

Inventaris Wob-verzoek W17-05										
			wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document NTS nr 2015149	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	x				
3	Project proposal				x	x		x		
4	Bijlage beschrijving dierproeven1				x	x		x		
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x	x		x		
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3				x	x		x		
7	DEC advies				x		x	x		
8	Ontvangstbevestiging				x		x	x		
9	Verzoek aanvullende informatie				x		x	x		
10	Antwoord op verzoek om aanvullende informatie				x		x	x		
11	Bijlage dierproeven 1 aangepast				x	x		x		
12	NTS aangepast	x								
13	adviesnota CCD		x							x
14	Beschikking				x	x	x	x		



22 SEP. 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 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? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 90500 / 149																
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>BioXpert B.V.</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td>[REDACTED]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>54838134</td></tr><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Nistelrooise Baan 3</td></tr><tr><td>Postbus</td><td></td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>5374RE Schaljk</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL72RABO0183605888</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>BioXpert BV</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	BioXpert B.V.	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]	KvK-nummer	54838134	Straat en huisnummer	Nistelrooise Baan 3	Postbus		Postcode en plaats	5374RE Schaljk	IBAN	NL72RABO0183605888	Tenaamstelling van het rekeningnummer	BioXpert BV
Naam instelling of organisatie	BioXpert B.V.																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]																	
KvK-nummer	54838134																	
Straat en huisnummer	Nistelrooise Baan 3																	
Postbus																		
Postcode en plaats	5374RE Schaljk																	
IBAN	NL72RABO0183605888																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	BioXpert BV																	
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>																	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>Viroclinics Biosciences B.V.</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr></table>	(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]		
(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	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[REDACTED]</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>Viroclinics Biosciences B.V.</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[REDACTED]</td><td></td></tr></table>	(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]		
(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 | 1 - 9 - 2020 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Onderzoek naar infectie met griepvirussen 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 gehuisvest 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	20 - 9 - 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
www.bioxpert.nl

Aan: Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Datum: 21 september 2015

Betreft: Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD905002015149

Geachte heer / mevrouw,

Bijgaand de getekende aanvraag Projectvergunning Dierproeven AVD905002015149 met als titel:

Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten.

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

Met vriendelijke groet,





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

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Onderzoek naar infectie met griepvirussen in fretten.
1.2 Looptijd van het project	5 jaar
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	griep, fretten, infectie, seizoensgriep, pandemie

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek
	<input 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>Griepvirussen veroorzaken een grote ziektelast in de mens. Ieder jaar circuleren er in het winterseizoen de influenzavirussen waartegen een groot gedeelte van de bevolking gevaccineerd wordt. Helaas moet deze vaccinatie bijna elk jaar aangepast worden, omdat het virus manieren heeft om bescherming door vaccinatie te omzeilen. Een gedeelte van het voorgestelde project doet onderzoek naar dit fenomeen door te bepalen of circulerende virussen nog voldoende overeenkomen met die gebruikt voor vaccinproductie. Zo niet, dan moet het vaccin aangepast moeten worden. De ontwikkeling van nieuwe vaccins is er onder andere op gericht om deze jaarlijkse afstemming onnodig te maken.</p> <p>Daarnaast is er ook de constante dreiging van een wereldwijde griep pandemie door introductie van nieuwe influenzavarianten vanuit bv. wilde vogels. In dat geval heeft de hele bevolking de kans om geïnfecteerd te raken, aangezien tegen dit soort virussen nog geen afweer in de populatie aanwezig is. Hiertoe is het noodzakelijk dat specifieke vaccins en/of</p>
---	---

medicijnen snel ontwikkeld én getest kunnen worden. Voor het testen van deze middelen moet voor elk uit te testen virus vooraf bepaald worden met welke dosis dieren geïnfecteerd moeten worden om te waarborgen dat de resultaten in het diermodel bruikbaar zijn voor extrapolatie naar de mens.

- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Resultaten verkregen in deze studies dragen bij aan de kennis die nodig is voor het jaarlijks aanpassen van de seizoensvaccins tegen griep. Daarnaast zullen de resultaten gebruikt worden om te bepalen met welke dosis van een bepaald griepvirus (nieuw of bestaand) fretten geïnfecteerd moeten worden om onderzoek te doen naar nieuwe vaccinatie of behandelingsmethoden.
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?
- 445 fretten
- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?
- Door infectie met griepvirus kunnen de dieren in meer of mindere mate last krijgen van een longontsteking. In het algemeen zullen de klinische verschijnselen van seizoensgriep minder ongemak (matig) veroorzaken dan die van "pandemische" griep (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?
- Aan het eind van de looptijd zullen de dieren gedood worden om:
1. in het bloed de antistoffen te kunnen meten die tegen het griepvirus opgewerkt zijn.
 2. in weefsels te kunnen kijken of de infectie met het griepvirus aan te tonen is en of deze infectie daar ook schade heeft veroorzaakt.

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.
- Materialen en resultaten verkregen in deze studies kunnen niet gegeneerd worden met proefdiervrije methoden. Daarnaast komen fretten omdat ze geïnfecteerd kunnen worden met klinisch relevante virussen, in aanmerking voor de zogenaamde "animal rule", d.w.z. indien het ethisch niet verantwoord is om iets uit te testen in mensen, resultaten verkregen uit fretten gebruikt kunnen worden voor het vrijgeven van een vaccin of medicijn.
- 4.2 **Vermindering**
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.
- Resultaten uit het verleden hebben uitgewezen dat de hier voorgestelde experimenten met een zeer beperkt aantal dieren uitgevoerd kunnen worden (■■■■■ dieren per groep).

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 bevattelijk voor dezelfde griepvirussen als de mens, i.t.t. bijvoorbeeld muizen. Daarnaast lijkt het ziektebeeld in fretten op dat van de mens waardoor ze in aanmerking komen voor de "animal rule" (zie hierboven bij 4.1).

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

Fretten zijn bevattelijk voor dezelfde griepvirussen als de mens, i.t.t. bijvoorbeeld muizen. Daarnaast lijkt het ziektebeeld in fretten op dat van de mens waardoor ze in aanmerking komen voor de "animal rule" (zie hierboven bij 4.1).

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



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.
- 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 modellen worden door de aanvrager opgezet en kunnen vervolgens gebruikt worden om preparaten verschaft door derden (in het algemeen farmaceutische bedrijven) uit te testen. Deze bedrijven maken gebruik van de expertise bij de aanvrager voor het bepalen van het relevante in vivo model (m.b.t. virus dosis en route) om het preparaat uit te testen.

De antigeniciteit van influenza virussen verandert in de tijd significant, een proces beter bekend als antigene drift (Smith, Science, 2004)). Als gevolg hiervan dient het jaarlijkse influenza vaccin regelmatig aangepast te worden om bescherming te kunnen blijven bieden tijdens de elk jaar terugkerende epidemie in de wintermaanden op het noordelijk halfrond als gevolg van deze zogenoemde seizoensvirussen (WHO Avian Influenza Fact Sheet, 2014).

Daarnaast is er een constante dreiging van het uitbreken van een humane influenza pandemie, beter bekend als antigene shift (introdactie van een voor de mens nieuw influenzavirus). Deze pandemieën worden veroorzaakt door influenza virussen die tot dan toe nog niet voorgekomen zijn in de humane populatie en waartegen geen bestaande (of zeer beperkte) immunologische respons bestaat. Als gevolg daarvan ondervinden personen geïnfecteerd met dergelijke pandemische virussen een meer ernstig ziektebeeld resulterend in een hoge mortaliteit. Voor virussen behorend tot beide groepen (seizoens en pandemische virussen) is constant onderzoek nodig om de humane populatie voldoende bescherming te kunnen bieden tegen deze virussen (WHO 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 van circulerende influenzavirussen (de zogenaamde genetische drift en -shift) in de gaten en adviseert jaarlijks wat de samenstelling van de seizoensinflenzavaccins 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.

