to dilate a colorectal stricture. Known problems are the migration of stents and the long term erosion causing bowel perforation. We will investigate the protective effects on leakage of fully to eliminate the need for removal and the risk of long term adverse events.

In this study, two different types of will be used, one that will be placed directly over the anastomosis, and a second with a attached to it. This second will be placed proximal of the anastomosis to prevent possible adverse effects of pressure on the anastomosis.

In most animal models rats or mice are used, depending on the expected outcome and used technique. Mice are more prone to infection than rats and show more symptoms of anastomotic leakage and may experience more discomfort. In this study, rats are more suitable because the larger diameter of their colon is necessary

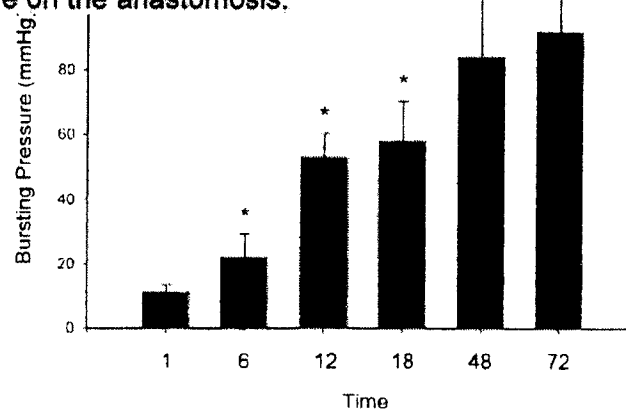


Fig. 2 Bursting pressure in rats immediately and 6, 12, 18, 48, and 72 h after formation of four-suture colonic anastomosis. Bursting pressure is defined as the maximum pressure (mmHg) at rupture of the anastomosis. Data are mean values $\pm$ SD ($n=6-9$). * $P<0.05$ vs. 1 h

for the technical aspect of placing the (3)

In this specific study, the most profound results will be seen in case of a high rate of anastomotic leakage in the control group. To induce a higher rate of leakage, we will make a nonsufficient anastomosis with 4 interrupted sutures.

Even then, only 16% of the controls will develop signs of peritonitis, as seen in a previous study in this facility which used the same anastomotic technique in their control groups. (4)

In the intervention group, we use the same anastomotic technique, protected with an endoluminal covered stent and expect to see no signs of leakage at all. The expected 16% peritonitis is a good number for comparison with the human situation of 5-20% leakage.

An other previous study compared different measuring techniques of anastomotic strength in a 8 suture and 4 sutures model. They found a 100% radiological leakage rate in the 4 sutures group, which dropped to 56% after 6 hours and 0% after 12 hours up to 3 days. Bursting pressure increased concomitantly after formation of the anastomosis. (5)

We do realise that an insufficient anastomosis with growing strength is not completely comparable to the human situation in which the anastomosis gradually fails after a couple of days. Although we do not expect that protective value of a depends on the mechanism of anastomotic failure. In previous studies, iatrogenic bowel perforations have been used to evaluate the results of anastomotic leakage. In this experiment, we choose to use an anastomosis to include possible negative effects of pressure on the anastomotic healing process as well.

Anastomotic strength will be evaluated at day 3 and 7 postoperative during an experiment. First the peritoneal cavity is evaluated for adhesions according to the scale of Van der Ham et al (6) and for abscesses and peritonitis. Afterwards, the anastomosis will be tested in situ for leakage with methylene blue injection and a bursting pressure measurement.

Finally, the anastomosis will be evaluated macroscopically on dehiscence and migration of stent position and histological on tissue reaction.

No other, less invasive measurements are suitable for determining anastomotic leakage. For instance CRP can not differentiate adequately between abscess formation or wound infection and anastomotic leakage. Markers for enterocyte damage and inflammation as I-FABP are still experimental and their relation with anastomotic dehiscence is unknown. (4)

6. Scientific assessment

This project is peer reviewed and approved by and, surgeon
at

7. Animals of choice

7a. species/strain/origin

For this experiment, we will use healthy adult Wistar rats of 250-350 gram, bought at . Rats are a better model than mice since stent placement in mice is technically not feasible. At the end of the experiment the animals will be sacrificed.

7b. Sex

No preference for male or female rats.

