

Inventaris Wob-verzoek W17-05										
nr.	document NTS nr 2015142	wordt verstrekt				weigeringsgronden				
		reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1	
1	Aanvraagformulier				x		x	x		
2	NTS Initieel			x						
3	Projectvoorstel				x	x		x		
4	Bijlage beschrijving dierproeven				x	x		x		
5	DEC advies				x		x	x		
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x		
7	Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x		
8	NTS aangepast	x								
9	Adviesnota CCD		x							x
10	Beschikking				x		x	x		
11	mail aan DEC over beschikking				x		x	x		
12	Bezwaarschrift				x		x	x		
13	Herziene beschikking				x		x	x		



08 OKT. 2015

## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl) of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	90500 / 142
<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	

- 1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam instelling of organisatie	BioXpert BV
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
KvK-nummer	54838134

- 1.3 Vul de gegevens van het postadres in.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*

Straat en huisnummer	Nistelrooise Baan	3
Postbus		
Postcode en plaats	5374RE	Schaijk
IBAN	NL72RABO0183605888	

- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

Tenaamstelling van het rekeningnummer	BioXpert BV	
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
Functie	[Redacted]	
Afdeling	Viroclinics Biosciences B.V.	
Telefoonnummer	[Redacted]	
E-mailadres	[Redacted]	

- 1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
Functie	[Redacted]	
Afdeling	Viroclinics Biosciences B.V.	
Telefoonnummer	[Redacted]	
E-mailadres	[Redacted]	

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- |                             |                    |   |
|-----------------------------|--------------------|---|
| (Titel) Naam en voorletters | [REDACTED]         | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | [REDACTED]         |   |
| Afdeling                    | Scientific support |   |
| Telefoonnummer              | [REDACTED]         |   |
| E-mailadres                 | [REDACTED]         |   |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het Ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag
- Nee

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6
- 

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |               |
|------------|---------------|
| Startdatum | 1 - 9 - 2015  |
| Einddatum  | 31 - 8 - 2020 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Het testen van de werkzaamheid van influenza vaccins al dan in combinatie met een adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |            |
|-------------|------------|
| Naam DEC    | [REDACTED] |
| Postadres   | [REDACTED] |
| E-mailadres | [REDACTED] |

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*  
 Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- 

## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuust en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	[REDACTED]
Functie	vergunninghouder
Plaats	Schaijk
Datum	10 - 6 - 2015
Handtekening	[REDACTED]



**BioXpert B.V.**

Nistelrooise Baan 3  
5374 RE Schaijk  
The Netherlands  
T: +31 (0) 486-463303  
F: +31 (0) 486-463498

[info@bioxpert.nl](mailto:info@bioxpert.nl)  
[www.bioxpert.nl](http://www.bioxpert.nl)

**Aan:** Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

**Datum:** 25 september 2015

**Betreft:** Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD905002015142

Geachte heer / mevrouw,

Bijgaand de getekende aanvraag Projectvergunning Dierproeven AVD905002015142 met als titel:

*Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.*

Deze aanvraag is vandaag met de beveiligde e-mailverbinding ingediend.

Met vriendelijke groet,





2.

## Format

### Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Het testen van de werkzaamheid van influenza vaccins al dan in combinatie met een adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Influenza virus, vaccinatie, werkzaamheid

## 2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	<input type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

## 3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	<p>In de experimenten van dit project zullen verschillende vaccinatiestrategieën uitgetest gaan worden tegen infectie met verschillende influenzavirussen. Jaarlijks circulerende seizoensinflenzavirussen kunnen in gezonde personen een milde ziekte veroorzaken, maar ernstige ziekte kan het gevolg zijn wanneer er sprake is van infectie met de zogenaamde "pandemische" virussen (zoals bv. de Spaanse Griep, de Mexicaanse griep). Deze "pandemische" virussen zijn virussen die relatief nieuw zijn in de mens en waartegen geen bescherming is door vaccinatie of eerdere infectie. Daarnaast kunnen mensen met een onderliggende ziekte (bijvoorbeeld longpatiënten) ook vatbaarder zijn voor een ernstig ziektebeeld bij infectie met een relatief mild seizoensinflenzavirus.</p> <p>Vaccinproducenten zijn contant bezig met het ontwikkelen van vaccins</p>
---	--

tegen seizoensvirussen, maar daarnaast is het ontwikkelen van een vaccin tegen "pandemische" virussen erg belangrijk. Beide virusvarianten veroorzaken elk jaar een grote ziektelast en een aanzienlijke sterfte en hebben grote economische gevolgen.

In alle experimenten zal gekeken worden naar de afweer welke opgewekt wordt door vaccinatie met nieuwe vaccins tegen of seizoensinfluenzavirussen of "pandemische" influenzavirussen, onder andere met als doel of deze resultaten ook een aanwijzing kunnen zijn voor de werkzaamheid van het vaccin. Daarnaast zullen de dieren vervolgens geïnfecteerd worden en onderzocht of de vaccins bescherming bieden tegen infectie en/of tegen het ontwikkelen van klinische verschijnselen na infectie.

3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?

De resultaten verkregen in deze studie zullen bijdragen aan de kennis over de veiligheid en werkzaamheid van de uit te testen vaccins. Resultaten zullen tevens gebruikt kunnen worden voor de registratie van vaccins voor toekomstig geneeskundig gebruik.

3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?

Diersoort: fretten  
Geschat aantal: 600

3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?

Door de infectie met influenzavirus kunnen de dieren in meer of mindere mate last krijgen van een longontsteking afhankelijk van de werkzaamheid van het vaccin en de keuze van het virus. In het algemeen zullen de klinische verschijnselen bij infectie met seizoensvirussen minder ongemak (matig) veroorzaken dan infectie met "pandemische" virussen (ernstig).

3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?

Na infectie met seizoensvirussen is het maximale ongemak ingeschaald als matig, na infectie met "pandemische" virussen als ernstig.

3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Overlevende dieren zullen na afloop van de studie gedood worden om in verschillende weefsels te bepalen hoeveel virus erin zit of te bestuderen of de dieren beschermd zijn tegen het ontstaan van schade.

## 4 Drie V's

4.1 **Vervanging**  
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

De studies welke uitgevoerd worden onder dit project zijn opgezet om de werkzaamheid van vaccins te bestuderen tegen infectie met influenza virus. Dergelijke studies zijn niet mogelijk zonder diermodellen met een intact afweersysteem.

4.2 **Vermindering**  
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal

In het verleden zijn al meerdere studies uitgevoerd om de werkzaamheid van influenzavaccins te testen. Meerdere van deze studies zijn gepubliceerd in gerenommeerde tijdschriften en hebben laten zien dat de hier voorgestelde groepsgrootte geschikt is om een uitspraak te doen over de validiteit van de studies. Daarnaast zullen deze ervaringen ook gebruikt

dieren wordt gebruikt.

worden om een zo optimaal mogelijk opzet te definiëren om te komen tot een bruikbaar eindresultaat.

#### 4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Fretten zijn het kleinste mogelijke proefdiermodel voor influenzastudies aangezien fretten, in tegenstelling tot bijvoorbeeld muizen, wel geïnfecteerd kunnen worden met klinische relevante circulerende virussen. Ook lijkt het ziektebeeld na infectie in fretten op dat van de mens.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De dieren worden standaard gehuisvest in groepen met kooiverrijking en minimaal eenmaal per dag gecontroleerd. De meest ingrijpende handelingen zullen uitgevoerd worden onder verdoving. Als de dieren een bepaalde ziektebeeld gaan vertonen (luchtwegproblemen) zullen de dieren intensiever geobserveerd worden.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen





3.

## Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u 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 de titel van het project in.

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

In het kader van vaccin en antiviralen ontwikkeling tegen influenza biedt de aanvrager van dit

projectvoorstel verschillende preklinische modellen aan om deze preparaten uit te testen. Deze preparaten worden verschaft door derden (in het algemeen farmaceutische bedrijven) en maken gebruik van de expertise bij de aanvrager voor het bepalen van het relevante in vivo model om het preparaat uit te testen.

Vaccinproducenten zijn contant bezig met het ontwikkelen van vaccins tegen seizoensvirussen, maar daarnaast is het ontwikkelen van een vaccin tegen "pandemische" virussen ook erg belangrijk. Vanwege de genetische veranderlijkheid van influenzavirussen an sich is het zaak om de zgn. seizoensvaccins indien nodig aan te passen aan de op dat moment circulerende virussen. Deze constante verandering van het seizoensinfluenza virus, waardoor het seizoensvaccin slechter of niet werkt, wordt genetische drift genoemd. Seizoensinfluenza treft jaarlijks tussen de 5% en 10% van de volwassenen en zo'n 20% tot 30% van de kinderen. De ontwikkeling van griep kan resulteren in hospitalisatie en sterfte in vooral de zogenaamde risicogroepen (baby's, jonge kinderen, bejaarden en chronisch zieken). Geschat wordt dat de jaarlijkse epidemieën wereldwijd 3 tot 5 miljoen ernstig zieken leidt en tussen de 250.000 en 500.000 sterftegevallen. In ontwikkelde landen vallen de meeste doden bij mensen ouder dan 65 jaar. Epidemieën kunnen tevens leiden tot absentie van arbeiders en scholieren en daarmee economische schade veroorzaken (WHO Influenza fact sheet, 2014).

