

DEC
Dierexperimentencommissie

Animal Ethical Committee



JAARVERSLAG 2013
Annual Report 2013

Biomedical
Primate
Research
Centre

Rijswijk, NL
dec@bprc.nl
www.bprc.nl

1. Inleiding

Dit jaarverslag geeft de werkwijzen en de resultaten van toetsing weer van de Dierexperimenten Commissie van het Biomedical Primate Research Centre (DEC-BPRC) in het jaar 2013. De DEC BPRC geeft uitsluitend adviezen aan de vergunninghouder BPRC. De DEC leden worden benoemd door de vergunninghouder, mede op voordracht van de zittende DEC leden. De DEC valt onder de directe verantwoordelijkheid van de vergunninghouder BPRC. De DEC-BPRC werd in 1998 erkend door het ministerie van VWS op basis van het reglement DEC-BPRC van april 1998 waarin alle taken en verantwoordelijkheden zijn omschreven. De taakstelling van de DEC-BPRC is de vergunninghouder te adviseren over alle voorgenomen dierproeven van het BPRC omtrent de ethische toelaatbaarheid van deze dierproeven.

2. Algemeen gedeelte

De voornaamste taak van de DEC-BPRC bestaat uit het geven van adviezen aan de vergunninghouder over de ethisch toelaatbaarheid van onderzoeksplannen. Deze onderzoeksplannen worden gedetailleerd beschreven in een formulier, waarin alle relevante informatie door de onderzoeker wordt gegeven. Een leeg formulier is ter illustratie bijgevoegd (addendum 1). Vanwege de internationale oriëntatie van het BPRC worden de meeste officiële documenten (onderzoeksplannen, adviezen) in het Engels opgesteld. In het kader van instituutsoverschrijdende projecten is het altijd de onderzoeker binnen het BPRC die verantwoordelijk is voor het onderzoeksplan en het ter toetsing aanbiedt aan de DEC-BPRC. Een eventueel advies van een externe DEC wordt in de overwegingen betrokken, maar met de dieren van het BPRC wordt geen onderzoek uitgevoerd tenzij de DEC-BPRC een positief advies heeft verstrekt.

De werkwijze van de commissie is fijnmazig. Van de onderzoekers wordt verlangd dat in het onderzoeksplan nauwkeurig wordt omschreven hoe de uitvoering zal plaatsvinden: op het niveau van ieder individueel proefdier worden alle handelingen in de proefopzet omschreven. Wanneer op voorhand duidelijk is dat de uitvoering van de proefopzet met de daarin opgenomen dieren langer dan een jaar duurt, wordt het advies verstrekt met de beperking van maximaal twee jaar tot de afsluiting van het dierexperimentele gedeelte. Altijd is de

voorwaarde opgenomen dat conform de termen van het advies binnen een jaar met het onderzoek moet worden begonnen of dat anders de geldigheidsduur van het positief advies verloopt. In het afgelopen jaar is daarnaast 1 meerjarige onderzoeksaanvraag ingediend. Dit betreft een type projectvoorstellen waarbij toestemming wordt gevraagd voor een langere periode voor het uitvoeren van een wetenschappelijk onderzoekstraject waarbij in een bestaand goed omschreven relevant diermodel onderzoek gedaan wordt naar preventie, behandeling of pathogenese van bepaalde ziektes. Positief advies kan worden afgegeven voor een periode van maximaal 5 jaar onder voorwaarde dat voor elk afzonderlijke dierexperiment een gedetailleerd sub-protocol wordt ingediend bij de vergunninghouder. In het sub-protocol wordt de specifieke onderzoeksvraag en het belang van het aangevraagde experiment beschreven en aangegeven hoe dit experiment binnen het kader van de overkoepelende meerjarige aanvraag past. Daarnaast dient een verdere onderbouwing van het benodigde aantal dieren, toepassing van alternatieven en details over studieopzet, experimentele procedures, dieren en huisvesting gegeven te worden. Een leeg formulier is ter illustratie bijgevoegd (addendum 2). De vergunninghouder vraagt nader advies aan de DEC, of zodra de nieuwe wet op de dierproeven geïmplementeerd wordt de "Instantie van Dierenwelzijn, IvD" over de uitvoering van het specifieke experiment. Over het dit jaar ingediende onderzoeksplan is nog geen advies uitgebracht, aangezien er nog aanvullende vragen waren, die pas in 2014 beantwoord konden worden.

Amendementen op een eerder geaccordeerd plan en lopend onderzoek worden ook door de commissie beoordeeld. Alle adviezen van de commissie worden na lezing getekend door de vergunninghouder. Naast de beoordeling van afzonderlijke onderzoeksplannen draagt de commissie ook bij aan het formuleren van nadere interne richtlijnen op het gebied van de omgang met proefdieren. De commissie geeft met name aandacht aan de gevolgen van de proeven voor de huisvestingsomstandigheden voor de dieren. Sociale huisvesting in groepen of in paren met meerdere paren in 1 ruimte is standaard. De onderzoekers dienen apart aan te geven wat het te verwachten ongerief is voortvloeiend uit de speciale huisvesting die sommige proeven met zich mee brengen. Ook wanneer er wijzigingen in onderzoeksplannen worden ingediend, moeten de onderzoekers de gevolgen van de wijzigingen voor het ongerief en de duur daarvan aangeven. Dit aspect vindt de commissie zeer belangrijk voor de



besluitvorming betreffende de onderzoeksplannen. De commissie besteedt met name aandacht aan de juiste proefopzet en statistische onderbouwing van het aantal proefdieren dat in de experimenten worden gebruikt in relatie tot de hypothese en vraagstelling van het onderzoek. Zonder correcte verantwoording van het aantal dieren werd geen positief advies gegeven. Er wordt met nadruk aandacht besteed aan pijnbestrijding.

Het onderzoeksprogramma van het BPRC staat ten dienste van onderzoek naar mechanismen die de oorzaak zijn van ernstige ziekten bij de mens alsmede de preventie en therapie van deze ziekten. In hoofdlijnen zijn dit enkele belangrijke groepen van infectieziekten (AIDS, malaria, virale hepatitis, tuberculose, influenza, door insecten overgebrachte virussen (dit zijn zogenoemde arthropod borne (arbo) virussen)) en de vaccinologie daarvan, de immunologie van transplantatie en modulatie van transplantaatafstoting en auto-immuunziekten in relatie tot genetische predispositie en therapie. Tevens wordt onderzoek verricht aan neurodegeneratieve aandoeningen (o.a. de ziekte van Parkinson). Het onderzoek met non-humane primaten vindt veelal plaats in een vergevorderd stadium van het preklinisch onderzoek. Bij de ethische afweging speelt dan ook het directe belang (van het doel) voor de gezondheid van de mens een prominente rol. Ook wordt onderzoek naar het gedrag van apen bij het BPRC uitgevoerd, in nauwe samenwerking met de Universiteit van Utrecht. Doordat de primaten afkomstig uit de kolonie van de Universiteit van Utrecht bij het BPRC zijn gehuisvest, worden alle onderzoeksplannen van de Utrechtse onderzoeksgroep ethologie door de DEC-BPRC getoetst. Hierbij vindt gedragsonderzoek plaats bij apen dat niet direct gerelateerd is aan het houden van deze dieren als proefdieren, maar meer fundamenteel van aard is. Het gaat hier met name om leer en geheugenonderzoek en onderzoek naar andere cognitieve functies. Ook heeft het onderzoek naar gedrag de bevordering van de leefomstandigheden van de proefdieren ten doel. Dit onderzoek verschaft inzicht in sociaal gedrag van apen, welke factoren vooral stress veroorzaken en hoe daarmee het beste kan worden omgegaan. Afgelopen jaar zijn ook een aantal non humane primaten van andere onderzoeks instituten binnen Nederland op het BPRC gehuisvest.

Tevens houdt het instituut zich bezig met het ontwikkelen van alternatieven voor dierproeven en is er een speciale unit Alternatieven.

Een enkele keer werd een onderzoeker verzocht om een mondelinge toelichting ter vergadering te geven. Regelmatig worden onderzoekers

gevraagd hun onderzoeksprogramma bij de DEC te presenteren, zodat de DEC leden de onderzoeksplannen beter in het geheel van het onderzoek kunnen plaatsen.

De commissie is lid van de NV-DEC en leden van de commissie nemen deel aan haar activiteiten, zoals ledenvergaderingen, nascholingsactiviteiten en andere bijeenkomsten waar de ethiek van dierproeven en het verantwoord houden van non-humane primaten aan de orde wordt gesteld.

3. Samenstelling van de commissie

De commissie telde in het verslagjaar 7 leden. De volgende deskundigheden waren bij de leden aanwezig: 1: dierproeven, 2: alternatieven voor dierproeven, 3: proefdieren en hun bescherming en 4: ethische toetsing. Er kunnen meerdere van deze deskundigheden in één persoon verenigd zijn. Deze zijn telkens numeriek vermeld. De commissie was in de verslagperiode als volgt samengesteld: 4 leden hadden geen dienstverband met het BPRC, echter een van deze leden had wel langdurig bij het BPRC gewerkt en heeft veel expertise op het gebied van proefdieren. Alle leden zijn weergegeven in tabel 1 (bijlage). De proefdierdeskundige ex art 14 Wod nam als adviseur aan de vergaderingen deel.