7c. Numbers

To achieve a significant difference in bursting pressure measurements, we used a power calculation to estimate the number of rats needed in each group. The power calculation is preformed using the L. Sachs method.

For the power analysis a significance level of α : 0.05 and a power of π : 0.8 is used. The numbers used for variance (σ) and difference (δ) are based on previous experiments using anastomotic leakage models in rats conducted in our own department as well as the knowledge available in literature.(4,7)

At day 3, we expect a bursting pressure in the control group of about 50mmHg with a variance of 15 mmHg (30%) and a difference between the groups of at least 20 mmHg (40%)

$$\begin{aligned}n &= 2(z_{\alpha/2} - z_{\pi})^2 * (\sigma/\delta)^2 \text{ (Sachs)} \\n &= 2(1.96 + 0.84)^2 * (30/40)^2 \\n &= 15.7 * 0.56 = 8.83\end{aligned}$$

At day 7, we expect a bursting pressure in the control group of about 120mmHg with a variance of 30 mmHg (25%) and a difference between the groups of at least 30 mmHg (25%)

$$\begin{aligned}n &= 2(z_{\alpha/2} - z_{\pi})^2 * (\sigma/\delta)^2 \text{ (Sachs)} \\n &= 2(1.96 + 0.84)^2 * (25/25)^2 \\n &= 15.7 * 1 = 15,7\end{aligned}$$

In each group, we expect a maximum of 16% loss due to anastomotic leakage and peritonitis. This number is based on the number of deaths (16,6% -11,2%) in the control groups of a previous study that used a similar anastomotic technique. (4)

$8,83/0.84 = 10,5 \rightarrow 11$ rats for all day 3 groups

$15,7/0.84 = 18,7 \rightarrow 19$ rats for all day 7 groups

In total, we will need 90 rats according to the power analysis.

Animal experiment

8. Experiment

To test our hypothesis that colonic ... will protect from anastomotic leakage, a well established rat model of anastomotic leakage will be used. Animals will be randomly allocated to 6 groups:

Early protective value before sufficient anastomotic healing (sacrificed at 3 days)

A Colostomy and

B Colostomy and

C Colostomy only

Late protective value after initiation of anastomotic healing (sacrificed at 7 days)

A Colostomy and

B Colostomy and

C Colostomy only

Procedure

At day 0, a median laparotomy is performed on all animals. At 2 cm proximal of the peritoneal reflection, a 1 cm circular fragment of the colon is resected. In group A, a ... is placed endoluminal and the anastomosis is made over the ... with 4 separate sutures. In group B, the ... is placed proximally of the anastomosis and the ... is guided into the distal loop. Next, the same 4 suture anastomosis is created. In group C no ... is placed and the same anastomosis is made. The animals will be treated with pain medication before surgery and during the recovery period.

In the following days, the animals will be monitored and those with signs of peritonitis will be sacrificed.

Group 1 is sacrificed at day 3, to evaluate the short term protective value of the Group 2 is sacrificed on day 7 to assess the late protective value. At the moment of sacrifice, the following endpoints are measured. These measurements take place during median laparotomy under anaesthesia and the animals are killed directly afterwards.

Primary endpoints

- Anastomotic bursting pressure

Secondary endpoints

- Intra-abdominal methylene blue leakage
- Faecal contamination, abscesses, adhesions, bowel distension or obstruction
- Swab culture pathogens
- Histology anastomotic specimen (inflammation, oedema, fibrosis)