Naast het voorkomen van morbiditeit en mortaliteit, heeft de jaarlijkse vaccinatie campagne ook een economisch karakter, aangezien de ziektelast door influenza infecties een hoge belasting kan vormen van de economie (WHO Influenza Fact Sheet, 2014).

In een preklinische setting kan verder onderzoek aan antigene drift en -shift plaatsvinden. Hiertoe wordt in het huidige projectvoorstel onderzocht of antisera geproduceerd in fretten tegen huidige, bekende virussen nog kruisreageren met nieuw circulerende virussen.

Daarnaast spelen dit soort influenza-specifieke antisera ook een cruciale rol in de kwaliteitscontrole van meerdere in vitro serologische assays zoals neutralisatietesten, haemagglutinatietesten, ELISA en Virospot testen. Al deze testen zijn gericht op het aantonen van al dan niet functionele antilichamen specifiek voor influenza in zowel humane als preklinische monsters. De in dit project verkregen antiserum preparaten zullen meegenomen worden als positieve controle tijdens de uitvoering van dergelijke assays. De resultaten zullen vergeleken worden met eerder gegenereerde resultaten om na te gaan of een bepaalde assay goed is uitgevoerd (trending). Maar ook zullen panels van deze antisera gebruikt worden om uitgestuurd te worden naar andere (samenwerkende) laboratoria voor ringtesten (zgn. interlaboratorium kwaliteitsevaluatie).

Tevens zijn vaccin producenten, zowel de big pharma als ook veel kleine bedrijven, bezig met de ontwikkeling van vaccins die nieuwe vaccinatiestrategieën mogelijk maken, zoals vaccins die een bredere herkenning van verschillende influenza virusvarianten induceren waardoor mogelijk jaarlijkse vaccinatie niet meer nodig is (zgn. universele vaccins, zie Jang & Seong, *Viruses*, 2014); of vaccins die beter werken in naïeve individuen (levend geattenuerde of geadjuveerde vaccins, zie Prutsky, *Pediatr Infect Dis J.*, 2014; Del Giudice & Rappuoli, *Curr Top Microbiol Immunol.*, 2015). Het is aangetoond dat individuen die reeds een immunologische respons hebben tegen influenza, dan wel door vaccinatie dan wel door infectie, een betere immuunrespons geven bij de huidige jaarlijkse vaccinatie (Smith, *PNAS*, 1999). Individuen die nog geen immunologische respons tegen influenza hebben, reageren onvoldoende op de huidige vaccinatie strategie en zijn gebaat bij vaccins die meer immunogeen zijn dan de huidige seizoensvaccins. Daarnaast is er een verschuiving te zien bij de big pharma met betrekking tot de seizoensvaccins. Tot op heden werden vaccins voornamelijk geproduceerd op bebroede kippeneieren, maar in verband met opschaling van de productie (ook in het kader van bijvoorbeeld een snel om zich heen grijpende influenza pandemie) is er een trend naar productie in celkweek. Daarnaast geeft de Wereldgezondheidsorganisatie sinds 2012 naast de samenstelling van het traditionele trivalente seizoensvaccin ook een aanbeveling af voor een uitgebreider, quadrivalent seizoensvaccin (WHO Recommended Composition of influenza virus vaccines).