Een aantal commissieleden heeft deelgenomen aan de jaarlijkse nascholingsdag van de NV-DEC.

De DEC-BPRC kent geen kleine commissie. Wel kan een enkele keer een antwoord van een onderzoeker worden afgehandeld door van tevoren aangewezen commissieleden, wanneer er al een intentie tot een positief advies is gegeven en nog slechts een verhelderende uitleg gewenst is.

4. Aantal vergaderingen

De commissie vergadert op maandelijkse basis, meestal gedurende een halve dag, maar langer indien de agenda daartoe aanleiding geeft. Alle stukken werden schriftelijk aan de leden toegezonden. De proefdierdeskundige controleerde nieuwe onderzoeksplannen op volledigheid, duidelijkheid en het toepassen van verantwoordde technieken, voordat deze bij de commissie werden ingediend. In 2013 werd totaal 12 keer plenair vergaderd. Bij alle vergaderingen waren ten minste 5 leden aanwezig. Leden die een vergadering niet konden bijwonen werden altijd in de gelegenheid gesteld om schriftelijk commentaar te geven en maakten daar vaak gebruik van. Een overzicht van de aanwezigheid is



weergegeven in tabel 2 (bijlage). De proefdierdeskundige was bij 9 vergaderingen aanwezig en gaf bij afwezigheid van te voren schriftelijk commentaar. Alle leden van de commissie namen zeer actief deel aan de discussies over de ingediende projecten. De discussie werd vooral gevoerd om zorgvuldig het wetenschappelijk en maatschappelijk nut af te wegen tegen het aantal proefdieren en het ongerief dat de proef zou veroorzaken. Daarnaast werd strikt gelet op mogelijkheden tot verfijning van de proef en alternatieven voor de voorgestelde methoden.

Wanneer er tussen de vergaderingen door in lopende experimenten een aanvullend advies moest worden gegeven, werd dit altijd direct aan de proefdierdeskundige en de secretaris van de DEC schriftelijk verzocht. De proefdierdeskundige kon dan direct toestemming geven voor de wijziging wanneer de omstandigheden onmiddellijk handelen noodzakelijk maakte, het doel van de proef niet wijzigde en het ongerief niet significant veranderde. Deze toestemming gold dan tot de volgende vergadering van de commissie, die vervolgens advies uitbracht aan de vergunninghouder.

5. Overzicht van onderzoeksplannen waarvoor advies is uitgebracht

De onderzoeksplannen en de behandeling daarvan is weergegeven in tabellen 3 en 4 (zie bijlage). Ingediende sub-protocollen en verzoeken tot aanpassing zijn weergegeven in tabellen 5 en 6 (zie bijlage). In deze tabellen is opgenomen het doel (omschreven conform de indeling voor de wettelijke registratie van dierproeven, zie Tabel 7, bijlage), het advies (al of niet met beperkende voorwaarden), en de aard van de voorwaarden, opmerkingen en vragen. Dit laatste weergegeven door een van de codes die in tabel 8 (bijlage) zijn omschreven. Per onderzoeksplan is een aantal regels weergegeven dat duidelijk maakt dat het afwegingsproces veelal in een aantal stappen heeft plaatsgevonden. Elke regel betreft een plenaire bespreking in de vergadering.

In Tabel 3 (bijlage) zijn de adviezen samengevat betreffende nieuwe onderzoeksplannen. De looptijd van het advies is altijd als volgt: binnen 12 maanden na het uitgebrachte advies dient het experiment te zijn gestart. De looptijd van het advies is voor de duur van het experiment of ingeval het een meerjarige onderzoeksaanvraag betreft voor een periode van maximaal 5 jaar waarbij het laatste experiment binnen deze periode moet zijn voltooid. In totaal werden 9 nieuwe

onderzoeksplannen ter advisering voorgelegd in 2013. In tabel 3 in de bijlage is weergegeven hoe de advies procedure per onderzoeksplan verliep. Bij 4 onderzoeksplannen in 2013 ingediend werd een voorwaardelijk positief advies uitgebracht en pas een definitief positief advies nadat de voorwaarden door de onderzoeker waren geaccepteerd. De voorwaarden die gesteld werden en de frequentie daarvan zijn weergegeven in Tabel 8. Deze voorwaarden werden alleen gesteld wanneer deze onvoldoende waren afgedekt in het ingediende onderzoeksplan. Deze voorwaarden werden door de onderzoeker door ondertekening voor akkoord voor het advies geaccepteerd of werden in correspondentie bevestigd of becommentarieerd. Van 4 ingediende voorstellen was de advisering in 2013 nog niet afgerond.

In tabel 4 (bijlage) zijn de adviezen samengevat betreffende wijzigingen van lopende onderzoeken. Dit betrof onderzoek dat in 2011 of 2012 was gestart.

In 2013 is 25 keer een wijziging ter advies ingediend bij de commissie. Het betrof in een aantal gevallen diverse wijzigingen van hetzelfde onderzoeksplan. Dit is niet verder gespecificeerd in de tabel aangezien elke wijziging een apart nummer kreeg. Het betrof veelal kleine wijzigingen die weinig of geen additioneel ongerief met zich mee brachten. In deze gevallen werd direct een positief advies gegeven. Drie keer werd eerst om aanvullende informatie gevraagd voordat er advies werd uitgebracht. Bij 5 adviezen werden voorwaarden gesteld, deze zijn verwerkt in tabel 4 (bijlage) en 8. In een aantal gevallen was een wijziging in de proefopzet direct noodzakelijk en kon een verzoek daartoe niet wachten op de vergadering van de commissie en kreeg dan ook niet direct een advies van de commissie. In die gevallen heeft de proefdierdeskundige een oordeel gegeven en in een aantal gevallen toestemming gegeven voor deze wijziging. Deze werd later door de commissie bekrachtigd en over het geheel van wijzigingen werd een advies gegeven. Voor 1 ingediende wijziging was de advisering in 2013 nog niet afgerond.

In Tabel 5 (bijlage) zijn de adviezen samengevat betreffende nieuwe sub-protocollen behorend tot een eerder van een positief advies voorzien meerjarige onderzoeksaanvraag. In totaal werden 10 nieuwe sub-protocollen ter advisering voorgelegd in 2013. Bij 6 aanvragen werd een voorwaardelijk positief advies uitgebracht en pas een definitief positief advies nadat de voorwaarden door de onderzoeker waren geaccepteerd. De voorwaarden die



gesteld werden en de frequentie daarvan zijn weergegeven in Tabel 8. Deze voorwaarden werden door de onderzoeker door ondertekening voor akkoord van het advies geaccepteerd of werden in correspondentie bevestigd of becommentarieerd.

In tabel 6 (bijlage) zijn de adviezen samengevat betreffende wijzigingen van lopende sub-protocollen. In 2013 is 4 keer een wijziging ter advies ingediend bij de commissie. Het betrof veelal kleine wijzigingen die weinig of geen additioneel ongerief met zich mee brachten. In deze gevallen werd direct een positief advies gegeven. Een keer werd eerst om aanvullende informatie gevraagd voordat er advies werd uitgebracht. Bij 2 adviezen werden voorwaarden gesteld, deze zijn verwerkt in tabel 6 (bijlage) en 8.

6. Signalering, reflectie en evaluatie.

Gevolgde procedure van toetsing: In het overzicht van onderzoeksplannen in tabel 3 en 4 wordt nadere informatie gegeven over het doel van het onderzoek en het resultaat van de toetsing onder vermelding van de gevolgde procedure.

Alle nieuwe onderzoeksplannen werden vooraf in concept voorgelegd aan de proefdierdeskundige, zodat de volledigheid en helderheid van de informatie nog verbeterd konden worden voordat de stukken aan de leden werden gezonden. Er werd gebruik gemaakt van het standaard formulier waarin alle relevante informatie werd gevraagd aan de onderzoekers om een goed inzicht te krijgen in de voorgenomen proeven. Dit formulier is als bijlage gevoegd bij dit jaarverslag. Alle stukken werden altijd aan alle leden toegezonden en alle stukken werden in plenaire vergadering behandeld. Leden die niet aanwezig konden zijn, hebben vrijwel altijd schriftelijk hun inbreng geleverd via de secretaris en dit werd in de beraadslaging meegenomen. Daarbij werd met nadruk het belang van het onderzoek gewogen ten opzichte van het te verwachte ongerief van de proefdieren. De commissie hecht veel belang aan de wetenschappelijke en maatschappelijke relevantie van het onderzoek en weegt daarbij een extern wetenschappelijk oordeel mee. Dit externe wetenschappelijk oordeel dient de onderzoeker te overleggen aan de commissie. In sommige gevallen is het niet mogelijk een extern wetenschappelijk oordeel te krijgen in verband met vertrouwelijkheid van de voorgenomen onderzoeksplannen en volstaat de commissie met het oordeel van de DEC zelf, en een interne beoordeling door deskundigen van het eigen onderzoeksinstituut en/of van het instituut waarmee wordt samengewerkt. Hierbij

kan worden opgemerkt dat de meeste onderzoeksvoorstellen een samenwerking tussen onderzoekers van het BPRC en andere onderzoeksinstituten betreft. Dit geeft de positie van het onderzoek aan: het onderzoek met primaten is veelal een noodzakelijke stap in de ontwikkeling van nieuwe behandelwijzen voor ernstige ziektes.