Influenza pandemieën (uitbraken die grote delen van de wereld bestrijken vanwege de introductie van een nieuw influenzavirus dat niet eerder in mensen waargenomen is, zoals bv. de Spaanse (1918), Aziatische (1957) en Hongkong (1968) griepandemieën in de vorige eeuw) zijn onvoorspelbare maar terugkerende gebeurtenissen die wereldwijd grote gezondheids-, economische en maatschappelijke gevolgen hebben. Deze influenza pandemieën ontstaan doordat het betreffende virus overspringt van het normale reservoir (vaak watervogels, waardoor deze virussen in het algemeen aangemerkt worden als vogelgriepvirus) naar de mens (een proces dat genetische shift wordt genoemd), waarbij de ziekteverschijnselen in het reservoir relatief mild zijn, maar in de mens ernstig kunnen zijn. Hiervoor zijn meerdere parallele factoren betrokken: een vogelgriepvirus dat in staat is om blijvende mens-op-mens transmissie te bewerkstelligen waarbij het een virus betreft waarvoor geen of nauwelijks immuniteit tegen is opgebouwd in de populatie. Door de wereldwijde toename in handel en reismogelijkheden kan een lokale epidemie snel omslaan naar een infectie op pandemische schaal waarbij weinig tijd beschikbaar is om accurate maatregelen te nemen vanuit het oogpunt van de volksgezondheid. Recentelijk zijn vogelgriepvirussen A(H5N1) en A(H7N9) geïdentificeerd als zijnde virussen die potentieel een pandemie zouden kunnen veroorzaken, omdat ze blijven circuleren in pluimvee, de meeste mensen geen immuniteit tegen deze stammen hebben en zo dus ernstige ziekte en sterfte kunnen veroorzaken. Daarnaast kan niet uitgesloten worden dat influenzavirussen uit andere bronnen zoals bv. varkens, ook pandemisch potentieel hebben (WHO Avian Influenza fact sheet, 2014).

Wereldwijde surveillance en monitoringsprogramma's zijn dan ook van groot belang om zo goed mogelijk voorbereid te blijven op mogelijke pandemische uitbraken, hiertoe werkt de WHO op verschillende platforms samen met de wereldorganisatie voor animal health (OIE) en de voedsel en agricultuur organisatie (FAO). Het Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) houdt de evolutie (de zogenaamde genetische drift en -shift) in de gaten en adviseert jaarlijks wat de samenstelling van de seizoensinfluenzavaccins zou moeten zijn voor zowel het noordelijke als het zuidelijke halfrond. Indien als voorbeeld wordt gekeken naar de samenstelling van het seizoensvaccin sinds 2009 zijn een aantal opmerkelijke fenomenen te zien:

- In 2009 was de uitbraak van Mexicaanse griep: dit was gekenmerkt als een pandemie omdat het virus uit de varkenspopulatie was overgesprongen naar de mens (genetische shift). Sindsdien heeft deze Mexicaanse griep, welke van het H1N1 fenotype is, het voorgaande H1N1 verdrongen en is tot op heden onderdeel van het seizoensvaccin (2010 tot heden). Echter in de afgelopen jaren is er geen bijstelling geweest van de H1N1 component van het vaccin, wat aantoont dat de genetische drift van dit H1N1 influenza virus beperkt is.
- Een ander onderdeel van het seizoensvaccin is het H3N2 influenza virus en dit virus heeft sinds 2009 wel een genetische drift laten zien, waarbij deze component van het vaccin in de overgang van 2012 naar 2013, van 2014 naar 2015 en 2015 naar 2016 aangepast is.

In het kader van vaccinatie tegen seizoensvirussen zijn de afgelopen jaren meerdere ontwikkelingen geweest. Tot op heden wordt het overgrote deel van de mensen gevaccineerd met een relatief kaal seizoensvaccin waarin de drie meest voorkomende influenza virussen vertegenwoordigd zijn. Deze vaccins hebben geen hulpstoffen om ze efficiënter te laten werken. Het nadeel van deze strategie is dat het alleen werkt in personen die al jaren deze vaccinatie ontvangen en dus een zogenaamd geheugen hebben opgebouwd en veel minder in personen (bijvoorbeeld jonge kinderen) die dit geheugen nog niet hebben. Verder bestaat er naast het eerdergenoemde jaarlijkse samenstellingsadvies vanuit de WHO de aanbeveling om het huidige vaccin uit te breiden naar vier in plaats van drie componenten om de effectiviteit te verbreden (WHO 2015). Daarnaast zijn verschillende vaccin producenten bezig met het ontwikkelen van een levend verzwakt vaccin. Dit vaccin induceert een zeer kortdurende niet-ziek makende infectie en dit leidt in het algemeen tot een betere afweer ook in personen zonder het bovengenoemde geheugen [REDACTED]

In het kader van zowel seizoens- als zgn. pandemische virussen richt het vaccinonderzoek zich vooral op het creëren van een universeel vaccin welke werkt tegen verschillende influenza virussen. De meest gevolgde vaccinconcepten hierbij zijn het gebruik van preparaten die gericht zijn op geconserveerde (minder veranderlijke) delen van het influenzavirus, dan wel gebruik van eerdergenoemde levende verzwakte vaccins die op grond van hun replicatie-eigenschappen in staat zijn om bredere immuniteit op te wekken dan de traditionele geïnactiveerde vaccins (Jang & Seong, Viruses, 2014). Een dergelijke aanpak zorgt ervoor dat in het geval van een uitbraak er snel gereageerd kan worden of dat de mens op voorhand beschermd kan worden door vaccinatie. Daarnaast wordt er ook onderzoek gedaan naar specifieke vaccins, bijvoorbeeld tegen virussen die al langer in omloop zijn, maar nog geen pandemie hebben veroorzaakt (Pascua, Clin Exp Vaccine Res, 2014). Tenslotte wordt er ook onderzocht of bijvoorbeeld toevoegingen (in de vorm van zgn. adjuvantia) aan het huidige seizoens-influenza vaccin dit vaccin potenter kunnen maken en zo ook bescherm kan bieden tegen infectie met "pandemische" influenza virussen (Del Giudice & Rappuoli, Curr Top Microbiol Immunol., 2015).

In de experimenten beschreven in het huidige project zal zowel gekeken worden naar de afweer welke opgewekt wordt door vaccinatie, onder andere met als doel of deze resultaten ook een aanwijzing kunnen zijn voor de werkzaamheid van het vaccin. Daarnaast zullen de dieren vervolgens geïnfecteerd worden en onderzocht of ze beschermd zijn tegen infectie en/of tegen het ontwikkelen van klinische verschijnselen na infectie.

In de afzonderlijke studies welke onder dit project zullen vallen, zullen influenza vaccins gebruikt gaan worden, waarvan de effectiviteit uitgetest zal worden tegen challenge met laag pathogeen seizoen dan wel hoog pathogeen pandemisch influenza virus. Voor zowel vaccin productie tegen seizoens-influenza als "pandemic preparedness" doeleinden (het klaar staan in het geval van een mogelijk nieuwe influenza pandemie) is het van belang dat (zo vroeg mogelijk) een kandidaat vaccin uitgetest wordt in het influenza fretten model. De opzet van de studies welke vallen onder dit project zijn gebaseerd op ervaringen opgedaan in eerdere dierstudies.

In het kader van laag pathogeen seizoens-influenza is een studie uitgevoerd (niet publiekelijk beschikbaar), in deze studie waren dieren gevaccineerd op studiedag 0 met, in dit geval levend geattenuerd verzwakt, trivalent influenza vaccin en vier weken later waren de dieren geïnfecteerd met elk van de drie seizoens-influenza virussen welke ook gerepresenteerd waren in het vaccin. In dit geval waren de dieren slechts eenmalig gevaccineerd aangezien serologie in een eerdere studie (eigen onderzoek: [REDACTED] had aangetoond dat een eenmalige vaccinatie met een levend verzwakt vaccin voldoende hoge antistof titers induceert en dit werd ook bevestigd in de bovengenoemde studie. Daarnaast zijn dieren in een andere studie ook gevaccineerd tegen seizoensinfluenza met een geadjuveerd geïnactiveerd trivalent vaccin, waarna de dieren geïnfecteerd werden met het Mexicaanse griepvirus, dat op dat moment een pandemisch influenza virus was, maar dat ondertussen behoort tot het seizoensinfluenzavirus. De resultaten van deze studie zijn beschreven (eigen onderzoek: Del Giudice, Science TM, 2009) en resultaten lieten zien dat twee keer vaccineren met een drieweeks interval leidde tot bescherming tegen infectie vier weken na de tweede vaccinatie.

In het kader van pandemische influenza virussen zijn meerdere studies uitgevoerd met al dan niet geadjuveerd geïnactiveerd antigeen en een aantal van deze studies zijn ook gepubliceerd (eigen onderzoek: o.a. [REDACTED]

██████████ Het vaccinatie schema in al deze studies komt overeen met het vaccinatie schema dat voorgesteld wordt in dit projectvoorstel, namelijk vaccinatie op dag 0 en dag 21 en vier weken na de laatste vaccinatie challenge.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het primaire uitleesparameter van de afzonderlijke experimenten in het project is de effectiviteit van vaccinatie tegen challenge met het betreffende (homoloog) of een afwijkend (heteroloog) influenza virus?

Deze doelstelling wordt geadresseerd door te bepalen in welke mate vaccinatie resulteert in bescherming tegen infectie, op basis van uitleesparameters als virus concentraties in respiratoire monsters, pathologische en klinische verschijnselen en overleving.