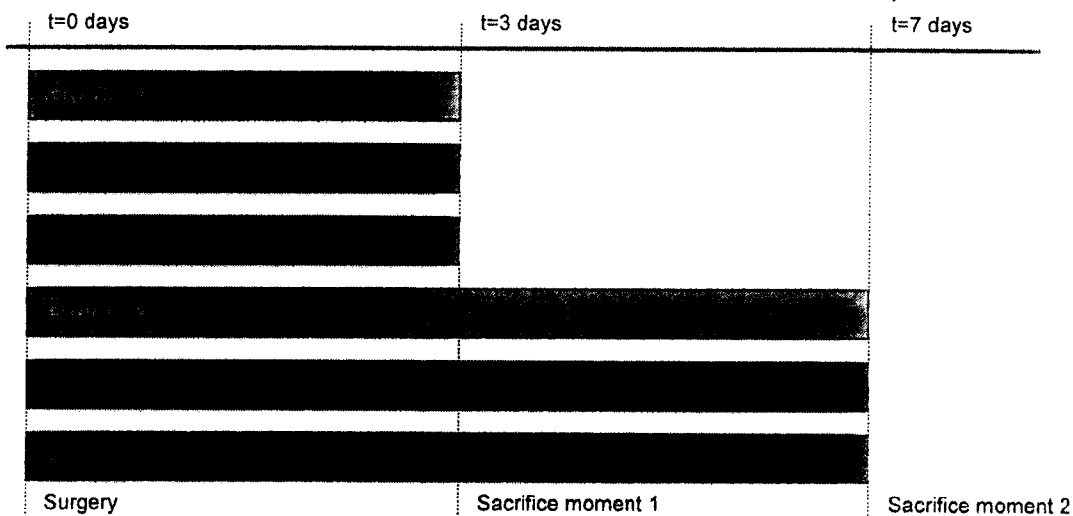


Figure 1: Overview of the animal groups

9. Experimental circumstances

9a. Anaesthesia

Anaesthesia will be given during the operative procedure. Induction is performed with Isoflurane 3-4% and continued with 2,5%. The eyes of the animal will be protected with eye ointment (Visagel or alternative, depending on availability).

9b. Pain relief

Before the start of the surgery, buprenorphine 0.05mg/kg s.c will be administered. To prevent postoperative pain, at day 0 and 1 we will give 2 doses of finadyne 2,5mg/kg s.c q12h.

When the animals still show any signs of discomfort at day 2, finadyne is administered for one additional day. At day 3, animals that still show signs of discomfort will be sacrificed according to the humane endpoints.

Discomfort will be evaluated using the post-operative welfare assessment sheet in the appendix, based on Roughan and Flecknell.(9)

9c. Euthanasia en Humane endpoints

At the end of the experiment, the animals will be sacrificed during anaesthesia. First all measurements will be performed, and afterwards the aorta and diaphragm will be perforated and causes the animal to bleed out.

Human endpoints will be reached when following criteria are met during the experiment. The most likely cause will be peritonitis due tot anastomotic leakage. The animal will be sacrificed if severe discomfort continues after the second day postoperatively or despite adequate pain relief. In case of a severe wound infection or other disease, the welfare officer will be contacted.

The discomfort of the animals will be evaluated using the post-operative welfare sheet in the appendix. Human endpoints are reached in case of any sign under 1 and/or 2:

1. Significant physiological changes:

- over 20% weight loss, or lack of regaining weight after day 2
- fever > 40° Celsius
- high breathing rate > 100/minute

2. Significant behavioural changes

- activity (≥2 points in welfare category 1)
- gait and posture (≥3 in welfare category 2 and 3 and 4 together)
- fur (≥4 in welfare category 5 and 6 together)
- pica (≥1 in welfare category 7)

Care

10a. Discomfort

The classification of discomfort during the first two days after initial surgery will be moderate/severe. After this period of time, we do not expect the animals to have discomfort caused by surgery.

Group A1 + B1

<i>Description</i>	<i>duration</i>	<i>frequency</i>	<i>severity</i>
Analgesia; sc injection buprenorphine	1m	4	02
Anaesthesia; laparotomy and anastomosis +	1h	1	02
Postoperative discomfort (max 48h)	48h	1	04
Anaesthesia; primary endpoints and sacrifice	30m	1	02
TOTAL GROUP A			04
Maximum score (peritonitis)*			05

Group A2 + B2

<i>Description</i>	<i>duration</i>	<i>frequency</i>	<i>severity</i>
Analgesia; sc injection buprenorphine	1m	4	02
Anaesthesia; laparotomy and anastomosis +	1h	1	02
Postoperative discomfort (max 48h)	48h	1	04
Anaesthesia; primary endpoints and sacrifice	30m	1	02
TOTAL GROUP A			04
Maximum score (peritonitis)*			05