Een ander belangrijk punt van weging is het aantal proefdieren dat wordt gebruikt en de biotechnische handelingen die worden voorgesteld. De commissie stelt dan ook vaak vragen over deze onderwerpen, met de bedoeling het uiteindelijk aantal proefdieren te minimaliseren en het ongerief tot een minimum te beperken. In enkele gevallen werd de onderzoeker telefonisch benaderd of uitgenodigd ter vergadering voor nadere toelichting. De commissie kwam in het algemeen, soms na diepgaande beraadslagingen, tot een unanieme standpuntbepaling. De uitkomst werd vastgelegd in een advies aan de vergunninghouder. Hierbij waren de volgende mogelijkheden: er werd geen advies uitgebracht omdat de informatie onvoldoende was om een advies te kunnen uitbrengen. Er werden dan vragen gesteld aan de onderzoeker. Pas nadat voldoende informatie was verstrekt werd er advies gegeven. Dit advies kon zijn: negatief, positief zonder verdere vragen of voorwaarden, positief onder voorwaarden en/of vragen ter verduidelijking van een aantal kleine onduidelijkheden. In de laatste gevallen was de onderzoeker verplicht antwoord te geven voordat de proef werd gestart. Wel konden dan de proefdieren geselecteerd worden en door de dierenarts onderzocht worden met betrekking tot algemene gezondheid en conditie. Voorwaarden werden in alle gevallen geaccepteerd door de onderzoekers. Aanvullende informatie werd door de commissie beoordeeld en pas nadat dit in orde was bevonden, kon het experiment gestart worden.

Omdat er tijdens experimenten omstandigheden kunnen veranderen, is het soms noodzakelijk onderzoeksplannen aan te passen in de loop van de uitvoering van het experiment of ook wel nog voordat een onderzoek is gestart. Het betreft vaak tijdstip en frequentie van noodzakelijke observaties die een biotechnische handeling noodzakelijk maken (b.v. bloedafname, veterinaire onderzoek onder sedatie, andere toedieningswijze en aard van teststoffen etc.). Ook kan het voorkomen dat er onverwachte uitkomsten van het onderzoek een aanpassing wenselijk maken. Omdat het onderzoeksprogramma van het BPRC in toenemende mate grensverleggend onderzoek uitvoert, betekent dit dat het vaak voorkomt dat



wijzigingen tijdens het onderzoek noodzakelijk zijn. Ook bij voorgestelde wijzigingen wordt het belang afgewogen ten opzichte van het meerdere ongerief dat dit (mogelijk) met zich mee brengt.

In het overzicht van de sub-protocollen in tabel 5 en 6 wordt nadere informatie gegeven over het doel van het onderzoek en het resultaat van de afweging betreffende het belang van het specifiek voorgestelde experiment en de inkadering binnen de overkoepelende meerjarige onderzoeksaanvraag. Een belangrijk punt is tevens de onderbouwing van de specifieke proefopzet, beschrijving van de biotechnische handelingen en beschrijving van mogelijke alternatieven.

Bij alle van een positief advies voorziene onderzoeksaanvragen en sub-protocollen wordt als voorwaarde opgenomen dat binnen 6 maanden na afloop van het experiment een

verslag naar de commissie wordt gestuurd, waarin vermeld staat in hoeverre de onderzoeksvragen zijn beantwoord, het ongerief dat de dieren ondergaan hebben en mogelijke bevindingen die kunnen bijdragen tot vermindering, verfijning of vervanging.

Ten opzichte van 2012 en de jaren daarvoor is er een sterke afname opgetreden in het aantal nieuwe onderzoeksaanvragen dat werd beoordeeld. Dit is een gevolg van het indienen van een aantal meerjarige onderzoeksaanvragen in 2012. Daarentegen, is dit jaar voor het eerst gebruik gemaakt van sub-protocollen. Hiermee wordt zoveel mogelijk gehoor gegeven aan een richtlijn conforme interpretatie van de huidige Wet op de Dierproeven.



Tabellen

Tabel 1. Samenstelling DEC BPRC in 2013

Lid 1, Voorzitter: deskundigheid 1, 2, 3 en 4, niet in dienstverband, niet betrokken bij dierproeven.
Lid 2: Secretaris: deskundigheid 1, en 2, in dienst verband, betrokken bij dierproeven
Lid 3: deskundigheid 1, 2 en 4, niet in dienstverband, betrokken bij dierproeven.
Lid 4: deskundigheid 4, niet in dienstverband, niet betrokken bij dierproeven.
Lid 5: deskundigheid 1 en 3, niet in dienst verband, niet betrokken bij dierproeven
Lid 6: deskundigheid 1 en 3, in dienst verband, betrokken bij dierproeven.
Lid 7: deskundigheid 1, in dienst verband, betrokken bij dierproeven

Tabel 2. Aanwezigheid DEC leden 2013

	Aantal leden aanwezig per vergadering		
	7	6	5
Aantal vergaderingen met dit aantal leden aanwezig	9	1	2
Inclusief schriftelijk inbreng	9	2	1



CONFIDENTIAL

Tabel 3

Nieuwe onderzoeksplannen 2013

Nummer Onderzoeks- plan	doel code*	bespreking	advies	voorwaarden codes**	opmerkingen en vragen**	looptijd experiment (maanden)
N2013-01	37	1	aanhouden		8,14,24,30,31,38	17
N2013-01	37	2	aanhouden	31	21	17
N2013-01	37	3	positief	21, 37		17
N2013-02	1	1	aanhouden		7,14,33, 37	<1
N2013-03	1	1	aanhouden		14, 24, 27, 33	<1
N2013-03	1	2	positief	37	27	<1
N2013-04	1	1	aanhouden		7,24	18
N2013-04	1	2	aanhouden		14,24	18
N2013-04	1	3	positief	37		18
N2013-05	32	1	aanhouden	14	14,24,33,38	4
N2013-05	32	2	positief	14,37		4
N2013-06	37	1	intentie positief		7,14,15,16	1
N2013-06	37	2	positief			1
N2013-07	1	1	aanhouden		14,15,21,33,38	8
N2013-08	37	1	aanhouden	17	14,33	5
N2013-09	37	1	aanhouden		14,15,27,33,38	1

* zie tabel 7

** zie tabel 8



CONFIDENTIAL

Tabel 4 Wijzigingen van onderzoeksplannen in 2013

Nummer Onderzoeks- plan	doel code*	bespreking	advies	voorwaarden codes**	opmerkingen en vragen**	looptijd experiment (maanden)
W2013-01	32	1	positief	37		5
W2013-02	1	1	positief			5
W2013-03	1	1	positief	14		14
W2013-03	1	2	positief			14
W2013-04	37	1	positief	37	14	5
W2013-04	37	2	positief			5
W2013-05	1	1	positief			3
W2013-06	24	1	positief			<1
W2013-07	1	1	positief			< 1
W2013-08	1	1	positief		15	1
W2013-08	1	2	positief	15,37		1
W2013-09	1	1	positief		15	1
W2013-09	1	2	positief			1
W2013-10	1	1	positief			14
W2013-11	32	1	positief		18	5
W2013-11	32	2	positief			5
W2013-12	1	1	positief			1
W2013-13	1	1	positief			2-3
W2013-14	5	1	positief			1
W2013-15	32	1	aanhouden		14,15,38	5
W2013-15	32	2	aanhouden		14	5
W2013-15	32	3	positief			5
W2013-16	1	1	aanhouden		19	1
W2013-16	1	2	positief			1
W2013-17	33	1	positief			5
W2013-18	37	1	positief			17
W2013-19	37	1	aanhouden	14	14	5
W2013-19	37	2	positief			5
W2013-20	1	1	positief			2-3
W2013-21	1	1	positief		14	8
W2013-21	1	2	positief			8
W2013-22	1	1	positief			1
W2013-23	33	1	positief			5
W2013-24	33	1	positief			6
W2013-25	3	1	aanhouden		15	6

* zie tabel 7

** zie tabel 8



CONFIDENTIAL

Tabel 5

In 2013 nieuw ingediende sub-protocollen, behorend tot een meerjarig onderzoekplan waar reeds eerder positief advies over is uitgebracht

Nummer Onderzoeksplan	doel code*	bespreking	advies	voorwaarden codes**	opmerkingen en vragen**	looptijd experiment (maanden)
S2013-01	1	1	positief	37	31	2
S2013-02	1	1	positief	37	24, 33, 38	10
S2013-02	1	2	positief	33		10
S2013-03	1	1	positief	33, 37		2
S2013-04	3	1	aanhouden		14,24,27,33	6
S2013-04	3	2	positief	37		6
S2013-05	1	1	intentie positief		14,27,33	4
S2013-05	1	2	positief			4
S2013-06	32	1	intentie positief		14,33	1
S2013-06	32	2	positief			1
S2013-07	3	1	intentie positief		19,24	5
S2013-07	3	2	positief	37		5
S2013-08	3	1	intentie positief	37	14,24,38	5
S2013-08	3	2	intentie positief		14	5
S2013-08	3	3	positief			5
S2013-09	3	1	aanhouden		8,9,14,24,38	5
S2013-09	3	2	positief			5
S2013-10	3	1	positief		15,33	5
S2013-10	3	2	positief			5