Daarnaast zullen de resultaten van de individuele experimenten ook gebruikt worden om te bepalen of het mogelijk is om zogenaamde "correlates of protection" te definiëren. Hiervoor zal in bloedmonsters bepaald worden of een bepaalde mate van immunogeniciteit (ofwel humoraal ofwel cellulair) gecorreleerd is met bescherming tegen challenge.

Dit soort effectiviteitsstudies worden door de farmaceutische bedrijven uitbesteed bij de aanvrager vanwege de hoge expertise op het gebied van influenza en haar relevante in vivo modellen. Deze expertise leidt tot een toename van de kwaliteit van het ontwikkeltraject van het betreffende vaccin. Verschillende studies zijn ook beschikbaar in het publieke domein in de vorm van publicaties (zie hierboven bij 3.1), wat de hoge mate van kwaliteit van dergelijke studies aantoont. Tevens hebben meerdere studies ook daadwerkelijk geleid tot vrijgave van bepaalde vaccins: een belangrijk voorbeeld is het vaccin van ████████ tegen hoog pathogeen H5N1 influenza virus (ook vogelgriep genoemd). Dit vaccin is uitgetest volgens de "animal rule" van de FDA in fretten bij de aanvrager en resultaten verkregen in o.a. deze studie hebben geleid tot vrijgave van het vaccin voor humaan gebruik. Vanwege ethische bezwaren is het niet mogelijk om het effectiviteit van dergelijk vaccins tegen ernstig ziekmakende influenza virussen in mensen te testen (het zogenaamde humane challenge model).

### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

#### **Maatschappelijk belang:**

Seizoensinfluenza treft jaarlijks tussen de 5% en 10% van de volwassenen en zo'n 20% tot 30% van de kinderen. De ontwikkeling van griep kan resulteren in hospitalisatie en sterfte in vooral de zogenaamde risicogroepen (baby's, jonge kinderen, bejaarden en chronisch zieken). Geschat wordt dat de jaarlijkse epidemieën wereldwijd 3 tot 5 miljoen ernstig zieken leidt en tussen de 250.000 en 500.000 sterftegevallen. In ontwikkelde landen vallen de meeste doden bij mensen ouder dan 65 jaar.

Epidemieën kunnen tevens leiden tot absentie van arbeiders en scholieren en daarmee economische schade veroorzaken (WHO Influenza fact sheet, 2014).

Influenza pandemieën (uitbraken die grote delen van de wereld bestrijken vanwege de introductie van een nieuw influenzavirus dat niet eerder in mensen waargenomen is, zoals bv. de Spaanse (1918), Aziatische (1957) en Hongkong (1968) griepandemieën in de vorige eeuw) zijn onvoorspelbaar maar terugkerende gebeurtenissen die wereldwijd grote gezondheids-, economische en maatschappelijke gevolgen hebben. Hiervoor zijn meerdere parallelle factoren betrokken: een vogelgriepvirus dat in staat is om blijvende mens-op-mens transmissie te bewerkstelligen waarbij het een virus betreft waarvoor geen of nauwelijks immuniteit tegen is opgebouwd in de populatie. Door de wereldwijde toename in handel en reismogelijkheden kan een lokale epidemie snel omslaan naar een infectie op pandemische

schaal waarbij weinig tijd beschikbaar is om accurate maatregelen te nemen vanuit het oogpunt van de volksgezondheid. Recentelijk zijn vogelgriepvirussen A(H5N1) en A(H7N9) geïdentificeerd als zijnde virussen die potentieel een pandemie zouden kunnen veroorzaken, omdat ze blijven circuleren in pluimvee, de meeste mensen geen immuniteit tegen deze stammen hebben en zo dus ernstige ziekte en sterfte kunnen veroorzaken. Daarnaast kan niet uitgesloten worden dat influenzavirussen uit andere bronnen zoals bv. varkens, ook pandemisch potentieel hebben (WHO Avian Influenza fact sheet, 2014). De resultaten verkregen in de dierproeven beschreven in dit project voorstel zullen gebruikt worden om nieuw ontwikkelde en misschien beter werkende vaccins te registreren of om de vaccin productie op te schalen indien de snelheid van de uitbraak dit noodzaakt.

#### **Wetenschappelijk belang:**

Vergelijkbare studies die door ons in het verleden zijn uitgevoerd zijn beschreven in internationale peer-reviewed tijdschriften [REDACTED]

[REDACTED]  
[REDACTED]  
[REDACTED]  
[REDACTED]  
[REDACTED] en gepresenteerd op internationale symposia. De studies binnen dit project maken deel uit van onderzoeksprogramma's voor de productie van nieuwe vaccin(concepten) tegen bestaande en/of nieuwe influenzavirussen en van bestaande vaccins tegen nieuwe influenzavirussen. Resultaten zullen gebruikt worden voor het registreren van het betreffende influenza vaccin, maar net als bij de hierboven aangehaalde eerdere studies ook beschreven worden in internationale peer-reviewed tijdschriften en gepresenteerd worden op internationale symposia. Door middel van het publiceren of presenteren van de betreffende resultaten, kunnen deze resultaten gebruikt worden door zowel de wetenschappelijke gemeenschap maar ook door vaccinproducenten om bv. een bepaald vaccinontwikkelingsprogramma te optimaliseren om zo sneller te komen tot een beter vaccin. In het kader hiervan kan ook gedacht worden aan het verder ontwikkelen van adjuvantia ter verbetering van de immunrespons.

### **3.4 Onderzoeksstrategie**

#### 3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

In de studies welke binnen dit project vallen zullen dieren 1 of 2 maal gevaccineerd worden tegen influenza en zal vervolgens bestudeerd worden of dieren na vaccinatie daadwerkelijk beschermd zijn tegen challenge met influenza. De volgende parameters zullen bestudeerd worden, maar niet noodzakelijkerwijs moeten alle parameters voor ieder virus uitgelezen worden:

- Wel of niet ontwikkelen van een humorale en/of cellulaire immunrespons na vaccinatie
- Wel of niet bescherming tegen replicatie van influenza virus in de bovenste luchtwegen
- Wel of niet bescherming tegen replicatie van influenza virus in de onderste luchtwegen
- Wel of niet bescherming tegen replicatie van influenza virus in andere weefsels (in het geval van een systemische infectie)
- Wel of niet bescherming tegen ontwikkelen van klinische verschijnselen en/of pathologie

#### 3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

NB: aangezien het hier een project aanvraag betreft voor meerdere afzonderlijke dierstudies, zijn de hoofdlijnen zeer algemeen omschreven. Specieke details (bijvoorbeeld aantal vaccinaties, vaccinatie scheme, challenge route, e.d.) zullen in detail omschreven worden in de afzonderlijk in te dienen werkprotocollen.

Effectiviteitsstudie tegen challenge met influenza virus:

1. Aanbrengen van een subcutane identificatie chip, vaccinatie tegen rabiës en bloedafname bij de leverancier voor serologische pre-screening (antilichamen tegen influenza virus en Aleutian disease virus)
2. Bepalen lichaamsgewicht op dag van binnenkomst, op een vast aantal dagen tijdens de looptijd van de

studie en op de dag van (vroegtijdige) dood. Daarnaast zal op tussenliggende dagen het lichaamsgewicht bepaald worden indien dit noodzakelijk is in verband met welzijnsbewaking.

3. Standaard huisvesting in groepen van ■■■ dieren van dag van binnenkomst tot de dag van challenge, acclimatisatie voor minimaal een week.
4. Na acclimatisatie implantatie van een temperatuurlogger in de peritoneale holte (minimaal 14 dagen voor start van de studie) onder sedatie.
5. Huisvesting onder DM2 of DM3 (isolatoren) inperking in groepen van ■■■ dieren tijdens de challenge fase van de studie.
6. Immunisatie onder sedatie van alle dieren op een vooraf bepaald aantal dagen met een vooraf bepaald interval.
7. Bloedafnames onder sedatie op een vast aantal tijdstippen waarbij de hoeveelheid niet meer zal bedragen dan 7-8 ml/kg/maand
8. Intratracheale en/of intranasale challenge met influenza virus onder sedatie.
9. Afnemen van monsters vlak voor challenge (nul monster) en elke dag na challenge tot en met de dag van (vroegtijdige) dood onder sedatie.
10. Euthanasie op een vooraf bepaald tijdstip na challenge door verbloeden onder sedatie.
11. Gross pathologie en verzamelen van weefsel (o.a. long en/of turbinaat, maar ook andere organen indien dit relevant is voor het gebruikte virus) voor virologie en histopathologische beoordeling.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Aangezien iedere bij de IvD aangevraagde dierstudie op deze aanvraag een afzonderlijke dierstudie zal zijn, is er niet echt sprake van een logische samenhang tussen de verschillende studies behalve dat het allen studies betreffen naar het uittesten van de effectiviteit van vaccins tegen influenza in fretten.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

4.



Centrale Com

## 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 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.	90500				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	BioXpert				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.  <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.
Volgnummer	Type dierproef					
1	Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.					

