



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u in de 'Toelichting op de te gebruiken formulieren voor de aanvraag van een projectvergunning' op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)
- Of neem telefonisch contact op (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in.
- | Volgnummer | Titel dierproef  |
|------------|--|
| 1          | Validatie en optimalisatie van nieuwe PET tracers in makaken |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 van het format Projectvoorstel.*

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Bij het testen van nieuwe PET tracers die gebruikt gaan worden zal de primaire uitkomstparameter tweeledig zijn; werkt de tracer & hoe specifiek is de tracer en daarnaast wat is de meest optimale scantechniek om het doelgebied in combinatie met deze tracer in beeld te brengen.

De werkzaamheid van de tracer kan als goed worden beschouwd wanneer er een minimale target-to-background ratio van 2 wordt behaald van de opname in het doelgebied ten opzichte van de achtergrond. Waarbij de achtergrond dan ook een geselecteerde regio is die voorafgaand aan de scan wordt bepaald. Het is dus niet het hele dier minus het doelgebied. Wanneer dit niet voldoet zal de tracer misschien wel werken maar is de kans dat hij de kliniek haalt vrij klein of alleen in specifieke situaties. Andersom wil het niet zeggen dat wanneer een target-to-background ratio van minimaal 2 gehaald wordt dat een tracer sowieso de kliniek haalt, hiervoor is het van belang om ook de specificiteit te weten. Wordt er gekeken naar specifieke binding van de tracer en niet naar het zogenaamde 'enhanced permeability and retention' (EPR) effect of naar tracer die zich in bloed bevindt in het doelgebied in plaats van in het weefsel van het doelgebied.

Voor de meest optimale scantechniek zal een statische scan worden gemaakt die op een dynamische manier gereconstrueerd wordt. Bijvoorbeeld door een scan van 1 uur, die direct na injectie gestart is, te reconstrueren in scans van 10 minuten. Deze scans kunnen dan met elkaar vergeleken worden om te zien wat het verloop van de opname van de tracer over tijd is, de farmacokinetiek, en wanneer de meest optimale ratio behaald wordt.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Voorafgaand aan de experimentele procedure zal mogelijk een MRI van het dier gemaakt worden wanneer het doelgebied en/of de tracer gericht is tegen een receptor die voornamelijk tot expressie komt in zogenaamd zacht weefsel zoals de spieren, pezen of het brein. Deze weefsels zijn namelijk niet differentieerbaar van de omgeving op een CT die meer geschikt is om harde weefsels zoals botten of grote overgangen in weefseldichtheid, zoals rond de longen, in beeld te brengen. Door de MRI met de PET-CT te fuseren kan een overzicht van alle type weefsels gemaakt worden. De CT kan hiervoor niet weggelaten worden, deze is nodig voor de attenuatie correctie van de PET en ter verificatie van de fusie met de MRI. Deze MRI zal uiterlijk 4 weken voor start van de studie op eigen terrein worden gemaakt. Hierbij is de kans relatief klein dat een MRI die eerder is verkregen hergebruikt kan worden.

De dieren worden, onder injectie anesthesie, naar de PET-CT ruimte binnen het instituut gebracht. Wanneer de duur van de scan in combinatie met de incubatietijd langer dan 1 uur is zal het dier als eerste geïntubeerd worden zodat de anesthesie gehandhaafd kan worden met behulp van inhalatie/gas-anesthesie. Bij een korter verblijf in de ruimte is dit niet noodzakelijk en kan volstaan worden met injectie-anesthesie. Wanneer de tracer intraveneus ingespoten wordt in de kuitvene, wordt in de voorbereiding een intraveneuze katheter aangelegd.