Group C1

<i>Description</i>	<i>duration</i>	<i>frequency</i>	<i>severity</i>
Analgesia; sc injection buprenorphine	1m	4	02
Anaesthesia; laparotomy and anastomosis	1h	1	02
Postoperative discomfort (max 48h)	48h	1	04
Risk of peritonitis (20%)	12h		05
Anaesthesia; primary endpoints and sacrifice	30m	1	02
TOTAL GROUP A			05
Maximum score (peritonitis)*			05

Group C2

<i>Description</i>	<i>duration</i>	<i>frequency</i>	<i>severity</i>
Analgesia; sc injection buprenorphine	1m	4	02
Anaesthesia; laparotomy and anastomosis	1h	1	02
Postoperative discomfort (max 48h)	48h	1	05
Risk of peritonitis (20%)	12h		05
Anaesthesia; primary endpoints and sacrifice	30m	1	02
TOTAL GROUP A			05
Maximum score (peritonitis)*			05

*In animals that develop clinical significant peritonitis and/or abscess due to leakage of the anastomosis, discomfort will be classified as 05. These animals reach the human endpoints and will be sacrificed.

10b. Welfare assessment

The welfare of the included lab animals will be monitored at least twice daily using the post-operative welfare assessment sheet in the appendix.

As described in 9c, animals will be sacrificed when human endpoints are met.

11. Housing conditions and animal care

After transport, the animals will have one week to acclimatise before surgery. They will be housed conventionally in the basement of the CPV facility. Food (standard rodent chow) and water will be provided ad libitum. They will be housed group wise in normal cages with enrichment. The researchers will take care of the animals and welfare assessment at least daily.

12. Qualifications

VO and VVO are Art.9 certified. JB has extensive experience with performing abdominal surgery and measuring anastomotic bursting pressure on rats.(4)

13. Standard Operation Procedures (SOP)

SOP1 Abdominal manipulation and anastomosis

- Max 30 min prior to surgery buprenorphine 0.05mg/kg s.c
- Induction of anaesthesia 3-4% Isoflurane in a induction box, check of basal reflexes
- Protect the eyes with Visagel ointment
- Maintenance of anaesthesia 1,5-2,5% Isoflurane via a snout mask
- Check basal reflexes and adjust anaesthesia concentration if necessary
- Shave the abdomen and disinfect with iodine
- Fixate the rat on his back on a heated plate (37 degrees)
- Open the abdomen with a median laparotomy
- Mobilise the small intestine with a wet cotton wool
- Resect 1 cm of colon at 2cm from the peritoneal reflection
- Insert the t in the colon*
- Close the colon with an end to end anastomosis (4 sutures PDS 6.0)
- Reposition of the bowel in the abdominal cavity
- Closure of muscle layers: vicryl 4.0
- Closure of skin/subcutis: monocryl 4.0

SOP2 Endpoints and sacrifice

- Max 30 min prior to surgery buprenorphine 0.05mg/kg s.c
- Induction of anaesthesia 3-4% Isoflurane in a induction box, check of basal reflexes
- Maintenance of anaesthesia 1,5-2,5% Isoflurane via a snout mask
- Check basal reflexes and adjust anaesthesia concentration if necessary
- Shave the abdomen and disinfect with iodine
- Open the abdomen with a median laparotomy
- Score adhesions, faecal contamination, abscesses, peritonitis
- Mobilise minimal to visualise anastomosis, do not cut adhesions around it
- Take culture swabs
- Methylene blue injection → leakage?
- Bursting pressure in saline → leakage?
- Mobilisation and resection of 3cm around anastomosis for histological examination
- Sacrifice the animal by injection of an overdose of pentobarbital