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

De experimenten die zullen worden uitgevoerd in het kader van dit project voorstel, zullen gebruikt worden om de effectiviteit van al dan niet geadjuveerde influenza vaccins te bestuderen. Hiervoor zullen dieren 1 of 2 maal gevaccineerd worden in de aanwezigheid of afwezigheid van een adjuvans. Zowel de keuze van het betreffende vaccin, de vaccinatie strategie als het challenge virus bepalen de primaire uitleesparameter. Aangezien de combinatie van deze drie van tevoren niet bekend is, kan in deze beschrijving geen specifieke primaire uitkomstparameter gedefinieerd worden, maar zal deze in het betreffende werkprotocol beschreven en gemotiveerd worden.

De volgende uitkomstparameters kunnen gebruikt worden in de studies van het huidige projectvoorstel. Zoals hieronder is weergegeven is het voor hoog pathogeen influenza mogelijk om meerdere uitleesparameters te definiëren, echter zal per studie een bepaalde primaire uitleesparameter gekozen worden mede op basis van het te gebruiken preparaat en, indien beschikbaar, eerder verkregen data in andere studies:

Uitleesparameter	LP influenza	HP influenza
1 Reductie van hoogte of tijdsduur van virale spreiding in de bovenste luchtwegen	++	+
2 Reductie van virale load in respiratoire weefsel of andere organen (bij verwachting van systemische infectie)	+	++
3 Reductie van gross-pathologie of microscopische pathologie in respiratoire weefsels	+	++
4 Reductie van klinische symptomen zoals koorts, gewichtsverlies of activiteit	+	++
5 Inductie van humorale en/of cellulaire immunoresponsen	+	+

+	Uitleesparameter
++	Primaire uitleesparameter
LP influenza	laag pathogeen influenza
HP influenza	hoog pathogeen influenza

Daarnaast zal ook gekeken worden of de bescherming gecorreleerd kan worden aan de geïnduceerde humorale en/of cellulaire immunorespons (z.g. correlates of protection). Dat dit op voorhand geen uitkomst biedt hebben studies in het verleden echter aangetoond, zoals bv. beschreven in Baras et al. (PloS One, 2008), waarin fretten waarin geen meetbare humorale immunorespons meetbaar was toch beschermd bleken tegen infectie met HP H5N1. Voor de studies in het huidige projectvoorstel zijn challenge infecties dan ook noodzakelijk om daadwerkelijk vast te kunnen stellen of de te testen vaccins bescherming bieden tegen infectie met influenzavirus.

Indien uit de studies in dit voorstel deze correlates of protection duidelijker gedefinieerd kunnen worden, zouden in toekomstige experimenten de primaire uitkomstparameters in het meest gunstige geval ook kunnen dienen als DE primaire uitkomstparameter, waardoor challenge niet meer nodig zou zijn en ongerief tot een minimum beperkt kan blijven.

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 het ontwerp van de fretten studie, zal de opdrachtgever, gevraagd worden om eerder gevonden ondersteunende data te overhandigen. Hierbij kan gedacht worden aan studies in bijvoorbeeld muizen waarin, alhoewel het muizenmodel niet representatief is voor de mens, voorwerk is uitgevoerd naar de uit te testen vaccin preparaten (bijvoorbeeld een grote doseringsreeks). Deze data zullen vervolgens gebruikt worden om tot een zo compleet mogelijke studie te komen, waarbij met een hoge mate van zekerheid een gegronde uitspraak gedaan kan worden over de uit te testen middelen. In veel gevallen betreft de fretten studie de laatste halte voor de overgang naar de mens, mede vanwege het feit dat een effectiviteitsstudie voor veel virussen, vanwege pathogeniciteit, ethisch niet verantwoord is in de mens. In sommige gevallen is het zelfs zo, dat de studie uitgevoerd met fretten, the proof-of-principle studie is, omdat vanwege de hoge pathogeniciteit bijvoorbeeld een humaan challenge model niet ethisch verantwoord uit te voeren is.

In grove lijnen ziet een studie eruit als hieronder puntsgewijs is aangegeven. Vervolgens is per fase (acclimatisatie, vaccinatie en challenge fase) meer in detail weergegeven wat de handelingen zijn in waarvoor gekozen zal worden voor bepaalde strategieën.

1. Aanbrengen van een subcutane identificatie chip, vaccinatie tegen rabiës en bloedafname bij de leverancier voor serologische pre-screening (antilichamen tegen influenza virus en Aleutian disease virus)
2. Bepalen lichaamsgewicht op dag van binnenkomst, op een vast aantal dagen tijdens de looptijd van de studie en op de dag van (vroegtijdige) dood. Daarnaast zal op tussenliggende dagen het lichaamsgewicht bepaald worden indien dit noodzakelijk is in verband met welzijnsbewaking.
3. Standaard huisvesting in groepen van ■■■ dieren van dag van binnenkomst tot de dag van challenge, acclimatisatie voor minimaal een week.
4. Na acclimatisatie implantatie van een temperatuurlogger in de peritoneale holte (minimaal 14 dagen voor start van de studie) onder sedatie.
5. Huisvesting onder DM2 of DM3 (isolatoren) inperking in groepen van ■■■ dieren tijdens de challenge fase van de studie.
6. Immunisatie onder sedatie van alle dieren op een vooraf bepaald aantal dagen met een vooraf bepaald interval.
7. Bloedafnames onder sedatie op een vast aantal tijdstippen waarbij de hoeveelheid niet meer zal bedragen dan 7-8 ml/kg/maand
8. Intratracheale en/of intranasale challenge met influenza virus onder sedatie.



9. Afnemen van monsters vlak voor challenge (nul monster) en elke dag na challenge tot en met de dag van (vroegtijdige) dood onder sedatie.

10. Euthanasie op een vooraf bepaald tijdstip na challenge door verbloeden onder sedatie.

11. Gross pathologie en verzamelen van weefsel (o.a. long en/of turbinaat, maar ook andere organen indien dit relevant is voor het gebruikte virus) voor virologie en histopathologische beoordeling.

#### Acclimatisatie fase:

Na binnenkomst, vervolgens wekelijks en na challenge infectie dagelijks, zullen de dieren gewogen worden om de algemene gezondheidsstatus te volgen. Tevens zal een welzijnsformulier bijgehouden worden gedurende de looptijd van het experiment. Een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zal worden aangehouden. Minimaal 14 dagen voor de start van het experiment zal een zgn. nul-bloedmonster voor referentie in analyses afgenomen worden onder sedatie via de vena jugularis waarna een temperatuurlogger ingebracht zal worden. Dit zal gebeuren door middel van een operatie waarbij de buikwand geopend zal worden en de temperatuurlogger via de linea alba in de peritoneale holte geplaatst zal worden waarna de wond gehecht wordt. Deze temperatuurlogger meet de lichaamstemperatuur van het dier gedurende de looptijd van de studie (klinische parameter). Naderhand zullen de dieren pijnbestrijding krijgen om het genezingsproces te bevorderen.

#### Vaccinatie fase:

Om de werkzaamheid van de te testen vaccins te bepalen zullen de dieren gevaccineerd worden volgens een vooraf bepaald regime welke afhankelijk is van het gekozen preparaat (bv prime, dag 0, boost, dag 21, regime in het geval van een geïnactiveerd antigeen of een enkele vaccinatie in het geval van bijvoorbeeld een levend verzwakt virus). Tijdens deze vaccinatie fase zal op bepaalde tijdstippen afhankelijk van het vaccinatie regime bloed afgenomen worden onder sedatie via de vena jugularis om de immunologische respons te meten. Bloedafname zal beperkt worden tot een hoeveelheid die benodigd is voor de verschillende uit te voeren laboratorium testen, maar zal nooit meer zijn dan de maximale toegestane hoeveelheid van 7-8 ml/kg/maand.

#### Challenge fase:

Om specifieke bijwerkingen van een eventueel adjuvans te beperken, zullen de dieren op vier weken na de (laatste) vaccinatie via de intranasale en/of intratracheale route gechallengeed worden met influenza virus en gedurende een bepaald aantal dagen (bv 4 dagen bij laag-pathogeen en 5 dagen bij hoog-pathogeen influenza virus) vervolgd worden om de klinische verschijnselen te bestuderen en om monsters af te nemen voor het bepalen van de virus verspreiding uit de luchtwegen om de effectiviteit van het vaccin te kunnen bepalen.

De route van de virale challenge is gebaseerd op het te gebruiken challenge virus: hoog pathogene influenza stammen repliceren voornamelijk in de lagere luchtwegen aangezien daar de specifieke receptoren voor deze stammen aanwezig zijn en zullen dus via de intratracheale route gechallengeed worden. Laag pathogene virussen repliceren juist voornamelijk in de bovenste (en soms in de onderste) luchtwegen en dus zal de challenge van deze virussen via de intranasale (en eventueel gelijktijdig via de intratracheale) route verlopen. Het kan echter ook zijn dat vaccinatie tegen laag pathogeen virus, welke hoofdzakelijk in de bovenste luchtwegen replicateert, maar in bepaalde gevallen door kan slaan naar de lagere luchtwegen, als doel heeft om lagere luchtweg infectie in bijvoorbeeld bijzondere doelgroepen te voorkomen. In dat geval kan het zijn dat dit laag pathogeen virus zowel via de intranasale weg als via de intratracheale weg wordt toegediend om ervoor te zorgen dat de infectie zowel in de bovenste als in de onderste luchtwegen aanslaat en zoveel mogelijk de humane situatie nabootst.