Afhankelijk van de incubatietijd zal het dier daarna op de scanner gepositioneerd worden of op de voorbereidingstafel warm worden gehouden voordat hij naar de scanner wordt verplaatst. Daarna wordt de tracer ingespoten en wordt de scan gestart. De scans zullen uitgevoerd worden in aanwezigheid van de dierenarts, een assistent en een expert met betrekking tot het gebruik van de radioactieve stof en de scanner. Tijdens het scannen kunnen kleine hoeveelheden bloed afgenomen worden om het metabolisme van de tracer in het bloed te bepalen.

Zowel tijdens de voorbereiding als tijdens het scannen zullen de vitale functies (hartslag, saturatie en temperatuur) doorlopend in de gaten worden gehouden door de dierenarts of assistent. Aangezien de lichaamstemperatuur van de aap van invloed zou kunnen zijn op de distributie van de tracer proberen we het dier zo goed mogelijk op temperatuur te houden tijdens de gehele procedure. Dit doe we door op de voorbereidingstafel een warmtemat te plaatsen. Daarnaast is aan de PET-CT een zogenaamde bairhugger gekoppeld die de aap met warme lucht omhuld tijdens de periode dat de aap op de scanner is gepositioneerd.

De totale duur van de handelingen is afhankelijk van de tracer, het doelgebied en de scantijdstoppen na injectie maar zal in het merendeel van de gevallen rond één uur zijn. Na afloop van het scannen wordt het dier terug naar zijn kooi gebracht en nadat hij volledig is bijgekomen wordt het dier terug geïntroduceerd aan zijn kooigenoot. Dit laatste is meestal ongeveer 2 uur na afloop van de scan. Echter een enkele keer zal het dier de nacht alleen doorbrengen en zal het duo de volgende ochtend weer aan elkaar geïntroduceerd worden.

Radioactieve stoffen worden onder andere ingedeeld op basis van hun halfwaardetijd. Waarbij stoffen met een halfwaardetijd langer dan 24 uur als lang worden beschouwd. Bij deze radioactieve stoffen (zoals bijvoorbeeld Zirconium-89) zullen er meerdere scans in de eerste week na injectie (max 7) worden gedaan. Hiervoor hoeft het dier dan niet opnieuw geïnjecteerd te worden maar wordt wel de hele scanprocedure herhaald.

---

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

---

Een statistische onderbouwing om het aantal dieren te bepalen is lastig. De aantallen zijn gebaseerd op eerdere studies en ervaringen. Daaruit is gebleken dat dit type experimenten te vergelijken zijn met PK/PD studies waar gebruikelijk 2-4 dieren per groep voor worden geïncubeerd. Voor de projectaanvraag is er gekozen om het gemiddelde hiervan te gebruiken, 3 dieren per groep. Echter voor de daadwerkelijke experimenten zal per experiment, in overleg met de statistisch experts van ons instituut, gekeken worden welke methode gebruikt zal worden en hoeveel dieren er dan nodig zijn per groep.

---

Wanneer er meerdere doseringen getest dienen te worden zou dit, afhankelijk van de vraagstelling, getest worden in hetzelfde dier na een uitwas periode. De kans dat één dosering namelijk voldoet is relatief klein ook al is de tracer al geschikt voor humaan gebruik. Zoals beschreven in het projectvoorstel is de kans groot dat de tracers die wij testen zich in één van de twee optimalisatiefases bevinden rondom goedkeuring van de METC en dus het testen op gezonde vrijwilligers. Zowel in de eerste als tweede optimalisatiefase is de tracer

---

(zo goed) als geschikt voor humaan gebruik maar is de kans groot dat er meerdere doseringen noodzakelijk zijn om vast te stellen welke de meest optimale is.