*only group A and B

Literature

1. Altweb, <http://altweb.jhsph.edu/> November 2010
2. The Netherlands centre for Alternatives, <http://www.nca-nl.org/> November 2010
3. Komen N, Wal vd HC, Ditzel M, Kleinrensink GJ, Jeekel H, Lange JF. Colorectal Anastomotic Leakage: A New Experimental Model. *J Surg Research*: 2009
4. Bloemen JG, Schreinemacher MH, de Bruine AP, Buurman WA, Bouvy ND, Dejong CH. Butyrate enemas improve intestinal anastomotic strength in a rat model. *Dis Colon Rectum*;53:1069-75.
5. Mansson P, Zhang XW, Jeppsson B, Thorlacius H. Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *Int J Colorectal Dis* 2002
6. Van der Ham AC, Kort WJ, Weijma IM, van den Ingh HF, Jeekel H. Effect of antibiotics in fibrin sealant on healing colonic anastomosis in the rat. *Br J Surg*. 1992 Jun;79(6):525-8
7. Wang Y, Cai X, Cai H, Liang Y, Huang D, Liang X. Experimental study of colonic anastomosis with a biodegradable stent in a porcine model. *Am J Surg* 2010;199:833-9
8. Roughan JV, Flecknell PA. Buprenorphine: a reappraisal of its antinociceptive effects and therapeutic use in alleviating post-operative pain in animals. *Lab Animal* 2002 Jul; 36(3):322-43
9. Roughan JV, Flecknell PA. Behavioural effects of laparotomy and analgesic effects of ketoprofen and carprofen in rats. *Pain* 2001; 90(1-2):65-74.
10. Schreinemacher MH, Bloemen JG, van der Heijden SJ, Gijbels MJ, Dejong CH, Bouvy ND. Collagen fleeces do not improve colonic anastomotic strength but increase bowel obstruction in an experimental rat model. *Int J Colorectal Dis* 2011

Measurements

- body weight: each other day
 - < 5% weight loss over pre-op weight days 1-3
 - 5-10% weight loss over pre-op weight
 - 10-20% weight loss over pre-op weight
- body temperature: each moment stated
- Breathing rate

Welfare categories

- 1 Activity
 - 0 Bright, alert, responsive
 - 1 Burrowing or hiding, quiet but rouses when touched
 - 2 No cage exploration when lid off, burrows/hides, may vocalize or be unusually aggressive when touched
- 2 Gait and posture
 - 0 Normal
 - 1 Mild incoordination when stimulated
 - 2 Obvious ataxia or head tilt, hunching, drags one or both limbs
- 3 Back arch (hunched up with arched back)
 - 0 No
 - 1 Yes
- 4 Writhe or Twitch (twisting or spasm)
 - 0 No
 - 1 Yes
- 5 Fur
 - 0 Normal
 - 1 Mild piloerection
 - 2 Severe piloerection
- 6 Harderian gland secretion
 - 0 None
 - 1 Mild around eyes and/or nostrils
 - 2 Obvious on face and/or paws
- 7 Pica
 - 0 No
 - 1 Yes

Post-operative Welfare sheet

Animal/Species # Rat _____ Date of Treatment/operation _____ Allocated Group _____.

Pre-study Bodyweight _____ Surgeon _____ DEC# _____

DATE _____

[illegible]

MEASUREMENTS

[illegible]

BEHAVIOUR

(score normal animal as 0, score 1, 3 for ↑ in severity)

[illegible]

Aan: Dier Experimentele Commissie Universiteit Maastricht
Datum: 24 maart 2011
Betreft: DEC 2011-023

Geachte leden van de Dier Experimentele Commissie,

Ten eerste, hartelijk dank voor uw beoordeling van ons protocol. Naar aanleiding van uw schrijven van 6 maart 2011 stuur ik u hierbij het herziend protocol met de wijzigingen in grijs gemarkeerd. Hieronder de antwoorden op de vragen die u stelde in de brief.

Ad1 Wat is een suboptimale naad?

Eerdere dierexperimentele studies naar het optreden van naadlekkage in een ratmodel, oa twee studies in de CPV Maastricht, gebruiken reeds met succes een zelfde methode met 4 (suboptimaal) of 8 (optimaal) hechtingen. Daaruit blijkt dat een model met 8 hechtingen 0% lekkage laat zien (Mansson 2002), en een model met 4 hechtingen ongeveer 16% over 7 dagen (Mansson 2002, Bloemen 2010, Schreinemacher 2011).

Met humane percentages van 5-20% is het model met 4 hechtingen dus een beter model om te vergelijken met de humane situatie. Bovendien resulteert dit in grotere verschillen tussen de interventiegroepen en de controlegroep, waardoor kleinere aantallen nodig zijn voor voldoende power.