De tijdsduur van de opvolgdagen is voornamelijk bepaald door het gekozen challenge virus en het moment waarop verschillen tussen beschermde en onbeschermde dieren naar verwachting het meest duidelijk is, op basis van de primaire uitleesparameter: dit is op dag 4 voor laag pathogene virussen en dag 5 voor hoog pathogene virussen. Het verloop van de infecties van laag pathogene virussen is zodanig dat het ongerief voor de dieren niet hoger zal zijn dan 'matig'. Het verloop van de infecties van hoog pathogene virussen is zodanig dat het ongerief de categorie 'ernstig' kan bereiken in onbeschermde groepen. Het is voor het bepalen van de werkzaamheid van de te testen vaccins tegen hoog pathogeen virus van belang dat alle dieren tot op dag 5 gevolgd kunnen worden omdat de resultaten die worden verkregen bij necropsie (de primaire uitleesparameter) in het geval van vroegtijdig euthanaseren van bv. (onbeschermde) dieren in de controlegroep onderling niet meer te vergelijken zijn. Uiteraard zal in het geval van het bereiken van humane eindpunten het betreffende dier geëuthanaseerd worden.

Daarnaast kan het eindpunt ook nog bepaald worden aan de hand van andere uitleesparameters, zoals bijvoorbeeld pathologie. Op dit vooraf bepaalde vaste tijdstip na de challenge zullen de dieren geëuthanaseerd worden pathologie en het bepalen van de virus load in verschillende (respiratoire weefsels). De aanpak van de verschillende studies zal gebaseerd worden op resultaten behaald in eerdere studies waarvan meerdere gepubliceerd zijn (bv. [REDACTED]). Aangezien het voor elke studie een maatwerk protocol betreft voor vaccinatie regime, challenge virus, opvolgtijd en primaire uitkomstparameter, is op voorhand dit niet te beschrijven voor elke combinatie.

De scenario's voor de studies met hoog- dan wel laag pathogeen influenza virus (deze zijn uitgeschreven in de beschrijving, hieronder in een lijst), *allen op basis van vaccins die al dan niet geadjuveerd één of tweemaal toegediend worden voor het moment van challenge infectie* zijn hieronder weergegeven. Echter voor een specifiek vaccin preparaat tegen een bepaald virus (hoog of laag pathogeen) kan gekozen worden voor alternatieve/additionele tijdstippen voor vaccinatie, afname van bloedmonsters en/of challenge:

- **Hoog pathogeen influenza challenge infectie (prime-boost):**
  - Pre-bloedmonster en plaatsing temperatuurloggers (d-16)
  - Vaccinatie #1 (Prime, d0)
  - Vaccinatie #2 en bloedmonster (Boost, d21)
  - Post-vaccinatie bloedmonster (d42)
  - pre-challenge bemonstering (d48)
  - challenge infectie (d49)
  - dagelijkse post-infectie swabs (d50 – 53)
  - bemonstering en euthanasie (d54)
- **Hoog pathogeen influenza challenge infectie (prime only):**
  - Pre-bloedmonster en plaatsing temperatuurloggers (d-16)
  - Vaccinatie #1 (Prime, d0)
  - Post-vaccinatie bloedmonster (d21)
  - pre-challenge bemonstering (d28)
  - challenge infectie (d29)
  - dagelijkse post-infectie swabs (d30 – 33)
  - bemonstering en euthanasie (d34)
- **Laag pathogeen influenza challenge infectie (prime-boost of prime-only):**
  - Identiek als hierboven beschreven voor hoog-pathogeen virus, echter de opvolgtijd na challenge is in beide gevallen verkort met 1 dag. Dus euthanasie op d53 en d34 voor respectievelijk prime-boost en prime only.

Ter informatie is hieronder een voorbeeld gegeven van een studie waarbij een al dan niet geadjuveerd geïnactiveerd vaccin wordt getest tegen infectie met hoog pathogeen influenza virus:

Influenza Vaccine - Immunisation, Challenge & Sampling Schedule									
		Immunisation & Sampling				Challenge			
Group	No./Group	d -16	d 0	d 21	d 42	d 48	d 49	d 50 - d 53	d 54
						d -1	d0	d1 - d4	d5
1	[REDACTED]	TS, B	B	PBS control	B	PBS control	B		
2	[REDACTED]	TS, B	B	Adjuvant control	B	Adjuvant control	B		
3	[REDACTED]	TS, B	B	high dose Ag without adjuvant	B	high dose Ag without adjuvant	B		
4	[REDACTED]	TS, B	B	high dose Ag with adjuvant	B	high dose Ag with adjuvant	B		
5	[REDACTED]	TS, B	B	middle dose Ag without adjuvant	B	middle dose Ag without adjuvant	B		
6	[REDACTED]	TS, B	B	middle dose Ag with adjuvant	B	middle dose Ag with adjuvant	B		
7	[REDACTED]	TS, B	B	low dose Ag without adjuvant	B	low dose Ag without adjuvant	B		
8	[REDACTED]	TS, B	B	low dose Ag with adjuvant	B	low dose Ag with adjuvant	B		
HOUSING		NORMAL				ISOLATOR			
						Intratracheal challenge highly pathogenic influenza virus			
						S, W, LW			
						S			
						S, W, LT, LW, N			

Abbreviations:

\* B = whole blood; S = throat & nose swabs; LT = lung tissue after sacrifice; TS = temp sensor implantation; W = body weight; LW = lung weight; N = necropsy

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

Reeds gepubliceerde en publiekelijk beschikbare (maar ook niet publiekelijk beschikbare) studies zullen gebruikt worden om spreiding van de vooraf bepaalde primaire uitkomstparameter te bepalen en daarnaast zal bepaald worden welke vermindering van die primaire uitkomstparameter een juiste maat is voor de werkzaamheid. Deze gegevens zullen als basis dienen voor het bepalen van de benodigde groepsgrootte. Daarnaast dient de publicatie van Richardson en Overbaugh (J Virol 2005) als leidraad voor de groepsgrootte bepaling: een groepsgrootte van ■ dieren is het minimale aantal dieren per groep voor experimenten waarbij de uitleesparameter is bepaald door de uitkomst van een virale infectie.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: fretten

Fretten zijn gevoelig voor infectie met wild-type klinische relevante influenza virussen en derhalve worden fretten bijvoorbeeld ook regelmatig gebruikt voor het genereren van anti-sera voor het typeren van influenza virussen. Daarnaast zijn de klinische verschijnselen geobserveerd in fretten overeenkomstig met de klinische verschijnselen in mensen. En het testen van de effectiviteit van een vaccin kan alleen maar getest worden in een intacte gastheer met een functionerend immuunsysteem en het is in de meeste gevallen niet ethisch verantwoord om dit in mensen uit te voeren. Op basis van de zogenaamde "animal rule" kunnen in sommige gevallen de uitkomst(en) van een fretten experiment direct gebruikt worden voor registratie van humane vaccins.

Herkomst: geregistreerde fokker in de EU

Er is een jarenlange relatie met de betreffende fokker en in overleg met de aanvrager is een huisvestingsregime opgesteld dat de influenza-specifieke seronegativiteit van de dieren waarborgt. Derhalve kunnen de resultaten verkregen in de afzonderlijke dierstudies ook daadwerkelijk gebruikt worden in het registratie proces van de uit te testen preparaten.

Geschat aantal: 600 dieren

Een gemiddelde studie bestaat uit ■ groepen van ■ dieren per groep en per jaar kunnen twee van dergelijke studies uitgevoerd worden. Voor een overzicht van mogelijke groepen zie het schema hierboven bij vraag A. Zoals hierboven beschreven betreft iedere studie een maatwerk protocol en kan dit niet op voorhand uitgespeld worden. Echter de keuze van de groepen zal voorgelegd worden aan de IvD ter goedkeuring. Met een gemiddeld aantal van ■ dieren per studie en twee studies per jaar voor een periode van 5 jaar betekent dat een totaal aantal van ■ = 600 dieren.

Een groepsgrootte van ■ dieren is zowel bepaald uit reeds beschikbare data (gepubliceerde en niet-gepubliceerde studies zoals o.a. ■) en zie hieronder voor een voorbeeld van een dergelijke berekening of op basis van de publicatie van Richardson en Overbaugh (J Virol 2005) indien het een primaire uitkomst parameter betreft die nog niet eerder gemeten/beoordeeld is. Echter indien van te voren bekend is dat verschillen tussen de verschillende experimentele groepen klein is of dat vanwege regulatoire doeleinden een groter aantal dieren per groep nodig is, zal aanvullende informatie aangeleverd worden voor het rechtvaardigen van een grotere groepsgrootte en deze zal ter beoordeling ingediend worden bij de IvD.

Voorbeeld power berekening (echter deze zal voor elke studie en elke uitkomstparameter anders zijn):

De power berekening hieronder is gebaseerd op de resultaten beschreven in het artikel "■". In deze studie is de gemiddelde virustiter in de long van ■ dieren die gevaccineerd met H1N1 antigenen, maar zonder adjuvans  $\log_{10}(5,38)$  TCID<sub>50</sub>, en de gemiddelde virustiter van ■ dieren die gevaccineerd zijn met H1N1 antigenen en adjuvans  $\log_{10}(2,22)$  TCID<sub>50</sub>. De standaard deviaties zijn  $\log_{10}(2,19)$  en  $\log_{10}(1,32)$  voor respectievelijk de groep zonder en met adjuvans.