Bij iedere vraagstelling zal gebruik gemaakt worden van een controlegroep. Alleen per vraagstelling zal gekeken worden wat de definitie van de controlegroep is. Onderstaande vraagstellingen zouden mogelijke vraagstellingen binnen deze aanvraag kunnen zijn:

- Wanneer de vraagstelling een nieuwe tracer valideert ten opzichte van een bestaande tracer dan zal de controlegroep de bestaande tracer krijgen.
- Wanneer in de vraagstelling de scan-/injectietechniek geoptimaliseerd wordt of er meerdere beeldvormende technieken worden gebruikt (statisch vs dynamisch) dan zal dat afgezet worden tegen de controlegroep waarin de gangbare/huidige techniek gebruikt zal worden.
- Wanneer de specificiteit van een nieuwe tracer getest wordt dan zal in de controlegroep een 'lege' tracer of tracer met niet actieve groep worden gebruikt.

Afhankelijk van de tracer die gebruikt wordt of de opzet van het experiment kan het dier ook optreden als zijn eigen controle. Bij het gebruik van Zr-89 als radioisotoop worden er hoogstwaarschijnlijk meerdere scans gemaakt en kunnen deze scans onderling vergeleken worden tussen de dieren maar kan ook het verloop van de biodistributie binnen een dier bekeken worden. Door dit proces in kaart te brengen kan er meer informatie over de mogelijke variatie en heterogeniteit verzameld worden.

Daarnaast wanneer een experiment bestaat uit meerdere fases, dan zullen de resultaten uit de eerdere fases meegenomen worden voor de optimalisatie van de volgende fases wanneer hier dezelfde dieren voor worden gebruikt. Het optreden van de dieren als zijn eigen controle en het toevoegen van een controlegroep binnen een vraagstelling kan dus beide mogelijk zijn.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, levensstadia, geschatte aantallen per levensstadium, geslacht, genetische wijzigingen en, indien van belang voor het behalen van de doelstelling, de te gebruiken stam.

Volgnr.	Diersoort	Herkomst	Levensstadium	Aantal	Geslacht	Genetisch gewijzigd	Stam
1	resus of Java makaak	kolonie	volwassen	72	M/V	nvt	nvt

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Makaken worden in biomedisch onderzoek het meest frequent gebruikt oa vanwege hun translationele waarde. Voor dit onderzoek zouden dan ook zowel resus als Java makaken kunnen worden gebruikt. De keuze zal afhangen van het doelgebied wat gescand gaat worden en de receptor waartegen de tracer gericht is.
Herkomst	De dieren zullen afkomstig zijn uit onze eigen kolonie of, in uitzonderlijke gevallen, verkregen worden vanuit een gecertificeerde leverancier.
Levensstadia	Volwassen dieren zullen gebruikt worden vanwege de intern geldende richtlijnen binnen het instituut.
Aantal	72 makaken in total (resus of java). Het aantal dieren dat aangevraagd wordt, is gebaseerd op de aanname dat voor het testen van een PET tracer 3 groepen nodig zijn; 2 verschillende doseringen en een controlegroep met 3 dieren per groep. Het aantal dieren per groep zal per experiment bepaald worden maar over het algemeen is het gebruik van 3 dieren algemeen geaccepteerd voor dit type onderzoek als minimaal aantal om bias door individuele verschillen te voorkomen. Het exacte design van de studie is afhankelijk van de specifieke tracer en bijbehorende vraagstelling die getest gaat worden. Maar tracers waarbij na injectie meerdere scans gemaakt worden zal het dier zijn eigen controle zijn ten opzichte van de vorige scan. Om de specificiteit van de tracer te bepalen kan dat in bepaalde gevallen met een verdringings-studie getest worden. Om het EPR-effect uit te sluiten is het echter netter om een controlegroep te gebruiken waarbij je een tracer zonder target/functionele groep te gebruiken. Zoals hierboven aangegeven, is het mogelijk dat meerdere doseringen in één dier getest kunnen worden waarbij een uitwas periode in acht genomen wordt. Of dit mogelijk is, is