* zie tabel 7

** zie tabel 8



Tabel 6 Wijzigingen in sub-protocollen in 2013

Nummer Onderzoeks- plan	doel code*	bespreking	advies	voorwaarden codes**	opmerkingen en vragen**	looptijd experiment (maanden)
WS2013-01	1	1	positief		14, 38	10
WS2013-01	1	2	positief			10
WS2013-02	32	1	aanhouden		24	1
WS2013-02	32	2	positief			1
WS2013-03	3	1	positief			5
WS2013-04	32	1	positief			1

* zie tabel 7

** zie tabel 8



Tabel 7. Codes hoofddoel van de proef betreffende onderzoeksplannen 2013

Hoofddoel van de proef:	Codenummer
A. Onderzoek t.b.v. de toepassing in de mens met betrekking tot:	
- de ontwikkeling van immuunsera, vaccins, of andere biologische producten voor toepassing in mensen	01
- de ontwikkeling van geneesmiddelen.....	03
- ontwikkeling van medische apparatuur.....	05
C. Detectie van	
- ziektes bij de mens.....	24
E. Een antwoord te verkrijgen op een wetenschappelijke vraag met betrekking tot:	
- geestesziekten of ziekten van het zenuwstelsel bij de mens	32
- andere ziekten bij de mens	33
- andere wetenschappelijke vraag	37



Tabel 8. Codes voorwaarden, redenen en vragen gesteld door de DEC aan de verantwoordelijke onderzoekers, voorafgaand aan het definitieve advies aan de vergunninghouder:

	Frequentie van gestelde voorwaarden			
	Nieuwe onderzoeks-plannen 2013	Wijzigingen op onderzoeks-plannen 2013	Nieuwe sub-protocollen	Wijzigingen op sub-protocollen
I Wettelijke bevoegdheden en regelgeving				
1 Verantwoordelijk onderzoeker				
2 Andere regelgeving				
3 Bevoegdheid/deskundigheid				
4 Toezicht tijdens experiment				
II Doel, belang, (externe) wetenschappelijke beoordeling				
7 Doelonderzoek/vraagstelling	3			
8 Belang onderzoek: wetenschappelijk en/of maatschappelijk	1		1	
9 Wetenschappelijke beoordeling			1	
10 Ethische afweging				
III Het experiment				
14 Proefopzet	9	6	6	1
15 Biotechnische handelingen	3	4	1	
16 Anesthesie/analgesie	1			
17 Eerst pilot uitvoeren	1			
18 Euthanasie		1		
19 Humane eindpunten		1	1	
20 Looptijd				
21 Gefaseerd uitvoeren	2			
IV 3 V's				
24 Vermindering, biostatistische onderbouwing aantal dieren	5		5	1
25 Verfijning				
26 Vervanging				
V Gegevens proefdieren				
27 Diersoort	3		2	
28 Herkomst dieren				
29 (Schatting) omvang fokoverschotten				
30 Bestemming overtollige dieren/hergebruik	1			
31 Huisvesting	2		1	
VI Ongerief				
33 Inschatting ongerief	6		7	
34 Aangetast fenotype				
VII Diversen				
37 (Tussentijdse) rapportage gevraagd	5	3	6	
38 Verklaar onduidelijke tekst	4	1	3	1
39 Onderzoeksplan teruggetrokken, onderzoeker gaf aan experiment niet uit te voeren.				



confidential

BPRC-DEC APPLICATION FORM FOR ANIMAL EXPERIMENTATION

Date received by DEC: _____

Date confirmation receipt:

DEC # assigned: _____

INTRODUCTION:

This form was designed to include any information relevant to the evaluation of proposed animal experiments by ethical criteria, legal requirements and animal welfare aspects. The applicant should be registered ex art. 9 of the Dutch Law on Animal experimentation and is held responsible for the execution of the experiment according to protocol and any deviations from protocol. Deviations from protocol or unexpected events affecting animal welfare should be reported in any case.

Please use all indicated area's. Use Times Roman pt 12.

Title of the experiment: ...

Principal Investigator: ...

Samenvatting bestemd voor leken in het Nederlands:

*Met ingang van 2009 zal het jaarverslag van de DEC een openbaar stuk worden. In het jaarverslag zullen ook voorbeelden van protocollen moeten worden beschreven, waarin de ethische afweging van de DEC wordt toegelicht. Een **korte niet technische samenvatting** van het onderzoek zou daarbij gerapporteerd kunnen worden. Elke onderzoeker wordt daarom gevraagd in heldere taal het onderzoek te verwoorden voor een **lekenpubliek** met daarin het doel van het onderzoek, de reden waarom het onderzoek met apen wordt gedaan, en de aard en ernst van het te verwachten ongerief. De eigen ethische verantwoording kan hierin verwerkt worden.*

Please insert a list of abbreviations:

.....

.....



CONFIDENTIAL

1. GENERAL INFORMATION ON THE PROTOCOL

- 1.1 Title of the experiment ...
- 1.2 Part of larger program (specify): ...
- 1.3 Sponsor: ...
- 1.4 Principal investigator (must be Art.9): ...
Deputy study director (must be Art.9): ...
- 1.5 Internal collaborators and qualifications (only Art. 9/12):
.....
- 1.6 External collaborators and their affiliations and qualifications
(indicate Art. 9/12): ...
- 1.7 Personnel responsible for animal care and experimental techniques (must be Art
9/12) (indicate unit leader and any person specifically assigned to the study):
- 1.8 Proposed starting date: ...
- 1.9 Duration of the study (from starting date): ...

The total duration of the study submitted for review should not exceed two years, unless the design clearly indicates a longer time needed. Studies that last longer than one year must be re-evaluated after one year.



CONFIDENTIAL

2. SIGNIFICANCE OF THE RESEARCH

2.1 Scientific significance (ultimate aim and contribution to scientific progress):

Please limit this section to ±1000 words (8000 characters including spaces) maximally.

... ..

2.2 Applied significance (ultimate aim, any legal requirements to perform the study, specify):

Please limit this section to ±500 words (4000 characters including spaces) maximally. Indicate whether this is a pre-clinical study and mention in which phase of clinical development the drug/therapy is at this moment.

... ..

2.3 Direct aim of the study (working hypothesis or practical purpose; specify):

Please limit this section to ±500 words (4000 characters including spaces) maximally.

... ..

The aim of the study must be stated in scientific (2.1) and/or applied (2.2) terms, whatever is considered essential. The potential benefit to mankind must be clearly explained. The elaboration of question 2.3 should have a one-to-one relationship with the experimental design.

2.4 Was the proposed research **and this protocol in particular** subjected to independent academic evaluation for scientific significance and quality?:

yes (give information about evaluation)

Please state to what extent this particular protocol was part of the review process

no (specify)

If not reviewed by an independent body, please specify the internal reviewing process, including names and expertise of scientific boards etc.. and if possible also on what grounds the protocol or project was approved.

Items to be answered by reviewers of the protocol:

- 1) *Significance of the research: both scientific and applied significance as well as the quality of the research*
- 2) *Appropriateness of experimental setup (proper controls, treatment schedule, number of animals)*
- 3) *Is the use of non-human primate justified*
- 4) *Are alternatives discussed and justly excluded? (3R's)*



CONFIDENTIAL

3. ALTERNATIVES

According Art 8 of directive 2010/63/EU non-human primates shall not be used in procedures, with the exception of those procedures meeting the conditions outlined in Art 8 and further in Art 5 (see text attached to the protocol). In general the following conditions apply: translational or applied research with a view to the avoidance, prevention, diagnosis or treatment of debilitating or potentially life-threatening clinical conditions in human beings or basic research or research aimed at the preservation of the species.

3.1 Explain why there is no alternative to an experiment on live animals. Please indicate how you have checked whether alternatives are possible or not.

... ..

3.2 Give a concise review of the research conducted to support the move to this experiment.

... ..

3.3 Explain to what extent alternative methods are applied, in terms of reduction of the number of animals, refinement of procedures, the contribution of ex vivo/ in vitro techniques to the research involved.

... ..

3.4 In case of use of non-human primates: explain why other species of laboratory animals do not qualify for the proposed study or why the study cannot be conducted in humans:

... ..

3.5 In case of use of non-human primates: indicate which of the purposes specified under article 8 of directive 2010/63/EU apply (use table below) and explain why:

... ..