Aangenomen wordt dat het hier uit te testen adjuvans dezelfde adjuvans effect heeft als het adjuvans in de hierboven genoemde studie. Dit leidt tot de volgende powerberekening:

$$n = 2x[\{(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})\sigma\} / (\mu_1 - \mu_0)]^2$$

$$\alpha = 0,05; 1-\beta = 0.8 \text{ (power van 80\%)}$$

$$\sigma_{\text{pooled}} = 1,81 \text{ (gepoolde standaard deviatie tussen de twee groepen)}$$
$$= \text{wortel} \left( \frac{[n_1 * sd_1^2 + n_2 * sd_2^2]}{[n_1 + n_2]} \right)$$

$$= \text{wortel}([6 \cdot 2,19^2 + 6 \cdot 1,32^2] / [12])$$

$$\mu_1 - \mu_0 = 3,16 \text{ (verschil tussen de twee groepen in log units [= log10(5,38) - log10(2,22)])}$$

n wordt dan ■ dieren (■ naar boven afgerond) per groep. Uitgaande van een power van 80%, een waarde die we ook hanteren bij de studie zoals die is beschreven in deze DEC aanvraag, zijn we met deze groeps-grootte dus in staat om significante verschillen aan te tonen in virus titers in de longen van de dieren na H1N1 challenge infectie.

Levensstadium: 6-12 maanden oud bij start van het experiment

### C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

### D. 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: deze dierproef is opgezet om de effectiviteit van vaccins te bestuderen tegen infectie met influenza virus. Dergelijke studies zijn niet mogelijk zonder in vivo modellen met een intact immuunsysteem. Daarnaast zijn fretten het kleinste mogelijke proefdiermodel voor influenza studies aangezien fretten, in tegenstelling tot bijvoorbeeld muizen, wel geïnfecteerd kunnen worden met klinische relevante wild-type virussen en daarnaast lijkt de kinetiek en de klinische verschijnselen van de infectie op die van de mens.

Vermindering: Op basis van eerdere experimenten is gekomen tot een gewenste/maximale groeps-grootte van ■. De vermindering zit hier dus in het voortraject. De keuze voor influenzavirussen die gebruikt worden voor de challenge infectie is mede ingegeven door vermindering van het aantal benodigde dieren: er wordt gebruik gemaakt van influenzavirussen die waarvoor de optimale infectiedosis al is vastgesteld – er zijn dus geen dieren meer nodig om de juiste dosis vast te stellen. Daarnaast is door een goed ontwerp en statistische analyse verzekerd dat het optimale aantal dieren wordt gebruikt. Tevens zullen dieren uit een gelimiteerde genetische pool gebruikt worden, zodat zo min mogelijk verschil te verwachten is tussen de dieren. Ook zullen de dieren onder een SPF-compliant regime gehuisvest worden, waardoor we geen ongewenste secundaire infecties hebben die kunnen interfereren met de studie.

Verfijning: Invasieve handelingen zullen uitgevoerd worden onder sedatie. Er zullen zoveel mogelijk handelingen tijdens hetzelfde sedatiemoment worden uitgevoerd zoals vaccinatie, bloedafname. Wanneer de dieren gesedeerd zijn worden ze ook gewogen. Maximaal zullen er per dierstudie ongeveer 10 sedatie momenten zijn. Daarnaast zullen de dieren dagelijks geobserveerd en indien dit noodzakelijk bevonden wordt vanuit een welzijnsstandpunt gewogen worden. De hoogte van intensivering is mede bepaald door fase waarin de studie zich bevindt. Tijdens de challenge fase kunnen klinische symptomen zeer snel tot uiting komen omdat de replicatie van influenza een logaritmische curve doormaakt. Zo kan bijvoorbeeld aan het eind van de dag besloten worden om laat op de avond nog een extra controle tijdstip in te voegen vanwege dierwelzijnsstandpunt. Met andere woorden: er wordt verwacht dat de dieren het humane eindpunt al bereikt hebben bij het reguliere volgende controle moment.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

Zie hierboven bij verfijning. De kans op nadelige milieueffecten zal tot een minimum beperkt worden door het feit dat dieren gehuisvest zullen worden onder minimaal een DM2 regime (minimaal DM3 regime in het geval van hoog pathogene virussen), handelingen uitgevoerd zullen worden in een veiligheidskabinet onder

ML2 of ML3 regime en afval (bedding, kadavers en andere materialen gebruikt in de studie) aangeboden zal worden voor destructie.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

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

Bij de aanvraag (indienen van werkprotocol) van elk experiment zal met behulp van literatuur studie maar ook in overleg met de verstrekker van het betreffende vaccin steeds gekeken worden of dat betreffende experiment niet al eerder is uitgevoerd.

Tevens betreft het hier in de meeste gevallen een studie die vanuit regulatorisch oogpunt uitgevoerd dient te worden voordat het hier uit te testen vaccin in een klinische studie uitgetest kan worden.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

Ja > 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.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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 H.

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?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Dieren kunnen als gevolg van de infectie een longontsteking ontwikkelen met de daarbij behorende verschijnselen als kortademigheid en gewichtsverlies. Echter, in het algemeen hebben analgetica ook een ontstekingsremmende werking en dergelijke bijverschijnselen zijn niet verenigbaar met het uitvoeren van infectie experimenten waarbij ook het immuunsysteem deel uitmaakt van het werkingsmechanisme. Negatieve effecten als gevolg van vaccinatie is verwaarloosbaar klein aangezien het merendeel van de preparaten ook voor humaan gebruik zal zijn.

NB: bij het implanteren van de temperatuurlogger in de peritoneale holte zullen de dieren wel degelijk

pijnstilling krijgen. Dit is mede gerechtvaardigd aangezien de relatief kortdurende werking van de pijnstilling op minimaal 14 dagen voor start geen invloed heeft op het betreffende experiment.

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

### **I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen**

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Eventuele verwondingen door agressie binnen de groep.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Gebruik van dieren die niet samen gehuisvest kunnen worden.

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

De experimenten zullen hoofdzakelijk uitgevoerd worden met vrouwelijke dieren, aangezien agressie onderling minder aangemelijk is dan bij groepshuisvesting van mannelijke dieren. Echter, indien vanuit bijvoorbeeld regulatorisch oogpunt juist met mannelijke dieren gewerkt dient te worden, zullen of kleinere groepen geformeerd worden of gezocht worden naar dieren welke al langer bij elkaar gehuisvest zijn.

### **J. 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 K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Tijdens de vaccinatie fase van de betreffende dierproeven is het onwaarschijnlijk dat de dieren dusdanig ongerief zullen vertonen als gevolg van de behandeling, dat ze uit de studie genomen dienen te worden. Dit is mede gebaseerd op het feit dat de preparaten die gebruikt zullen worden als vaccin ook gebruikt zullen worden in de mens. Niet preparaat gerelateerde verschijnselen duiden tijdens de vaccinatie fase op een specifiek onderliggend leiden en de dieren zullen bij het volgende criterium geëuthanaseerd worden om te bepalen wat de oorzaak is en welke impact het heeft op het verloop van de studie:

- Gewichtsverlies: tijdens de vaccinatie fase worden de dieren wekelijks gewogen. Indien een dier in twee achtereenvolgende weken beperkt (<10%) gewichtsverlies laat zien (geclassificeerd als matig ongerief; de dieren worden ingezet op een leeftijd dat ze stabiel in lichaamsgewicht zijn), zal het dier vaker gewogen worden en apart gezet worden om voedsel en vocht opname te controleren. Dit wordt uitgevoerd door terugwegen van het voer en bestuderen van het waterniveau in de drinkfles. Indien de dieren 20% of meer gewicht verliezen t.o.v. startgewicht op dag 0 van de studie zullen ze geëuthanaseerd worden.

Tijdens de challenge fase kunnen ook infectie gerelateerde verschijnselen optreden welke leiden tot de volgende humane eindpunten welke uitgesplitst zijn per virus, te weten laag en hoog pathogeen. Bij het vertonen van een (in het geval van laag-pathogeen virus) of twee (in het geval van hoog pathogeen virus) van de volgende humane eindpunten zal het betreffende dier geëuthanaseerd worden:

#### **Laag pathogeen virus:**

- Gewichtsverlies: tijdens de challenge fase worden de dieren dagelijks gewogen. Het humane eindpunt is gedefinieerd als het betreffende dier 10% of meer gewicht verliest (geclassificeerd als matig ongerief) t.o.v. het startgewicht op de dag van challenge (hoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de challenge fase of een betreffend dier solitair gehuisvest kan worden).

NB: Respiratie: bij verergering van de ziekte zal de ademhaling veranderen van normale naar een verhoogde ademhalingsfrequentie. Omdat deze verhoogde ademhaling frequentie niet wordt beschouwd als hoger ongerief dan dat wordt veroorzaakt door herhaalde bemonstering (matig), is dit geen humaan eindpunt bij laag pathogene virussen.