	afhankelijk van de vraagstelling maar hierdoor zou het aantal groepen per experiment verminderd kunnen worden en daarmee het aantal dieren wat gebruikt wordt. We verwachten maximaal 8 tracers te testen over de komende periode van 5 jaar. Dit aantal is meer gebaseerd op de praktische punten dan op de beschikbaarheid van nieuwe tracers. Voor de voorbereiding van experimenten met nieuwe radioactieve stoffen moeten er vanuit stralingshygiëne een aantal punten geregeld worden die tijd kosten. Dit zorgt ervoor dat er praktisch gezien één maar maximaal twee van dit soort experimenten per jaar kunnen worden uitgevoerd.
Geslacht	Zowel mannen als vrouwen kunnen gebruikt worden, het zal afhangen van de tracer of er een voorkeur voor één van beide geslachten is. Om de variatie zo klein mogelijk te houden binnen een groep wordt er per experiment bij voorkeur één geslacht gebruikt.
Genetisch gewijzigd	nvt
Stam	nvt

### C. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Ja

Nee > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### D. Pijn en welzijnsaantasting

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee >

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. Ongerief vanwege de injectie van de PET tracer
2. Stress vanwege narcose en het herstel hiervan
3. Ongerief vanwege intubatie & mechanische ventilatie.
4. Uitgestelde voedselinname wanneer de dieren meerdere dagen achter elkaar onder narcose gaan.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Injectie van de tracer kan zorgen voor irritatie rondom het injectiegebied
2. Voor de handelingen worden de dieren onder narcose gebracht en het is bekend dat misselijkheid en desoriëntatie voor kunnen komen tijdens het herstel van de narcose.
3. Wanneer de PET-CT procedure langer dan één uur in beslag neemt is injectie-anesthesie niet voldoende.
4. De dieren moeten voor de narcose nuchter zijn conform de procedure, volgens reguleer diergeneeskundig gebruik bij primaten.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

1. De dieren worden onder narcose gebracht voor de injectie. Het herstel van de dieren achteraf wordt in de gaten gehouden en een dierenarts zal geconsulteerd worden wanneer er problemen/afwijkingen van het normale gedrag worden waargenomen.
2. Het herstel van de dieren zal in de gaten worden gehouden en de dierenarts zal geconsulteerd worden wanneer er problemen/afwijkingen van het normale gedrag worden waargenomen.
3. De dieren worden eerst onder narcose gebracht met injectie-anesthesie waarna ze een lokale spierverslapper zullen krijgen voor de intubatie. De mechanische ventilatie en opgelegde ademhalingspatroon zullen continue in de gaten worden gehouden en per dier worden aangepast.
4. Het voerpatroon is niet volgens een gemodificeerd regime en is nog steeds in overeenstemming met alle voedingsbehoeften van het dier. Daarmee zal dit binnen het tijdsbestek van de studie niet leiden tot een klinische abnormaliteit conform de eisen zoals gesteld in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU.

### E. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

X Nee > Ga verder met vraag F.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt per diersoort kans deze criteria te halen?

### F. Classificatie van ongerief

Benoem de experiment gebonden factoren die bijdragen aan het ongerief en geef voor elk van deze factoren aan hoe het ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig'. Geef per diersoort en behandelgroep het cumulatieve ongerief aan in percentages van het totale aantal dieren.

Het cumulatief ongerief wordt geschat op matig, dit wordt voornamelijk veroorzaakt doordat de dieren meerdere malen onder narcose worden gebracht noodzakelijk voor de PET-CTs en mogelijk daarbij de afname van bloed.