Purpose		Select box
Translational or applied research aiming for avoidance, prevention, diagnosis or treatment of disease, ill health or other abnormality or their effects in human beings, animals or plants		
Code 01	For use by humans dev. sera, vaccines, biologicals	
Code 03	For use by humans drug development	
Code 05	Development of medical devices/applications	
Code 24	Detection of human diseases	
Code 25	Detection of other features of humans	
Code 26	Detection of animal diseases	
Code 28	Detection of diseases/other features of plants	
Translational or applied research aimed at development, manufacture or testing of the quality, effectiveness and safety of drugs, foodstuffs and feed stuffs and other substances or products		
Code 02	For use by humans production, quality control, equivalence testing of sera, vaccines, biologicals	
Code 04	For use by humans production, quality control, equivalence testing of drugs	
Code 06	Production, quality control, equivalence testing of medical devices/applications	
Code 07	Other testing	
Basic research		
Code 30	Scientific question on cancer in humans	
Code 31	Scientific question on cardiovascular disease of humans	
Code 32	Scientific question on neural/mental diseases of humans	
Code 33	Scientific question on other diseases in humans	
Code 37	Other scientific question	
Research aimed at preservation of the species		





CONFIDENTIAL

4. ANIMALS

- 4.1 Species/strain (give specifications): species
- 4.2 Number of animals in entire study:
(Do not include animals used for selection purposes unless this involves additional biotechnical handling other than required for health selection purposes)
- 4.3.1 Age range: ...
- 4.3.2 sex:
- 4.3.3 range of body weight
(give specifications and numbers of animals)
- 4.3.4 Remarks (such as genetic background):
- 4.4.1 Origin of the animals / supplier:
- 4.4.2 Country of origin of supplier:
If not purpose bred animals are used please explain why this is needed. The specification in reply to questions 4.3 and 4.4 should correspond to the information in the registration table, question 12, columns 1 and 3
- 4.5 Experimental history (per animal if relevant, specify previous discomfort):
- 4.6 Does the acquisition of the animals imply ethical or welfare restrictions (genetic modification, inborn abnormalities, transportation over a great distance, etc.):.....
- 4.7 Does this project imply Biotechnological techniques as defined in Article 66 of the Law on Animal Health and Welfare, or the use of transgenic animals? If yes, what are the consequences for the phenotype. Are there consequences for the housing conditions?

In case of Biotechnological techniques for genetic modification of animals performed after April 1, 1997 in The Netherlands, a license from the Minister of Agriculture is required. Information also to be indicated in Column 1 of the registration table in question 12.
- 4.8 Are there any other aspects relevant for the consideration of the Committee (for instance: combined use, surplus animals? (if any, specify): ...

There are legal restrictions with respect to the origin of the animals and with respect to re-use. It should be made explicit to what extent the history of the animals makes them specifically suitable or, contrarily, less suitable for the proposed study.



CONFIDENTIAL

5.3 Motivation of number of animals (based on statistical power assessment, related to the variation in response parameters to be measured, the quality and uniformity of the animals, etcetera):

... ..

Every animal to be used must be accounted for.

5.4 Endpoint of the study: at what stage will the relevant information be available? Is there any sort of phased decision making (go/ no go)?

... ..

The phasing of the study is highly relevant to the execution of the experiment, e.g.: "only if a vaccination response occurs in at least 80% of the animals, there will be an experimental challenge". Similarly, the scientific endpoint is essential to animal welfare, e.g. the animals will be killed at a specified stage of clinical disease.



CONFIDENTIAL

6. EXPERIMENTAL PROCEDURES

6.1 Describe preparative actions (surgery, training to a task, or the like) and the techniques to be used:

... ..

6.2 Describe dosing techniques:

... ..

6.3 Describe observations:

... ..

6.4 Describe sampling techniques:

... ..

Make sure to describe 6.1 to 6.4 in full detail, e.g. for dosing the route, volume, site should be clear. Also, any possible adverse effects of the procedure should be specified. Similarly, other aspects significant to animal welfare should be indicated, such as possible side effects, failure rate etc..

6.5 Restraint and analgesia (specify for every type of handling: the method, the preparation and dosage to be used, any preparative measures to be taken, such as fasting or training to the procedure):

All handling as mentioned in 5.2 must be mentioned here as well as disease symptoms etc. (model related discomfort).

Handling / procedure / model related discomfort	Restraint and analgesia Specify type of drug, dose and duration		
	Compound or method	Dose of Analgesic or anaesthetic	duration
<i>Example: blood sample</i>	<i>Ketamine</i>	<i>10 mg/kg</i>	<i>15 minutes</i>

6.6 Have any other legal and safety requirements (related to physical, chemical, microbiological, recombinant DNA) been met? Specify as needed:

... ..



CONFIDENTIAL

7. ANIMAL HOUSING & CARE*

- 7.1 Location of the experiment (*where will the animal be housed*): ...
- 7.2 Type of cage, composition of the group (indicate enrichment): ...
- 7.3 Must the animal be moved or group composition changed for this experiment? In what sense?: ...
- 7.4 Diet (describe any non-standard feeding regimen): ...
- 7.5 Clinical observations (frequency, additional parameters such as weighing, excreta, clinical signs specific to the disease model involved): ...

* *Any housing or care different from home cage should be specified. E.g. primates **must** be housed socially and enrichment is part of the standard care at BPRC. If this is not the case, the animal is moved from a group to a single cage. In case the animal was housed singly in the colony, single housing in the same room and cage does not imply a change but is not in line with international standards either. **The investigator is asked to indicate why social housing and/or enrichment is not compatible with the experimental set up.***



CONFIDENTIAL

8. DISCOMFORT

8.1 Describe the anticipated discomfort according to procedures to be used:

There may be different sources of discomfort, such as emotional stress, pain, illness, technical failure directly related to the experimental procedures or related to the required housing conditions.

Table: anticipated severity of discomfort description		
Procedure / Type of discomfort	Description of discomfort	Severity according to annex 8*

** for explanation see attached annex 8 of directive 2010/63/EU*

8.2 Classify the maximum grade and duration of discomfort to be expected per experimental group in the schedule below. Use categories A-F as specified below:

Experimental procedures: maximum degree and duration of discomfort anticipated in the course of the **entire** experiment:

Degree*:

Duration:

Causes of discomfort:

**In case of serious discomfort that cannot be ameliorated specific permission has to be obtained from the Dutch government. Please indicate at 8.4 which measures are taken to reduce and shorten this severity of discomfort.*

Table: degree and duration of discomfort anticipated per procedure		Duration <i>(specify exact duration in minutes, hours, days)</i>			
		< 1 day	1-7 days	7-30 days	> 30 days*
Procedure / type of discomfort	Degree**				

**: indicate duration if longer than 30 days*

***: indicate with letter:*

<i>A: minor</i>	<i>D: moderate to serious</i>
<i>B: minor to moderate</i>	<i>E: serious</i>
<i>C: moderate</i>	<i>F: very serious</i>

8.3 Housing conditions: classify the maximum grade and duration of the additional discomfort to be expected due to experimental housing conditions

Table: degree and duration of discomfort anticipated per group	Duration



CONFIDENTIAL

		< 1 day	1-7 days	7-30 days	> 30 days*
	No addition discomfort				
Degree	A: minor				
	B: minor to moderate				
	C: moderate				
	D: moderate to serious				
	E: serious				
	F: very serious				

*: indicate duration if longer than 30 days

8.4 Indicate what may or will be done to reduce discomfort (E.g.: remove animal from experiment, euthanise the animal, start supportive care or palliative treatment):

... ..

Additional information is obligatory in case serious discomfort is indicated under 8.2 or 8.3.



CONFIDENTIAL

9. DESTINATION OF THE ANIMAL

9.1 Specify the destination of the animal after completion of the study and specify humane endpoint of the study (in case of return to experimental stock colony):
... ..

In case of euthanasia, specify humane endpoint and method of euthanasia:
... ..

9.2 Are there any restrictions for further use (specify in terms of discomfort, putative late effects, incompatibility with some research applications):
... ..

9.3 Is any additional testing or treatment required to render return to experimental stock colony possible (if any, specify and classify any discomfort additional to the study proper):
... ..

The animal may not survive the study. If it survives, it may then be returned to colony with or without restrictions for further use. Please note that animals that may suffer late effects should not be returned to the colony.

10. ANY OTHER RELEVANT INFORMATION

. Specify as desired:

. *Please note that the committee may issue conditional advice, in terms of phasing, endpoint, animal management, sampling or any other aspect. If you think some additional clarifications would be instrumental in the procedure, these should be presented here.*

11. ETHICAL CONSIDERATIONS

Why do you think this protocol is ethically justified?



CONFIDENTIAL

12. CODING FOR REGISTRATION

This refers to the legally required registration of animal experiments. Refer to summary of codes (annex) for completion:

Codes (numbers) VHI-registration starting 1998:

group	< columns >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
..
..
..
..
..

for explanation or see attached list "codes for registration"

Complete at least one line (row). Use additional lines to specify significant differences between animals or groups. If discomfort between group is expected to be different, specify this clearly using additional lines and specify each time for the number of animals concerned. Also: if some codes are unclear or uncertain at this stage, please give the options separated by a dash: "x/y".

Add any further information here:

13. DATED SIGNATURES (SEQUENTIAL)

13.1 Applicant (principal investigator):

Deputy study director:

13.2 Departmental chair or person so authorized during absence:

13.3 DEC (see advice annex):

13.4 Director:

*Article 8***Non-human primates**

1. Subject to paragraph 2, specimens of non-human primates shall not be used in procedures, with the exception of those procedures meeting the following conditions:

(a) the procedure has one of the purposes referred to in

(i) points (b)(i) or (c) of Article 5 of this Directive and is undertaken with a view to the avoidance, prevention, diagnosis or treatment of debilitating or potentially life-threatening clinical conditions in human beings; or

(ii) points (a) or (e) of Article 5;

and

(b) there is scientific justification to the effect that the purpose of the procedure cannot be achieved by the use of species other than non-human primates.

A debilitating clinical condition for the purposes of this Directive means a reduction in a person's normal physical or psychological ability to function.