**Hoog pathogeen virus:**

- Gewichtsverlies: tijdens de challenge fase worden de dieren dagelijks gewogen. Het humane eindpunt is gedefinieerd als het betreffende dier 20% of meer gewicht verliest (geclassificeerd als ernstig ongerief) t.o.v. het startgewicht op de dag van challenge (hoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de challenge fase of een betreffend dier solitair gehuisvest kan worden).
- Respiratie: bij verergering van de ziekte zal de ademhaling veranderen van een verhoogde ademhalingsfrequentie (matig ongerief) naar moeizaam ademen (ernstig ongerief) of zelfs een stokkende ademhaling (dyspnoe). De moeizame ademhaling is te zien aan het meedoen van de flanken van het dier bij het ademen. Daarnaast kan het zo zijn dat het betreffende dier niet meer bij de andere dieren (opgerold) ligt, maar juist apart gaat liggen en gestrekt om het ademen te vergemakkelijken.
- Diarree: indien in de huisvesting te zien is dat een of meerdere dieren diarree (geclassificeerd als matig) hebben, zullen alle dieren afzonderlijk beoordeeld worden om te bepalen of er aanwijzingen zijn (vuile vacht rond de anus) welke dieren daadwerkelijk diarree vertonen.

**Laag of hoog pathogeen virus:**

Bij de volgende verschijnselen zullen de dieren direct geëuthanaseerd worden (beide geclassificeerd als ernstig ongerief):

- Neurologisch: in enkele gevallen kan het virus vanuit de neus van het dier doorslaan naar de hersenen en zo een ontsteking van de hersenen induceren. De daarbij behorende verschijnselen zijn onstabiele gang en ongecontroleerde bewegingen (zoals beschreven in Bodewes et al 2015 AJP).

Lethargie: indien een dier lethargisch is (m.a.w. als het niet meer reageert op externe prikkels).

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

**Vaccinatie fase:**

Eerdere studies uitgevoerd door de aanvrager hebben laten zien dat vaccin gerelateerde bijwerkingen niet voorkomen, dus de kans op het ontstaan van ongerief als gevolg van de vaccinatie is 0%. Echter is het mogelijk dat een andere factor de veroorzaker is van matig ongerief, op basis van ervaringen in eerdere studies is dit ongerief ingeschaald op  $\leq 5\%$ .

**Challenge fase met laag-pathogeen virus:**

Klinische verschijnselen na infectie met laag pathogene (seizoens)influenzavirussen komen zeer zelden voor,  $\leq 5\%$  (het waarnemingspercentage in eigen experimenten in het verleden is 0%).

**Challenge fase met hoog-pathogeen virus:**

In het geval van hoog pathogene ("emerging", pandemische, aviaire) influenzavirussen is de kans op ernstig ongerief variabel: 0 - 100%, afhankelijk van de werkzaamheid van het uit te testen preparaat. In de negatieve controlegroepen (geen behandeling of behandeling met alleen adjuvans) kan dit percentage oplopen tot 100%. De kans dat dieren ernstig ongerief zullen ondergaan is afhankelijk van het uit te testen preparaat en zal dus per studie variëren. Echter indien al data beschikbaar zijn over de werkzaamheid van het betreffende vaccin in bijvoorbeeld andere diermodellen, kan een uitspraak gedaan worden voor de uit te voeren studie in fretten en zal dit vermeld worden in het betreffende werkprotocol van die studie.

**Challenge fase met laag of hoog pathogeen virus:**

Neurologische verschijnselen worden maar zelden geobserveerd, derhalve wordt de kans op dit ernstige ongerief ingeschaald op  $\leq 5\%$ . De kans dat dieren moribund zullen worden is afhankelijk van het uit te testen preparaat en zal dus per studie variëren. Echter indien al data beschikbaar zijn over de werkzaamheid van het betreffende vaccin in bijvoorbeeld andere diermodellen, kan een uitspraak gedaan worden voor de uit te voeren studie in fretten en zal dit vermeld worden in het betreffende werkprotocol van die studie. Zie onderstaande tabel uit Baras et al. (PloS One, 2008) waarin met vergelijkbare vaccins in identieke protocollen als die in dit voorstel beschreven is gewerkt.

Vaccination regimen	Dead/Total (% survival <sup>c</sup> )
Adjuvant alone	6/6 (0)
Unadjuvanted H5N1 (15 µg)	6/6 (0)
Adjuvanted H5N1 (1.7 µg)	1/6 (83)
Adjuvanted H5N1 (3.8 µg)	0/6 (100)
Adjuvanted H5N1 (7.5 µg)	0/5 (100)
Adjuvanted H5N1 (15 µg)	0/6 (100)

## K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Zie voor de verdeling van de verschillende fasen hierboven bij 2J

Cumulatief ongerief tijdens de vaccinatie fase: matig

Cumulatief ongerief bij gebruik van laag pathogene virussen (normaal ziektebeeld): matig

Cumulatief ongerief bij gebruik van hoog pathogene virussen (normale ziektebeeld): ernstig

Cumulatief ongerief bij gebruik van laag en hoog pathogene virussen (zeldzame ziektebeeld): ernstig

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Dieren zullen worden gedood om vervolgens onder andere de virale load in de longen te bepalen, maar ook de pathologie. Deze bepaling is niet mogelijk bij het in leven blijven van de dieren.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



# Format DEC-advies

---

*Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht*

## **A. Algemene gegevens over de procedure**

1. Aanvraagnummer: AVD905002015142
2. Titel van het project: Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.
3. Titel van de NTS: Het testen van de werkzaamheid van influenza vaccins al dan niet in combinatie met een adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.
4. Type aanvraag:
  - X nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC
  - naam DEC: ██████████
  - telefoonnummer contactpersoon: ██████████
  - mailadres contactpersoon: ██████████
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
  - X ontvangen door DEC: 10 juni 2015
  - X aanvraag compleet: 22 juli 2015
  - X in vergadering besproken: 08-07-2015, 05-08-2015 en 09-09-2015
    - anderszins behandeld
    - termijnonderbreking(en) van / tot
    - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermin met maximaal 15 werkdagen
  - X aanpassing aanvraag: 22 juli 2015 en 27 augustus 2015.
    - advies aan CCD
7. Eventueel horen van aanvrager : n.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager
  - Datum: 13 juli 2015 en 07 augustus 2015
  - Strekking van de vragen:

Vragen d.d. 13 juli 2015:

- Nadere toelichting en beschrijving m.b.t. wetenschappelijke achtergrond, referenties aan sleutelpublicaties, de maatschappelijke last van influenza virusinfecties, het belang van dit project, en de eigen ervaring/achtergrond van de instelling m.b.t. dit onderzoeksgebied.
- Toelichting m.b.t. de haalbaarheid van dit project.
- Toelichting en onderbouwing van de uitkomstparameters.
- Aanvullende beschrijving van de experimentele handelingen.
- Toelichting en onderbouwing van het ongerief in relatie tot de humane eindpunten.
- Nadere toelichting op de humane eindpunten en het percentage dieren dat naar verwachting het humane eindpunt zal halen.
- Tekstueel en redactioneel (verduidelijking en onderlinge afstemming van bepaalde tesktpassages en correcte invulling van het formulier).  
Aanpassing van de NTS conform de toelichting bij het formulier.

Vragen d.d. 07 augustus 2015:

- Nadere beschrijving van de achtergrond en positie van de instelling t.o.v. derden (opdrachtgevers).
  - Nadere informatie over de herkomst, het voortraject en de ingangscriteria voor de te testen vaccins.
  - Toelichting m.b.t. de haalbaarheid van dit project.
  - Tekstueel en redactioneel (verduidelijking en onderlinge afstemming van bepaalde tesktpassages en correcte invulling van het formulier).
- Datum antwoord: 22 juli 2015 en 27 augustus 2015
  - Strekking van de antwoorden: De vragen en opmerkingen van de DEC zijn naar tevredenheid beantwoord. Aanvraag na aanpassing compleet en duidelijk.
  - De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): n.v.t., de DEC zelf beschikt over de relevante expertise.

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)

2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Geen van de DEC-leden is betrokken bij het betreffende project of de aanvrager.

## **C. Beoordeling (inhoud):**

### **1. Het project is:**

- X uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
- X wettelijk vereist

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstellingen.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. Jaarlijks circulerende seizoensinfluenzavirussen kunnen in gezonde personen een milde infectie veroorzaken. Bij kwetsbare groepen kan ook infectie met zulke laag pathogene influenzavirussen leiden tot een ernstig ziektebeeld. Pandemische, hoog pathogene influenzavirussen kunnen ook bij gezonde personen ernstige ziekte veroorzaken. Doordat het bij pandemische virussen betrekkelijk nieuwe virusvarianten betreft, hebben mensen hiertegen nog geen bescherming op kunnen bouwen door vaccinatie of eerdere infectie. Griep пандеміеën zijn slecht voorspelbaar, maar gaan gepaard met grote gezondheids-, economische- en maatschappelijke gevolgen. Daarom wordt er constant gewerkt aan het ontwikkelen van adequate, tegen de desbetreffende influenzavirussen werkzame, en snel op grote schaal verkrijgbare vaccins. Een belangrijke stap in het ontwikkeltraject van vaccins is het testen op werkzaamheid en veiligheid. Het is van belang dat fabrikanten van vaccins deze testen kunnen laten uitvoeren op een gestandaardiseerde wijze door instellingen die beschikken over gespecialiseerde kennis, zowel wat betreft de te gebruiken modellen als wat betreft de wetenschappelijke achtergronden van influenza. De onderzoekers achter deze aanvraag beschikken in ruime mate over de vereiste expertise.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De instelling heeft een uitgebreide ervaring met het uitvoeren van dit soort testen (in opdracht van

derden) en beschikt over gespecialiseerde kennis m.b.t. de gebruikte diermodellen.