### G. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging	<p>Voor een goede PET tracer zijn er een aantal dingen belangrijk zijn; hoe beter de specificiteit van de receptor waartegen de PET tracer is gemaakt hoe beter de diagnostische, prognostische en therapeutische waarde van de tracer is. Daarnaast is het belangrijk dat de receptor zelf ook waarde heeft als biomarker. De grootste kans om dit zo goed mogelijk in beeld te brengen is met een diermodel omdat dit een intact systeem is waar alle verschillende processen en interacties in het lichaam nagebootst kunnen worden. <i>In vitro</i> of <i>in silico</i> kan dit maar in een beperkte mate waardoor de translationele waarde niet ingeschat kan worden.</p> <p>Er zijn twee hoofdredenen om een PET tracer voor humaan gebruik in makaken te valideren.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ten eerste is het van belang om betekenisvolle resultaten te verkrijgen in een model dat zo vergelijkbaar mogelijk is aan de mens. Met ratten, muizen of andere kleine proefdieren is dit niet mogelijk vanwege de afmetingen. Bij grotere proefdieren zoals een hond of varken kloppen de afmetingen beter maar zijn de verhoudingen en</li> </ul>
------------	---

	<p>anatomische positie anders. Zodoende is de makaak anatomisch gezien het meest optimale model om PET tracers te valideren. Daarnaast is er ook een grote overeenkomst in specificiteit van receptoren en verdeling hiervan over het lichaam tussen de makaak en de mens. Bij andere diersoorten is dit minder of zijn de receptoren zelfs afwezig.</p> <p>- de signaal specificiteit van een PET tracer neemt af wanneer er een groter evolutionair verschil zit in het gebruikte model ten opzichte van de mens.</p>
<p>Vermindering</p>	<p>Een goed experimenteel ontwerp zorgt ervoor dat het minimale aantal dieren dat noodzakelijk is voor betrouwbare resultaten in dit project kan worden gebruikt. Het optimaliseren van een experimenteel ontwerp kan worden gedaan door middel van gegevens die verkregen zijn uit eerdere (pilot) experimenten. Daarnaast wordt getracht om het aantal variabelen tussen de dieren zo klein mogelijk te houden zoals leeftijd, gewicht &amp; geslacht maar ook specifieke variabelen die naar voren zouden kunnen komen bij het gebruik van een specifieke tracer. De hier genoemde experimentele opzet heeft tot doel om een maximaal effect te behalen met een minimaal aantal aan dieren. Daarnaast zal door het gebruik van niet-humane primaten de voorspellende waarde voor eventuele humane translatie zo groot mogelijk zijn.</p> <p>Daarnaast zal, binnen het testen van één tracer, waar mogelijk het experiment opgedeeld worden in fases waardoor bijvoorbeeld meerdere doseringen in één dier getest kunnen worden. Zodat het aantal dieren dat gebruikt wordt geminimaliseerd kan worden. Hierbij zal wel altijd het cumulatieve ongerief van meerdere injecties inclusief bijkomende handelingen en daarbij verlengde duur van het onderzoek in het oog worden gehouden.</p>
<p>Verfijning</p>	<p>We maken gebruik van makaken die goede modellen zijn voor het bestuderen van onze onderzoeksdoeleinden aangezien hun anatomie voor een groot deel overeenkomt met mensen. De dieren worden tijdens de experimentele fase gehuisvest in sociale groepen, in kooien waarin ze op meerdere manieren verrijkmateriaal wordt aangeboden. Verbeteringen die tijdens het onderzoek worden gevonden zullen direct geïncorporeerd worden om het ongerief te verminderen en het welzijn te verbeteren. Anesthesie (injectie en/of gas) wordt gebruikt en analgesie zal gegeven worden uit voorzorg of achteraf wanneer die door de dierenarts noodzakelijk wordt geacht. Daarnaast zullen de makaken geëuthanaseerd worden wanneer ze een humaan eindpunt bereiken voor het einde van de studie. Daarnaast, meer specifiek voor dit protocol, wanneer het noodzakelijk is dat er een MRI wordt gemaakt zullen we wanneer dit maar enigszins mogelijk is een MRI huren om op het eigen terrein te plaatsen zodat de makaken niet vervoerd hoeven te worden naar een externe locatie. Het gebruik van de PET-CT zorgt ervoor dat we op een minimaal-invasieve manier de verspreiding van de tracer longitudinaal kunnen vervolgen. Hiermee krijgen we een specifiek beeld van de verspreiding dan dat we die zouden krijgen wanneer we alleen bijvoorbeeld bloed, urine of CSF zouden verzamelen.</p> <p>In de stal waar de makaken gehuisvest zijn tijdens het experiment zal een camera opgehangen worden zodat de dieren op ieder moment van de dag geobserveerd kunnen worden zonder dat we ze iedere keer hoeven te storen. Daarnaast is hierdoor de radioactieve belasting van de diervverzorgers ook lager omdat ze minder tijd in de ruimte hoeven door te brengen.</p> <p>Als laatste zullen voorafgaand aan het gebruik van nieuwe tracers, volgens de prestatiecriteria zoals gesteld door de NEMA (National Electrical Manufacturers Association) NU4-2008 standaard voor preklinische PET-CTs, metingen met behulp van fantomen uitgevoerd worden. Op deze manier kan voorafgaand aan de injectie van de tracer bepaald worden wat de minimale scantijd is die nodig is om een beeld te krijgen van voldoende kwaliteit qua signaal-ruis verhouding. Voor dit doel worden fantomen die onderdelen van de aap nabootsen gevuld met een bekende hoeveelheid tracer en met een hoge frequentie gescand. Op deze manier kan een curve geplotted worden van de signaalintensiteit versus de beeldkwaliteit en scantijd.</p>