2. Specimens of non-human primates listed in Annex A to Regulation (EC) No 338/97, which do not fall within the scope of Article 7(1) of that Regulation, shall not be used in procedures, with the exception of those procedures meeting the following conditions:

(a) the procedure has one of the purposes referred to in:

(i) points (b)(i) or (c) of Article 5 of this Directive and is undertaken with a view to the avoidance, prevention, diagnosis or treatment of debilitating or potentially life-threatening clinical conditions in human beings; or

(ii) Article 5(e);

and

(b) there is scientific justification to the effect that the purpose of the procedure cannot be achieved by the use of species other than non-human primates and by the use of species not listed in that Annex.

3. Notwithstanding paragraphs 1 and 2, great apes shall not be used in procedures, subject to the use of the safeguard clause in Article 55(2).

*Article 5***Purposes of procedures**

Procedures may be carried out for the following purposes only:

(a) basic research;

(b) translational or applied research with any of the following aims:

(i) the avoidance, prevention, diagnosis or treatment of disease, ill-health or other abnormality or their effects in human beings, animals or plants;

(ii) the assessment, detection, regulation or modification of physiological conditions in human beings, animals or plants;

or

(iii) the welfare of animals and the improvement of the production conditions for animals reared for agricultural purposes;

(c) for any of the aims in point (b) in the development, manufacture or testing of the quality, effectiveness and safety of drugs, foodstuffs and feed-stuffs and other substances or products;

(d) protection of the natural environment in the interests of the health or welfare of human beings or animals;

(e) research aimed at preservation of the species;

(f) higher education, or training for the acquisition, maintenance or improvement of vocational skills;

(g) forensic inquiries.

ANNEX VIII, zie pagina 40

Codering Registratie Dierproeven, zie pagina 43



Sub-protocol formulier zoals gebruikt in 2013

BPRC-DEC SUB-PROTOCOL FOR ANIMAL EXPERIMENTATION

Date received on behalf of the director: _____

DEC advice #: _____

Sub-protocol # assigned: _____

INTRODUCTION:

This form was designed to include any information relevant to the evaluation of proposed animal experiments to be performed within the framework of an approved DEC protocol that has received a positive advice. This form should be send to the license holder (director BPRC) who will ask the ethical committee for additional recommendations

The sub-protocol has to contain details on the research question, experimental design, justification of the number of animals, specification of the animals including details on acquisition including re-use, treatment schedule, and scientific and humane endpoints. Details on experimental procedures, animals and housing are only to be provided where different from the protocol or deviating from standard conditions, respectively.

The applicant should be registered ex art. 9 of the Dutch Law on Animal experimentation and is held responsible for the execution of the experiment according to protocol and any deviations from protocol. Deviations from protocol or unexpected events affecting animal welfare should be reported in any case.

Please use all indicated area's. Use Times Roman pt 12.

Please insert a list of abbreviations:

.....
.....

**1. GENERAL INFORMATION ON THE SUB-PROTOCOL**

- 1.1 Title of the DEC protocol ...
- 1.2 Title of the sub-protocol: ...
- 1.3 How many sub-protocols (including this sub-protocol) have been submitted under this DEC protocol?:
- 1.4 What is the total number of animals requested under the previous sub-protocols, that have received a positive advice, and fall under this DEC protocol?:
- 1.5 Sponsor: ...
- 1.6 Principal investigator (must be Art.9): ...
Deputy study director (must be Art.9): ...
- 1.7 Internal collaborators and qualifications (only Art. 9/12):
.....
- 1.8 Personnel responsible for animal care and experimental techniques (must be Art 9/12) (indicate unit leader and any person specifically assigned to the study):
- 1.9 Proposed starting date: ...
- 1.10 Duration of the study (from starting date): ...

The total duration of the study submitted for review should not exceed two years, unless the design clearly indicates a longer time needed. Studies that last longer than one year must be re-evaluated after one year.



2. RATIONALE OF THE STUDY PERFORMED IN THIS SUB-PROTOCOL

2.1 Explain how this sub-protocol forms part of the general DEC protocol specified at 1.1.

Please limit this section to ±500 words (4000 characters including spaces) maximally.

... ..

2.2 Significance (what is the rationale for performing this specific study or evaluating these specific compounds):

Please limit this section to ±500 words (4000 characters including spaces) maximally.

... ..

2.3 Direct aim of the study (working hypothesis or practical purpose; specify):

Please limit this section to ±500 words (4000 characters including spaces) maximally.

... ..

2.4 Was **this sub-protocol in particular** subjected to independent academic evaluation for scientific significance and quality?:

yes (give information about evaluation)

Please state to what extent this particular protocol was part of the review process

no (specify)

If not reviewed by an independent body, please specify the internal reviewing process, including names and expertise of scientific boards etc.. and if possible also on what grounds the protocol or project was approved.

Items to be answered by reviewers of the protocol:

- 1) *Significance of the research: both scientific and applied significance as well as the quality of the research*
- 2) *Appropriateness of experimental setup (proper controls, treatment schedule, number of animals)*
- 3) *Is the use of non-human primate justified*
- 4) *Are alternatives discussed and justly excluded? (3R's)*



3. ALTERNATIVES

3.1 Give a concise review of the research conducted to support the decision to propose the experiment described in this sub-protocol.

... ..

3.2 Are there recent developments that have led to a change in procedure implemented in this sub-protocol?

... ..

3.3 How are the principles of refinement, reduction and replacement implemented in the design of this particular experiment.

... ..



4. ANIMALS

Please provide additional justification in case the information provided under one of the subheadings here differs from the DEC protocol.

4.1 Species/strain (give specifications): species

4.2 Number of animals for this sub-protocol:

(Do not include animals used for selection purposes unless this involves additional biotechnical handling other than required for health selection purposes)

4.3.1 Age range: ...

4.3.2 sex:

4.3.3 range of body weight *(give specifications and numbers of animals)*

4.3.4 Remarks (such as genetic background):

4.4.1 Origin of the animals / supplier:

4.4.2 Country of origin of supplier:

The specification in reply to questions 4.3 and 4.4 should correspond to the information in the registration table, question 12, columns 1 and 3

4.5 Experimental history (per animal if relevant, specify previous discomfort):

4.6 Does the acquisition of the animals imply ethical or welfare restrictions (genetic modification, inborn abnormalities, transportation over a great distance, etc.):.....

4.7 Are there any other aspects relevant for the consideration of the Committee (for instance: combined use, surplus animals? (if any, specify): ...

There are legal restrictions with respect to the origin of the animals and with respect to re-use. It should be made explicit to what extent the history of the animals makes them specifically suitable or, contrarily, less suitable for the proposed study.



5. EXPERIMENTAL DESIGN

- 5.1 Design according to dose groups, number of animals per group, etc.:
 A. Give a schedule (use example below or give schedule in annex): ...

The use of a table is obligatory!

GROUP <i>(number/ letter or other identification)</i>	EXPERIMENTAL TREATMENT <i>(independent variable, e.g. placebo treated control group)</i>	BIOTECHNIQUES <i>(to be named here and specified in questions 5.2 and 6)</i>	NUMBER	SEX

- B. Explain why this particular study setup with this group composition was chosen.

- 5.2 Treatment schedule for each animal (experimental techniques scheduled according to an hourly, daily or weekly schedule, whatever is most appropriate):
 Please provide a detailed flow sheet: ...

** All techniques as mentioned in table 5.1 must be indicated here*



5.3 Motivation of number of animals (based on statistical power assessment, related to the expected variation in response parameters to be measured, the quality and uniformity of the animals, etcetera):

... ..

Every animal to be used must be accounted for.

5.4 Endpoint of the study: at what stage will the relevant information be available? Is there any sort of phased decision making (go/ no go)?

... ..

The phasing of the study is highly relevant to the execution of the experiment, e.g.: "only if a vaccination response occurs in at least 80% of the animals, there will be an experimental challenge". Similarly, the scientific endpoint is essential to animal welfare, e.g. the animals will be killed at a specified stage of clinical disease.



6. EXPERIMENTAL PROCEDURES

Only procedures specific to this sub-protocol and not described fully in the DEC protocol need to be specified in detail here. Otherwise refer to the DEC protocol.

6.1 Describe preparative actions (surgery, training to a task, or the like) and the techniques to be used:

6.2 Describe substance administration techniques:

6.3 Describe observations:
Please include clinical observations (frequency, additional parameters such as weighing, excreta, clinical signs specific to the disease model involved) and how the observations are performed:

6.4 Describe sampling techniques:

Make sure to describe 6.1 to 6.4 in full detail, e.g. for substance administration the route, volume, site should be clear. Also, any possible adverse effects of the procedure should be specified. Similarly, other aspects significant to animal welfare should be indicated, such as possible side effects, failure rate etc..

6.5 Restraint and analgesia (specify for every type of handling: the method, the preparation and dosage to be used, any preparative measures to be taken, such as fasting or training to the procedure):
All handling as mentioned in 5.2 must be mentioned here as well as disease symptoms etc. (model related discomfort).

