



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
- Of neem telefonisch contact op (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	50200				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Biomedical Primate Research Centre				
1.3 Vul het volgnummer en de titel van de dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.3 van het format Projectvoorstel.</i>	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Titel dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Farmacokinetiek/Farmacodynamiek van kandidaatgeneesmiddelen voor multiple sclerose in de marmoset</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Titel dierproef	1	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek van kandidaatgeneesmiddelen voor multiple sclerose in de marmoset
Volgnummer	Titel dierproef				
1	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek van kandidaatgeneesmiddelen voor multiple sclerose in de marmoset				

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Dit voorstel omvat het gebruik van de common marmoset (*Callithrix jacchus*, het penseelaapje) om de farmacokinetiek/farmacodynamiek van geneesmiddelen/therapieën te testen. Voordat een therapie in het EAE model in de marmoset getest kan worden, is het soms nodig om de optimale veilige dosis en/of het toedieningsschema te bepalen in de marmoset zonder EAE. Tijdens een experiment zal worden gekeken naar de farmacokinetiek en/of farmacodynamiek. In het geval van farmacokinetiek worden de circulerende concentraties van een therapie bepaald in bloed dat zeer regelmatig zal worden afgenomen. In het geval van farmacodynamiek kan er o.a. worden gekeken naar hematologie en bloedchemie, celtypes in bloed en cytokineproductie, in uitzonderlijke gevallen kan er postmortem gekeken worden naar de lymfoïde organen of andere organen om te bepalen of de teststof het gewenste orgaan bereikt.

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.

- Voor bloedafname of toediening van teststof en gelijktijdig meten van lichaamsgewicht worden de dieren uitgevangen.
- De toedieningsroute van een teststof wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Tijdens een experiment zal er 1 toedieningsroute worden gebruikt. Afhankelijk van de toedieningsroute (i.v., i.p., s.c., oraal) zal de teststof eenmalig of herhaaldelijk worden gegeven. Wanneer mogelijk zal dit zonder sedatie worden uitgevoerd om het dier het ongerief van sedatie te besparen.
- Na de toedieningen zal zeer regelmatig bloed worden afgenomen. In het geval van farmacokinetiek kunnen dit meerdere kleine bloedafnames zijn (< 200 µl, zonder sedatie, maximaal 8 afnames per 24 uur) in een bepaalde tijdsduur na de eerste injectie. In het geval van farmacodynamiek, waarbij het effect van het kandidaat geneesmiddel op biologische/immunologische processen wordt bepaald, zullen er grotere bloedafnames (0.5 – 2 ml, onder sedatie, maximaal 1 afname per 24 uur) plaatsvinden. Bij alle bloedafnames wordt rekening gehouden met een maximale afname van 0.7% van het lichaamsgewicht per afname, en ook rekening houdend met een maximale afname van 1% van het lichaamsgewicht per maand. Een PK/PD studie zal gemiddeld 1-4 weken duren, met een maximum van 56 dagen.

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

In een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek experiment is ieder dier zijn eigen controle (t.o.v. de nulmeting, van voor het toedienen van de teststof). Statistische toetsing vindt plaats door vergelijking van een parameter voor en na toediening van een behandeling. De grootte van een testgroep wordt niet door power analyse bepaald, maar wordt bepaald op basis van ervaringen uit eerdere studies met een soortgelijke therapie. Een testgroep zal in de regel bestaan uit een gelimiteerd aantal dieren (n=2-4 per groep). Farmacokinetiek profielen zijn zeer consistent tussen dieren en een groeps grootte van twee dieren is uit eerdere studies voldoende informatief gebleken. Het effect van een therapie op biologische processen (farmacodynamiek) omvat meerdere variabelen tussen dieren en vereist daarom groeps grootte van 3 of 4 dieren, afhankelijk van de therapie en de uitkomstparameters.

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	Marmoset	Eigen fok	Volwassen	24	M/V		

Onderbouw de bovengenoemde keuzes.

Diersoort	Common Marmoset (<i>Callithrix Jacchus</i>)
Herkomst	Eigen fokkolonie waardoor medische historie van de dieren bekend is.
Levensstadia	MS is een ziekte die meestal vanaf een jongvolwassen leeftijd pas tot uiting komt.
Aantal	Geschatte aantal studies in 2,5 jaar: 2. Iedere studie zal worden uitgevoerd met een geschat aantal van 4 marmosets per groep. Indien er drie concentraties van de therapie worden getest, zullen er maximaal 24 marmosets in 2,5 jaar worden gebruikt. Deze aantallen zijn op basis van eerdere ervaring, echter indien nodig en haalbaar, zal er een poweranalyse worden gedaan waarbij rekening wordt gehouden met de teststof.
Geslacht	Man & vrouw. Omdat MS zowel bij vrouwen als bij mannen voorkomt, en uit eerdere experimenten is gebleken dat beiden gebruikt kunnen worden zonder verschillen.
Genetisch gewijzigd	
Stam	

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.

Pijnbestrijding zal toegepast worden wanneer er omstandigheden zijn dat pijn verwacht kan worden of wanneer de dieren signalen van pijn vertonen. Indien van toepassing zal er voor analgesie worden gekozen die niet interfereert met het experiment.

De toediening van een teststof kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale pijn en irritatie veroorzaken. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden gegeven.