Deze grafiek kan geëxtrapoleerd worden voor de scans die later met de makaken gemaakt gaan worden.

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

Nee

X Ja > Benoem de te verwachten milieueffecten en geef aan welke maatregelen zijn genomen om deze tot een minimum te beperken.

De risico's voor het milieu gerelateerd aan het gebruik van ioniserende straling worden tot een minimum beperkt door voorzorgsmaatregelen met betrekking tot zowel het vloeibare als vaste afval. Beiden zullen eerst bewaard worden, afzijdig van het normale afval, voordat het afgevoerd wordt.

## H. Hergebruik

Worden er dieren ingezet die eerder in een andere dierproef zijn gebruikt?

Nee, ga verder met vraag I.

X Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Gezien de lange levensduur van deze species is het mogelijk dat dieren die zullen worden gebruikt in de dierproeven, gebruikt zijn in eerdere dierproeven. Indien sprake is van hergebruik, zal deze plaatsvinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1 van de Wet op de Dierproeven en zoals beschreven in de Toelichting. Daarnaast dient bij hergebruik in acht te worden genomen dat de vorige studie geen interferentie heeft met de huidige studie qua anatomie, fysiologie of processen binnen het lichaam zoals bijvoorbeeld atherosclerose of diabetes.

Daarnaast is het voordeel van een PET-CT dat je op een minimaal invasieve manier een proces longitudinaal kunt vervolgen zonder dat dit experiment lethaal hoeft te zijn. Het is dus ook mogelijk dat de dieren na afloop van deze studie voor een andere studie worden gebruikt.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico op) ernstig ongerief?

X Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

## I. Herhaling

Geef voor wettelijk vereist onderzoek aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing, geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Er zal binnen dit project altijd gebruik worden gemaakt van nieuwe PET tracers of bestaande PET tracers die voor een ander doeleinde worden ingezet. Herhaling van dierproeven is dus niet van toepassing.

## J. Plaats waar de dierproef wordt uitgevoerd

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

X Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

---

**K. Bestemming van de dieren bij einde experiment**

Worden de dieren gedood?

X Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

Na afloop van de studie zullen de dieren teruggegeven worden aan de kolonie.

Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

Indien dieren worden gedood, wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van Richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja > Betreft het een dodingsmethode die alleen onder specifieke voorwaarden mag worden toegepast?

Nee> Beschrijf de dodingsmethode

Ja > Beschrijf de dodingsmethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Indien dieren worden gedood, maar niet in het kader van de proef, geef aan of herplaatsing is overwogen en waarom hiervan is afgezien.

---