Handling / procedure / model related discomfort	Restraint and analgesia Specify type of drug, dose and duration		
	Compound or method	Dose of Analgesic or anaesthetic	duration
<i>Example: blood sample</i>	<i>Ketamine</i>	<i>10 mg/kg</i>	<i>15 minutes</i>

6.6 Have any other legal and safety requirements (related to physical, chemical, microbiological, recombinant DNA) been met? Specify as needed:



7. ANIMAL HOUSING & CARE*

Only information specific to this sub-protocol and not described fully in the DEC protocol needs to be specified in detail here. Otherwise refer to the DEC protocol.

7.1 Location of the experiment (*institute, type of containment*): ...

7.2 Type of cage, composition of the group:

Only specify if different from standard cage and group housing

...

7.3 Must the animal be moved or group composition changed for this experiment? In what sense?:

...

7.4 Diet (describe any non-standard feeding regimen): ...

* *Any housing or care different from home cage should be specified. E.g. primates **must** be housed socially and enrichment is part of the standard care at BPRC. If this is not the case, the animal is moved from a group to a single cage. In case the animal was housed singly in the colony, single housing in the same room and cage does not imply a change but is not in line with international standards either. **The investigator is asked to indicate why social housing and/or enrichment is not compatible with the experimental set up.***



8. SEVERITY

Level of severity (discomfort) must not exceed the permitted maximum grade and duration specified in the DEC protocol.

8.1 Describe the anticipated severity of discomfort according to procedures to be used:

There may be different sources of severity, such as emotional stress, pain, illness, technical failure directly related to the experimental procedures or related to the required housing conditions.

Table: anticipated severity of discomfort description		
Procedure / Type of discomfort	Description of discomfort	Severity according to annex 8*

** for explanation see attached annex 8 of directive 2010/63/EU. In case of serious discomfort specific permission has to be obtained from the Dutch government. Please indicate which measures are taken to reduce and shorten this severity of discomfort.*

8.2 Classify the maximum grade and duration of severity of discomfort to be expected per experimental group in the schedule below:

Experimental procedures: maximum degree and duration of discomfort anticipated in the course of the **entire** experiment:

Degree:

Duration:

Causes of discomfort:

Table: degree and duration of discomfort anticipated per procedure		Duration <i>(specify exact duration in minutes, hours, days)</i>			
		< 1 day	1-7 days	7-30 days	> 30 days*
Procedure / type of discomfort	Degree**				

**: indicate duration if longer than 30 days*

***: indicate with letter:*

<i>A: minor</i>	<i>D: moderate to serious</i>
<i>B: minor to moderate</i>	<i>E: serious</i>
<i>C: moderate</i>	<i>F: very serious</i>

8.3 Housing conditions: classify the maximum grade and duration of the additional discomfort to be expected due to experimental housing conditions

Table: degree and duration of discomfort anticipated per group		Duration			
		< 1 day	1-7 days	7-30 days	> 30 days*
	No addition discomfort				
Degree	A: minor				
	B: minor to moderate				
	C: moderate				
	D: moderate to serious				
	E: serious				



	F: very serious				
--	-----------------	--	--	--	--

**: indicate duration if longer than 30 days*

8.4 Indicate what may or will be done to reduce discomfort (E.g.: remove animal from experiment, euthanise the animal, start supportive care or palliative treatment):

.....



9. DESTINATION OF THE ANIMAL

9.1 Are there any restrictions for further use (specify in terms of discomfort, putative late effects, incompatibility with some research applications):

... ..

9.2 Is any additional testing or treatment required to render return to experimental stock colony possible (if any, specify and classify any discomfort additional to the study proper):

... ..

The animal may not survive the study. If it survives, it may then be returned to colony with or without restrictions for further use. Please note that animals that may suffer late effects should not be returned to the colony.



10. CODING FOR REGISTRATION

This refers to the legally required registration of animal experiments. Refer to summary of codes (annex) for completion:

Codes (numbers) VHI-registration starting 1998:

group	< columns >												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
..
..
..
..
..

for explanation or see attached list "codes for registration"

Complete at least one line (row). Use additional lines to specify significant differences between animals or groups. If discomfort between group is expected to be different, specify this clearly using additional lines and specify each time for the number of animals concerned. Also: if some codes are unclear or uncertain at this stage, please give the options separated by a dash: "x/y".

Add any further information here:

11. DATED SIGNATURES (SEQUENTIAL)

11.1 Project leader (responsible for main protocol):

Applicant (principal investigator):

Deputy study director:

11.2 Departmental chair or person so authorized during absence:

11.3 DEC (see advice annex):

11.4 Director:



ANNEX VIII

SEVERITY CLASSIFICATION OF PROCEDURES

The severity of a procedure shall be determined by the degree of pain, suffering, distress or lasting harm expected to be experienced by an individual animal during the course of the procedure.

Section I: Severity categories

Non-recovery:

Procedures which are performed entirely under general anaesthesia from which the animal shall not recover consciousness shall be classified as 'non-recovery'.

Mild:

Procedures on animals as a result of which the animals are likely to experience short-term mild pain, suffering or distress, as well as procedures with no significant impairment of the well-being or general condition of the animals shall be classified as 'mild'.

Moderate:

Procedures on animals as a result of which the animals are likely to experience short-term moderate pain, suffering or distress, or long-lasting mild pain, suffering or distress as well as procedures that are likely to cause moderate impairment of the well-being or general condition of the animals shall be classified as 'moderate'.

Severe:

Procedures on animals as a result of which the animals are likely to experience severe pain, suffering or distress, or long-lasting moderate pain, suffering or distress as well as procedures, that are likely to cause severe impairment of the well-being or general condition of the animals shall be classified as 'severe'.

Section II: Assignment criteria

The assignment of the severity category shall take into account any intervention or manipulation of an animal within a defined procedure. It shall be based on the most severe effects likely to be experienced by an individual animal after applying all appropriate refinement techniques.

When assigning a procedure to a particular category, the type of procedure and a number of other factors shall be taken into account. All these factors shall be considered on a case-by-case basis.

The factors related to the procedure shall include:

- type of manipulation, handling,
- nature of pain, suffering, distress or lasting harm caused by (all elements of) the procedure, and its intensity, the duration, frequency and multiplicity of techniques employed,
- cumulative suffering within a procedure,
- prevention from expressing natural behaviour including restrictions on the housing, husbandry and care standards.

Examples are given in Section III of procedures assigned to each of the severity categories on the basis of factors related to the type of the procedure alone. They shall provide the first indication as to what classification would be the most appropriate for a certain type of procedure.

However, for the purposes of the final severity classification of the procedure, the following additional factors, assessed on a case-by-case basis, shall also be taken into account:

- type of species and genotype,
- maturity, age and gender of the animal,
- training experience of the animal with respect to the procedure,
- if the animal is to be reused, the actual severity of the previous procedures,
- the methods used to reduce or eliminate pain, suffering and distress, including refinement of housing, husbandry and care conditions,
- humane end-points.

Section III:

Examples of different types of procedure assigned to each of the severity categories on the basis of factors related to the type of the procedure

1. Mild:

- (a) administration of anaesthesia except for the sole purpose of killing;
- (b) pharmacokinetic study where a single dose is administered and a limited number of blood samples are taken (totalling < 10 % of circulating volume) and the substance is not expected to cause any detectable adverse effect;
- (c) non-invasive imaging of animals (e.g. MRI) with appropriate sedation or anaesthesia;
- (d) superficial procedures, e.g. ear and tail biopsies, non-surgical subcutaneous implantation of mini-pumps and transponders;



- (e) application of external telemetry devices that cause only minor impairment to the animals or minor interference with normal activity and behaviour;
- (f) administration of substances by subcutaneous, intramuscular, intraperitoneal routes, gavage and intravenously via superficial blood vessels, where the substance has no more than mild impact on the animal, and the volumes are within appropriate limits for the size and species of the animal;
- (g) induction of tumours, or spontaneous tumours, that cause no detectable clinical adverse effects (e.g. small, subcutaneous, non-invasive nodules);
- (h) breeding of genetically altered animals, which is expected to result in a phenotype with mild effects;
- (i) feeding of modified diets, that do not meet all of the animals' nutritional needs and are expected to cause mild clinical abnormality within the time-scale of the study;
- (j) short-term (< 24h) restraint in metabolic cages;
- (k) studies involving short-term deprivation of social partners, short-term solitary caging of adult rats or mice of sociable strains;
- (l) models which expose animals to noxious stimuli which are briefly associated with mild pain, suffering or distress, and which the animals can successfully avoid;
- (m) a combination or accumulation of the following examples may result in classification as 'mild':
 - (i) assessing body composition by non-invasive measures and with minimal restraint;
 - (ii) monitoring ECG with non-invasive techniques with minimal or no restraint of habituated animals;
 - (iii) application of external telemetry devices that are expected to cause no impairment to socially adapted animals and do not interfere with normal activity and behaviour;
 - (iv) breeding genetically altered animals which are expected to have no clinically detectable adverse phenotype;
 - (v) adding inert markers in the diet to follow passage of digesta;
 - (vi) withdrawal of food for < 24h in adult rats;
 - (vii) open field testing.