De dieren met lekkage zullen te herkennen zijn aan het uitblijven van postoperatief herstel (met name het uitblijven van gewichtstoename) of een terugval in herstel na 3-5 dagen en zullen op dat moment vanwege het bereiken van de humane eindpunten geofferd worden. In de eerdere studies bleek dit in de meerderheid van de gevallen te berusten op een ingekapselde lekkage of abcesvorming en dus niet door gegeneraliseerde peritonitis. De ratten bleken hier ondanks de aanwezigheid van lekkage toch weinig vatbaar voor.

Ad2: Is de suboptimale naad vergelijkbaar met de humane situatie?

Met de huidige hechttechnieken en gestapelde anastomoses is de kans op het technisch falen van de naad gering. Het probleem ontstaat pas na een aantal dagen door het falen van de genezing. Diverse factoren lijken hier invloed op te hebben, met name de doorbloeding en dus de oxygenatie zijn van groot belang, maar ook de voedingstoestand van de patiënt en bijvoorbeeld negatieve gevolgen van het preoperatief bestralen.

In deze studie willen wij aantonen dat een een gat in de darmnaad zodanig kan afdekken dat er geen lekkage van darminhoud naar de buikholte plaatsvindt. Hiervoor is technisch gezien de oorzaak van de lekkage niet relevant. Wel kiezen wij voor het aanleggen van de darmnaad en niet voor bijvoorbeeld en geïnduceerde perforatie, omdat op die wijze ook eventuele negatieve effecten van de op de genezing van de naad kan worden beoordeeld.

Dit laatste is vooral belangrijk omdat we de als preventieve maatregel willen gaan inzetten bij patiënten. Dit betekent dat de t dus ook bij patiënten die geen lekkage ontwikkelen zal worden toegepast, waardoor het nog belangrijker is om negatieve gevolgen uit te sluiten.

Ad3: Ethische afweging suboptimale hechttechniek

Punt 4 en 9c in het protocol zijn aangevuld ter verduidelijking. Daarnaast willen we benadrukken dat de gestelde "hele hoge waarschijnlijkheid" zich beperkt tot maximaal 16% van de controlegroepen.

Ad4: Bursting pressure als primaire uitkomstmaat

Dit is aangepast in het protocol, bursting pressure was al gebruikt als enige primaire uitkomstmaat bij de powerberekening.

Ad5: Uitvalspercentage

We hebben het uitvalspercentage van 16% aangehouden. De 20% is gebaseerd op de humane situatie, waar onze 16% is gebaseerd op ervaringen met deze experimentele situatie in ratten met respectievelijk 16 en 15% uitval door naadlekkage. (Bloemen 2010, Schreinemacher 2011)

Ad6: Alternatieve methoden voor meting naadlekkage

I-FABP is een experimentele maat voor darmwandinflammatie. Tot op heden is er alleen een relatie aangetoond bij inflammatoire darmziekten en dus niet bij peritonitis en naadlekkage. I-FABP of vergelijkbare markers zijn dus geen goed alternatief als diagnostisch middel voor het optreden van naadlekkage.

Ad7, 8, 9

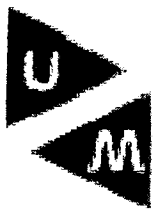
Aanpassingen zijn gedaan zoals geadviseerd.

Tenslotte hebben we na overleg ook zelf nog een aanpassing aangebracht in het protocol. In de vorige versie spraken we nog over een r..., nu is echter een volledige r... waardoor in de klinische situatie verwijderen niet meer nodig is. Dit is aangepast in het protocol.

Daarbij is naast de r..., ook een r... ontwikkeld. Deze r... wordt proximaal van de naad geplaatst waardoor er geen eventuele negatieve effecten van de druk van de r... op de darmnaad kunnen optreden. De r... zorgt er vervolgens toch voor dat de naad niet in contact kan komen met de darminhoud. Verschillen tussen beiden groepen geven ons inzicht in het mogelijke negatieve effect van de r... op de darmnaad. Hiertoe hebben we dus een extra experimentele groep toegevoegd voor zowel dag 3 als dag 7 en met gelijke aantallen volgens de powerberekening. We kiezen ervoor om r... in het zelfde experiment te onderzoeken zodat we slechts één controlegroep nodig hebben.

Wij hopen u hier voldoende mee geïnformeerd te hebben,

Met vriendelijke groet,



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: 043

Uw referentie:

Onze referentie :

Maastricht, 04-03-2011

Geachte Onderzoeker,

Uw projectaanvraag: “*... placement for the protection of colonic anastomoses against leakage*”, is op de DEC vergadering van 25 februari en op de extra vergadering van 2 maart 2011 besproken.