5. Er is geen sprake van de bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. De dieren worden gevaccineerd (met toepassing van verschillende vaccinatiestrategieën) en worden vervolgens geïnfecteerd met seizoensinfluenzavirussen of 'pandemische' influenzavirussen. Bij het gebruik van laag pathogene virussen ondergaan de dieren maximaal matig ongerief, als gevolg van herhaalde sedatie (ten behoeve van het uitvoeren van de experimentele handelingen) en ziekteverschijnselen als gevolg van de influenza infectie. Bij gebruik van hoog pathogene virussen wordt het ongerief voor (een deel van de dieren) ingeschat op maximaal ernstig, als gevolg van herhaalde sedatie en ziekteverschijnselen. De kans op ernstig ongerief is variabel (0 - 100%) en is afhankelijk van de werkzaamheid van het te testen preparaat. In de negatieve controlegroepen (geen behandeling of behandeling met alleen adjuvans) kan het percentage dieren met ernstig ongerief 100% zijn.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. Dit type studie is alleen mogelijk in levende dieren met een intact immuunsysteem. Fretten zijn het kleinst mogelijke diermodel dat geschikt is voor dit type influenzastudies, omdat de klinische verschijnselen na een influenza infectie bij fretten sterke overeenkomsten vertonen met die bij mensen. Die klinische verschijnselen zijn de uitleesmaat van de experimenten waarin wordt onderzocht of de vaccins daadwerkelijk bescherming bieden.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De gewenste groepsgrootte wordt bepaald aan de hand van reeds beschikbare data. Bovendien wordt voor de challenge/infectie uitsluitend gebruik gemaakt van influenza virussen waarvoor de optimale infectiedosis reeds is vastgesteld. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Op basis van literatuurstudie en de door opdrachtgever verstrekte informatie wordt bekeken of het betreffende

experiment niet al eerder is uitgevoerd.

- 9.** Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Invasieve handelingen worden uitgevoerd onder sedatie en het aantal malen sedatie wordt zoveel mogelijk beperkt. Voldoende is onderbouwd dat voor de beantwoording van de vraagstelling van dit project niet kan worden afgezien van challengestudies. De dieren worden (afhankelijk van de fase waarin de studie zich bevindt) dagelijks danwel vaker (intensiever) geobserveerd. Dieren die het humane eindpunt bereiken worden zo spoedig mogelijk geëuthanaseerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
- 10.** De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

## **D. Ethische afweging**

Op basis van de overwegingen onder bovenstaand punt C (1 t/m 9) komt de commissie tot de volgende ethische afweging.

Influenza epidemieën brengen een hoge ziektelast en veel maatschappelijke kosten met zich mee. Influenza pandemieën vormen een grote bedreiging voor de volksgezondheid en kunnen de samenleving ontwrichten. Daarom is het van belang constant te werken aan het ontwikkelen van adequate vaccins die snel op grote schaal beschikbaar kunnen worden gemaakt. Het is noodzakelijk om (kandidaat) vaccins tijdens het ontwikkeltraject te testen op werkzaamheid en veiligheid. Het is van belang dat deze testen op een gestandaardiseerde wijze worden uitgevoerd door instellingen die beschikken over gespecialiseerde kennis, zowel wat betreft de te gebruiken modellen als wat betreft de wetenschappelijke achtergronden van influenza. De onderzoekers achter deze aanvraag beschikken in ruime mate over die expertise. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling. Naar het oordeel van de DEC dient het project dan ook een zeer substantieel belang, omdat het bijdraagt aan de inspanning om griepepidemieën en -pandemieën te beperken of te voorkomen.

Tegenover dit substantiële belang staat het feit dat de dieren in deze experimenten matig, maar in sommige gevallen ook ernstig ongerief zullen ondervinden. De commissie is er van overtuigd dat bij de dierproeven adequaat invulling gegeven zal worden aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Het gebruik van de dieren en het daarbij optredende ongerief is naar het oordeel van de commissie onvermijdelijk als men de doeleinden wil kunnen realiseren. De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van de dieren.

De DEC is van oordeel dat het hierboven geschetste belang de onvermijdelijke gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst, pijn of stress, rechtvaardigt. Aan de eis dat het belang van de experimenten op dient te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, is voldaan.

## **E. Advies**

### **1. Advies aan de CCD**

X De DEC adviseert de vergunning te verlenen

### **2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.**

6.



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

██████████

Nistelrooise Baan 3

5374 RE SCHAIJK



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**

Aanvraagnummer

AVD905002015142

**Bijlagen**

2

Datum 28 september 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte ██████████

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 25 september 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD905002015142. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

### **Wacht met de uitvoering van uw project**

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

### **Factuur**

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw aanvraag buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

### **Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 90500  
Naam instelling of organisatie: BioXpert BV  
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]  
KvK-nummer: 54838134  
Straat en huisnummer: Nistelrooise Baan 3  
Postcode en plaats: 5374 RE SCHAIJK  
IBAN: NL72RABO0183605888  
Tenaamstelling van het rekeningnummer: BioXpert BV

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Afdeling: Viroclinics Biosciences B.V.  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Afdeling: Viroclinics Biosciences B.V.  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Afdeling: Scientific support  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?  Nieuwe aanvraag  
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 september 2015  
Geplande einddatum: 31 augustus 2020  
Titel project: Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.  
Titel niet-technische samenvatting: Het testen van de werkzaamheid van influenza vaccins al dan in combinatie met een adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.  
Naam DEC: [REDACTED]  
Postadres DEC: [REDACTED]  
E-mailadres DEC: [REDACTED]

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 741,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel
- Beschrijving Dierproeven
- Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- DEC-advies

**Ondertekening**

Naam:



Functie:

vergunninghouder

Plaats:

Schaijk

Datum:

10 juni 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

Nistelrooise Baan 3

5374 RE SCHAIJK



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD905002015142

**Bijlagen**

2

Datum 28 september 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 28 september 2015

Vervaldatum: 28 oktober 2015

Factuurnummer: 15700142

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD905002015142	€ 741,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

██████████  
Nistelrooise Baan 3  
5374 RE SCHAIJK  
|||||

**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
www.centralecommissiedierproeven.nl  
T 0900-28 000 28 (10 ct /min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD905002015142

Datum 21 oktober 2015  
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

**Bijlagen**  
1

Geachte ██████████

Op 25 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten" met aanvraagnummer AVD905002015142. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

### **Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

### **Niet technische samenvatting**

De Niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat enkele tikfouten, zoals 'contant' in plaats van 'constant' en 'accin' in plaats van 'vaccin'. U kunt binnen veertien dagen een nieuwe Niet technische samenvatting sturen. Indien uw aanvraag wordt toegewezen zal de nieuwe Niet technische samenvatting op onze website geplaatst worden, of de bij uw aanvraag ingestuurde versie indien u geen nieuwe Niet technische samenvatting stuurt.

U kunt de Niet technische samenvatting aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

### **Leges**

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

### **Wanneer een beslissing**

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

**Datum**

21 oktober 2015

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD905002015142

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

██████████  
Nistelrooise Baan 3  
5374 RE SCHAIJK  
██████████

**Centrale Commissie  
Dierproeven**  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD905002015142

02 NOV 2015

Datum  
Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte ██████████,

Op 25 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten." met aanvraagnummer AVD905002015142. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten." starten. De vergunning wordt afgegeven van 2 november 2015 tot en met 31 augustus 2020. Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### **Beoordeling achteraf**

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

#### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie ██████████ gevoegd. Dit advies is opgesteld op 9 september 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.  
Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de

Dierexperimentencommissie. De CCD stelt wel algemene voorwaarden aan dit project. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

#### **Bezwaar**

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op


<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

#### **Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



Ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
  - DEC-advies
  - Weergave wet- en regelgeving



## Projectvergunning

### gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: BioXpert BV  
Adres: Nistelrooise Baan 3  
Postcode en plaats: 5374 RE SCHAIJK  
Deelnemersnummer: 90500

deze projectvergunning voor het tijdvak 2 november 2015 tot en met 31 augustus 2020, voor het project "Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten." met aanvraagnummer AVD905002015142, volgens advies van Dierexperimentencommissie [REDACTED]

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED] Voor de uitvoering van het project is Voorzitter IvD verantwoordelijk.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 25 september 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 25 september 2015;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 21 oktober 2015;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 9 september 2015, ontvangen op 25 september 2015.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten.	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> ) /	600	Ernstig / severe	Vaccinatiefase en laag-pathogeen: matig; hoog pathogeen en zeldzaam ziektebeeld: ernstig

### Voorwaarden

#### Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat eventuele go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In het kader van de humane eindpunten wordt meerdere malen per dag gecontroleerd, in afstemming met de IvD. Dit om te zorgen voor tijdige interventie.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

In alle dierproeven worden mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen gebruikt, tenzij vanuit regulatorisch oogpunt anders wordt geëist. Zo doende wordt voorkomen dat surplusdieren in voorraad moeten worden gedood.

De aanvrager mag de uitkomsten van de eerste onderzoeken waarbij beide geslachten gebruikt worden rapporteren aan de CCD. De uitkomst van deze eerste onderzoeken kan voor de CCD aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten, bij deze projectvergunning te wijzigen of in te trekken.

# Weergave wet- en regelgeving

## **Dit project en wijzigingen**

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

## **Verzorging**

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

## **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

#### **Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand..

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13c is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

#### **Beoordeling achteraf**

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden. In dit project worden dierproeven toegepast waarbij die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het

project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van lijden van de proefdieren conform de vergunning waren.