2. Moderate:

- (a) frequent application of test substances which produce moderate clinical effects, and withdrawal of blood samples (> 10 % of circulating volume) in a conscious animal within a few days without volume replacement;
- (b) acute dose-range finding studies, chronic toxicity/carcinogenicity tests, with non-lethal end-points;
- (c) surgery under general anaesthesia and appropriate analgesia, associated with post surgical pain, suffering or impairment of general condition. Examples include: thoracotomy, craniotomy, laparotomy, orchidectomy, lymphadenectomy, thyroidectomy, orthopaedic surgery with effective stabilisation and wound management, organ transplantation with effective management of rejection, surgical implantation of catheters, or biomedical devices (e.g. telemetry transmitters, minipumps etc.);
- (d) models of induction of tumours, or spontaneous tumours, that are expected to cause moderate pain or distress or moderate interference with normal behaviour;
- (e) irradiation or chemotherapy with a sublethal dose, or with an otherwise lethal dose but with reconstitution of the immune system. Adverse effects would be expected to be mild or moderate and would be short-lived (< 5 days);
- (f) breeding of genetically altered animals which are expected to result in a phenotype with moderate effects;
- (g) creation of genetically altered animals through surgical procedures;
- (h) use of metabolic cages involving moderate restriction of movement over a prolonged period (up to 5 days);
- (i) studies with modified diets that do not meet all of the animals' nutritional needs and are expected to cause moderate clinical abnormality within the time-scale of the study;
- (j) withdrawal of food for 48 hours in adult rats;
- (k) evoking escape and avoidance reactions where the animal is unable to escape or avoid the stimulus, and are expected to result in moderate distress.

3. Severe:

- (a) toxicity testing where death is the end-point, or fatalities are to be expected and severe pathophysiological states are induced. For example, single dose acute toxicity testing (see OECD testing guidelines);
- (b) testing of device where failure may cause severe pain, distress or death of the animal (e.g. cardiac assist devices);
- (c) vaccine potency testing characterised by persistent impairment of the animal's condition, progressive disease leading to death, associated with long-lasting moderate pain, distress or suffering;
- (d) irradiation or chemotherapy with a lethal dose without reconstitution of the immune system, or reconstitution with production of graft versus host disease;
- (e) models with induction of tumours, or with spontaneous tumours, that are expected to cause progressive lethal disease associated with long-lasting moderate pain, distress or suffering. For example tumours causing cachexia, invasive bone tumours, tumours resulting in metastatic spread, and tumours that are allowed to ulcerate;
- (f) surgical and other interventions in animals under general anaesthesia which are expected to result in severe or persistent moderate postoperative pain, suffering or distress or severe and persistent impairment of the general condition of the animals. Production of unstable fractures, thoracotomy without adequate analgesia, or trauma to produce multiple organ failure;
- (g) organ transplantation where organ rejection is likely to lead to severe distress or impairment of the general condition of the animals (e.g. xenotransplantation);



- (h) breeding animals with genetic disorders that are expected to experience severe and persistent impairment of general condition, for example Huntington's disease, Muscular dystrophy, chronic relapsing neuritis models;
- (i) use of metabolic cages involving severe restriction of movement over a prolonged period;
- (j) inescapable electric shock (e.g. to produce learned helplessness);
- (k) complete isolation for prolonged periods of social species e.g. dogs and non-human primates;
- (l) immobilisation stress to induce gastric ulcers or cardiac failure in rats;
- (m) forced swim or exercise tests with exhaustion as the end-point.



CODERING REGISTRATIE DIERPROEVEN

Kolom 1		Kolom 6	
<i>Bijzonderheid dier</i>		<i>Belang van de proef</i>	
A. Gewoon dier	1	C. Wildvang	3
B. Transgeen dier	2	D. Biotoop	4
Kolom 2		Kolom 7	
<i>Diersoorten</i>		<i>Wettelijke bepalingen</i>	
Muizen	01	Paarden	41
Ratten	02	Varkens	42
Hamsters	03	Geiten	43
Cavia's	04	Schapen	44
Andere knaagdieren *	09	Runderen	45
Konijnen	11	Andere Zoogdieren *	49
Honden	21	Kippen	51
Katten	22	Kwartels	52
Fretten	23	Andere vogels *	59
Andere vleeseters *	29	Reptielen *	69
Prosimians *	31	Amfibieën*	79
Nieuwe wereld apen*	32	Vissen *	89
Oude wereld apen *	33	Cyclostomata	91
Mensapen*	34		
*Dieren nader te specificeren		Kolom 8	
<i>Kolom 3</i>		<i>Toxicologisch, inclusief Veiligheidsonderzoek</i>	
<i>Herkomst dieren</i>		A. Geen toxicologisch onderzoek	
A. Geregistreerde fok/aflevering in Nederland	1	B. Acuut tox. met letaliteit	02
B. Van EU Lidstaten	2	C. Acuut tox. LD50/ LC50	03
C. Niet geregistreerd fok/aflevering in Nederland	3	D. Overig acuut tox. (geen letaliteit)	04
D. Niet geregistreerd fok/aflevering in andere EU Lid Staten	4	E. Sub-acuut tox.	05
E. Andere herkomst	5	F. Sub-chronisch en chronisch tox.	06
F. Hergebruik 1 maal in het registratiejaar	6	G. Carcinogeniteitsonderzoek	07
G. Hergebruik > 1 maal in het registratiejaar	7	H. Mutageniteitsonderzoek	08
Kolom 4		I. Teratogeniteitsonderz. (segment II)	
<i>Aantal dieren</i>		J. Reproductie-onderzoek (segment 1 en III)	
Kolom 5		K. Overig toxiciteitsonderzoek	
<i>Doel van de proef</i>		Kolom 9	
A. Onderzoek m.b.t. de mens:		<i>Bijzondere technieken</i>	
- ontwikkeling van sera/vaccins/biologische producten	01	A. Geen van onderstaande technieken of ingrepen	
- productie/controle/ijking van sera/vaccins/biologische producten	02	B. Doden zonder voorafgaande handelingen	
- ontwikkeling van geneesmiddelen	03	C. Curare-achtige stoffen zonder anesthesie	
- productie/controle/ijking van geneesmiddelen	04	D. Technieken/ingrepen ter verkrijging v. transgene dieren	
- Ontwikkeling van medische hulpmiddelen/toepassingen	05	E. Toedienen van mogelijk irriterende stoffen	
- productie/controle/ijking van med.hulpmiddelen/toepassingen	06	- via de luchtwegen	
- andere ijkingen	07	- op het oog	
Onderzoek m.b.t. het dier:		- op andere slijmvliezen of op de huid	
- ontwikkeling van sera/vaccins/biologische producten	08	F. Huidsensibilisaties	
- productie/controle/ijking van sera/vaccins/biologische producten	09	G. Bestraling, met schadelijke effecten	
- ontwikkeling van geneesmiddelen	10	H. Traumatiserende fysische of chemische prikkels (CZ)	
- productie/controle/ijking van geneesmiddelen	11	I. Traumatiserende psychische prikkels	
- ontwikkeling van medische hulpmiddelen/toepassingen	12	J. Technieken/ingrepen anders dan C t/m H, gericht: op	
- productie/controle/ijking van med.hulpmiddelen/toepassingen	13	- opwekken van ontstekingen/infecties	
- andere ijkingen	14	- opwekken van verbranding, fractuur of letsel (trauma)	
B. Onderzoek m.b.t.:		- opwekken van poly- en monoclonale antistoffen	
- agrarische sector	15	- produceren van monoclonale antistoffen	
- industrie	16	K. Meer dan een onder G t/m J vermelde mogelijkheden	
- huishouden	17	Kolom 10	
- cosmetica / toiletartikelen	18	<i>Anesthesie</i>	
- voedingsmiddelen voor menselijke consumptie	19	A. Is niet toegepast (geen aanleiding)	
- voedingsmiddelen voor dierlijke consumptie	20	B. Is niet toegepast (onverenigbaar met proef)	
- tabak en andere rookwaren	21	C. Is niet toegepast (praktisch onuitvoerbaar)	
- stoffen schadelijk voor het milieu	22	D. Is wel toegepast	
- anders	23	Kolom 11	
C. Opsporen van:		<i>Pijnbestrijding, postoperatie of op ander tijdstip</i>	
- ziekten bij mensen	24	A. Is niet toegepast (geen aanleiding)	
- andere lichamelijke kenmerken bij mensen	25	B. Is niet toegepast (onverenigbaar met proef)	
- ziekten bij dieren	26	C. Is niet toegepast (praktisch onuitvoerbaar)	
- andere lichamelijke kenmerken bij dieren	27	D. Is wel toegepast	
- ziekten of kenmerken bij planten	28	Kolom 12	
D. Onderwijs of Training	29	<i>Mate van ongerief</i>	
E. Wetenschappelijke vraag m.b.t.:		A. Gering	
- kanker (excl. carcinogene stoffen) bij mensen	30	B. Gering / matig	
- hart- en vaatziekten bij mensen	31	C. Matig	
- geestesziekte of zenuwziekte bij mensen	32	D. Matig / ernstig	
- andere ziekten bij mensen	33	E. Ernstig	
- andere lichamelijke kenmerken bij mensen	34	F. Zeer ernstig	
- gedrag van dieren	35	Kolom 13	
- ziekten bij dieren	36	<i>Toestand van het dier na einde proef</i>	
- andere wetenschappelijke vraag	37	A. Dood in de proef / dood na de proef	
		B. Gedood na beëindiging van de proef	
		C. Na einde proef in leven gelaten	