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief vanwege de injectie van de teststof
2. stress vanwege sedatie en het herstel hiervan
3. verminderde voedselinname wanneer er meerdere dagen achter elkaar sedaties zijn
4. bijwerkingen van de teststof

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. Injectie van de teststof kan zorgen voor irritatie rondom het injectiegebied
2. Voor de handelingen worden de dieren gesedeerd en het is bekend dat misselijkheid en desoriëntatie voor kunnen komen tijdens het herstel van de sedatie.
3. De dieren moeten voor sedatie nuchter zijn en wanneer er meerdere sedatie dagen na elkaar zijn dan kan de voedsel inname minder zijn.
4. De teststof kan mogelijk voor bijwerkingen zorgen afhankelijk van de het mechanisme waarop de teststof aangrijpt.

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

1. Alle dieren worden intensief getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. 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. Dieren liggen op een warmtemat ter voorkoming van temperatuurverlaging. Daarnaast zal het herstel van de dieren in de gaten worden gehouden en de dierenarts zal geconsulteerd worden wanneer er problemen/afwijkingen van het normale gedrag worden waargenomen.
3. De dieren krijgen ondersteunende voeding.
4. De dieren worden dagelijks gemonitord of er bijwerkingen zijn door de toediening van de teststof op basis van klinische symptomen, daarnaast wordt ook het bloed gemonitord door het afgenomen bloed te analyseren op basis van de bloedcompositie en bloedchemie. Door deze monitoring worden gedragsafwijkingen, gewichtsverlies en andere onverwachte bijwerkingen in de gaten gehouden zodat indien nodig er zo spoedig mogelijk gehandeld wordt om ernstig ongerief te voorkomen.

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?

Nee > Ga verder met vraag F.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Indien een dier ernstige gedragsafwijkingen (zoals lethargie), ernstig gewichtsverlies, of onverwachte ziekteverschijnselen gaat vertonen zal zo spoedig mogelijk en altijd in overleg met de dierenarts worden besloten of behandeling nodig is. Indien nodig zal in overleg met de dierenarts besloten worden om een dier direct uit de studie te halen of in het geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en worden gedood om ernstig ongerief bij de dieren te voorkomen.

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

Aangezien de te testen stoffen veelal al eerder in marmosets zijn getest of veilig bleken in eerdere dierstudies is de verwachting dat het om minder dan 10% van de dieren zal gaan. In de meest recente studies met marmosets; 7 dieren, 3 verschillende teststoffen, waarvan 1 met meerdere doses, was het 0%.

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 cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door herhaalde bloedafnames.

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>De studie zal alleen uitgevoerd worden indien een ander diermodel niet voldoende toereikend is voor het testen van de therapie. Op deze manier wordt voorkomen dat er onnodig medicijnen worden getest met het marmoset EAE model.</p> <p>Biologicals worden vaak eerst <i>in vitro</i> getest op kruisreactiviteit en bindingscapaciteit met hun doel/target in de marmoset. Hieruit zal enige indicatie komen welke concentratie(s) in de marmoset getest dient te worden. Echter, soms leveren deze <i>in vitro</i> modellen niet voldoende informatie op voor een adequate evaluatie van de therapie voor gebruik in het marmoset EAE-model. Als dit het geval is dient er eerst een farmacokinetiek/farmacodynamiek studie gedaan te worden in de marmoset om de juiste concentratie(s) te bepalen voor de mogelijke werking van de teststof.</p>
Vermindering	<p>Het uitvoeren van een farmacokinetiek/dynamiek studie zal worden uitgevoerd met een zeer beperkt aantal dieren. Het leidt vooral tot vermindering van het aantal dieren in de daaropvolgende EAE studie. Zo is het bijvoorbeeld soms niet nodig om twee concentraties in een EAE therapie-evaluatie studie te testen, omdat in deze farmacokinetiek/dynamiek studie al de optimale dosis is bepaald. Doordat de dieren hun eigen controlegroep zijn, is het niet nodig een extra groep dieren te gebruiken als controle.</p> <p>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.</p> <p>Daarnaast zal informatie uit andere diermodellen meegenomen en overwogen worden, waardoor er mogelijk minder verschillende doses hoeven getest te worden wat leidt tot een vermindering van het aantal testgroepen.</p>

Verfijning	<p>Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zo veel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume. Daarbij worden voor de marmoset vastgestelde fysiologische grenzen gerespecteerd, namelijk maximaal 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken.</p> <p>De marmosets worden voor aanvang van het experiment getraind om ze te wegen met zo min mogelijk stress in de balcony box (vrijwillig na training).</p>
------------	---

Zijn er nadelige milieueffecten te verwachten?

Nee

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

H. Hergebruik

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

Nee, ga verder met vraag I.

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

Het is mogelijk dat marmosets worden gebruikt die eerder in andere experimenten zijn ingezet. Er is in principe geen bezwaar tegen hergebruik van marmosets, mits geselecteerde dieren niet zijn behandeld met een product dat kan interfereren met het EAE model of het kandidaat-geneesmiddel dat zal worden getest.

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

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.

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 valt?

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?

Nee > Beschrijf de bestemming van de dieren.

Ja > Geef aan waarom de dieren worden gedood.

In sommige gevallen zullen de dieren aan het eind van een studie worden gedood ten einde onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons van de teststof in organen. Veelal kan bij dergelijke PK/PD studies worden volstaan met bloed en hoeft een dier hiervoor niet te worden gedood. Indien dieren niet worden gedood zullen zij terug worden geplaatst in de experimentele voorraad.

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

De dieren worden eerst onder narcose gebracht met een mix van twee verschillende anesthetica: Alfaxan (relaxatie spieren) en Ketamine (pijnbestrijding). Wanneer het dier onder narcose is wordt het euthanasaat (Euthasol: Phenytoin/Pentobarbital) toegediend.

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.

n.v.t.