Ethische afweging: De DEC is er van overtuigd dat dit een zinnig onderwerp van onderzoek is, maar de DEC heeft vraagtekens bij de opzet en is van mening dat er andere alternatieven mogelijk zijn. Daarom heeft de DEC ethische bezwaren tegen het ingediende protocol. De DEC hecht hier des te zwaarder aan, omdat de dieren veel ongerief zullen ondervinden en vermoedelijk veelal zullen doodgaan ten gevolge van de proef. Voordat een dergelijk onderzoek kan worden ondernomen, dienen een aantal zaken te worden opgehelderd over de vergelijkbaarheid van de humane situatie en de proefopzet:

U stelt voor om naadlekkage te induceren door suboptimaal te hechten. Is suboptimaal hechten een factor bij het ontstaan van de door u genoemde 5 tot 20% naadlekkage na operatie bij mensen? Zo ja, hoe belangrijk is deze?

Induceert de door u voorgestelde methode van suboptimaal hechten van het colon in een proefdier een vorm van naadlekkage die vergelijkbaar is met die in een mens na een operatie waarin men het maximale resultaat heeft pogen te bereiken?

Is in de humane praktijk van colonchirurgie een hechting niet altijd optimaal? Zou de vraagstelling dan niet moeten luiden of een stent in deze situatie een meerwaarde heeft?

Als u deze vragen op bevredigende wijze kunt beantwoorden, heeft de DEC nog de volgende vragen en opmerkingen:

- De DEC wil graag een verdere en gedegen onderbouwing voor de groepen met een suboptimale hechttechniek, indien u in het licht van het bovenstaande nog steeds voor deze interventie kiest. Deze groepen ondergaan een hoge mate van ongerief en zullen met een hele hoge waarschijnlijkheid het humane eindpunt bereiken. In de ethische afweging wordt een serieuze legitimatie voor deze ernstige proeven verlangd.

- De DEC vraagt zich af of bursting pressure niet beter het enige primaire eindpunt zou zijn, dan kenmerken van peritonitis (en mogelijke dood door peritonitis).

- * De DEC verzoekt het uitvalspercentage in overeenstemming te brengen met de 20% peritonitis, die gesteld wordt in de wetenschappelijke onderbouwing.
- * De DEC vraagt zich af of het mogelijk is de darmschade en de darmlekkage door minder invasieve metingen, zoals I-FABP, in beeld te brengen.
- * Bij punt 8 de "Primary endpoints" verzoekt de DEC het woordje "death" te verwijderen.
- * De DEC stelt voor minimaal 2x per dag de dieren te scoren.
- * Het ongerief op het voorblad en bij punt 10a stemmen niet overeen. De DEC verzoekt dit in overeenstemming te brengen (code 05).
- * Mocht u vragen hebben, dan kan eventueel contact opgenomen worden met een van de DEC-leden via de ambtelijk secretaris van de DEC.

Conclusie:

Het project wordt in de huidige opzet afgewezen, maar kan wellicht nog worden goedgekeurd, indien de bezwaren /cq onderbouwingen voor de niet optimale colonchirurgie worden ondervangen/cq. beter wordt gemotiveerd. De DEC wenst de humane eindpunten ruim voor de dood ten gevolge van peritonitis te definiëren.

Daarom zenden we onze bezwaren ook in cc naar de wetenschappelijke beoordelaars.

Het project wordt aangehouden.

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 **2011-023**, gelieve dit nummer in verdere correspondentie te vermelden.

Hoogachtend,

Voorzitter DEC-UM

Aan:

*Ons kenmerk**Doorkiesnummer**Maastricht*
02-05-2011

Project: *t placement for the protection of colonic anastomoses against leakage.*

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
T (0-)

De DEC maakt geen bezwaar tegen uitvoering van dit project zoals aangevraagd en geeft een **positief advies**.

Bezoekadres**Projectnummer:** 2011-023**Postadres****Diersoort:** rat

Postbus 616

Aantal dieren: 90

6200 MD Maastricht

Einddatum: 29-04-2015

Uw 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