Dit soort nieuwe vaccinatiestrategieën dienen uitgetest te worden in een relevant diermodel om efficacy aan te tonen. Echter de optimale challenge dosis en challenge route voor deze experimenten dienen vooraf bepaald te worden. Dit laatste is ook het geval bij onderzoek naar vaccinatiestrategieën tegen pandemische virussen. Resultaten verkregen uit dit soort dose-finding studies (in het bijzonder virussen die nieuw geïntroduceerd worden in de humane populatie) zullen zowel beschreven worden in peer-reviewed tijdschriften (o.a. Munster, *Science*, 2009 (pandemisch H1N1); Kreijtz, *Vaccine*, 2013 (H7N9)) en zullen gebruikt worden om een geschikte dosis te selecteren voor het uittesten van antivirale interventie strategieën in fretten. Naast deze dose-finding experimenten komt het ook voor dat een uit te testen virus al eerder uitgetest is in het fretten model. In dat geval zal een dose-confirmation studie uitgevoerd worden. Een dergelijke studie wordt ondernomen indien het voorgaande experiment al langer geleden is uitgevoerd of bijvoorbeeld omdat het uit te testen virus opnieuw is opgegroeid.

De gevonden challenge dosis en route voor zowel seizoens- als pandemische virussen zal ook gebruikt worden om toe te passen in studies waarin onderzoek wordt gedaan naar nieuwe profylactische of therapeutische interventiestrategieën.

De beschreven studies borduren voort op vergelijkbare studies die onze groep eerder heeft uitgevoerd. De verkregen informatie over virus dosis en challenge route werd gebruikt in studies, al dan niet in samenwerking met derden, waarin profylactische en therapeutische interventiestrategieën zijn getest op effectiviteit (

_____)).

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?

De doelstellingen van de afzonderlijke deelprojecten zijn:

1. Bestuderen van de immunologische respons opgewekt tegen een bepaald influenza virus en de kruisreactie van deze immunologische respons tegen afwijkende influenza virussen

Hiertoe worden specifieke antistoffen opgewekt in fretten door infectie met influenzavirussen (primaire uitleesparameter: seroconversie).

De verkregen antisera zullen gebruikt worden voor verschillende doeleinden, namelijk bepalen of antisera geproduceerd in fretten tegen huidige, bekende virussen nog kruis reageren met nieuw circulerende virussen met als doel de noodzaak om het huidige influenza vaccin aan te passen. Daarnaast zullen de antisera gebruikt worden als positieve en trending controle in relevante assay en als materialen om ringtesten uit te voeren.

2. Dose-finding van een nieuw uit te testen influenza virus ten behoeve van gebruik in interventie studies

Hiertoe worden fretten met (nieuwe) influenzavirussen geïnfecteerd (primaire uitleesparameter: virale replicatie). De in deze experimenten gevonden optimale challenge dosis en route zal gebruikt worden in toekomstige profylactische en therapeutische interventie studies tegen nog niet eerder uitgeteste influenza stammen.

3. Dose-confirmation van een reeds uitgetest influenza virus ten behoeve van gebruik in interventie studies.

Hiertoe worden fretten met nieuwe preparaten van reeds uitgeteste influenzavirussen geïnfecteerd (primaire uitleesparameter: virale replicatie). De bevestigde challenge dosis en route gevonden in deze experimenten zal gebruikt worden in toekomstige profylactische en therapeutische interventie studies tegen influenza stammen welke al eerder uitgetest zijn in andere experimenten. Deze dose-confirmation experimenten zullen alleen uitgevoerd worden indien al data beschikbaar zijn van het betreffende virus (met identieke achtergrond van bijvoorbeeld passage geschiedenis) in het betreffende model.

Dit soort studies worden door de aanvrager uitgevoerd om te kunnen voldoen aan de vraag van derden om antivirale interventie strategieën uit te testen en om advies uit te brengen richting regelgevende instanties (o.a. de Wereldgezondheidsorganisatie) over de status van het huidige seizoensvaccin. Vanwege de hoge expertise van de aanvrager op het gebied van influenza en haar relevante in vivo modellen hebben dergelijke studies ook geleid tot publicatie in peer-reviewed tijdschriften. Deze expertise leidt tot een toename van de kwaliteit van het te gebruiken model en het ontwikkeltraject van de betreffende interventie strategie. Daarnaast zullen de materialen verkregen bij doelstelling 1 gebruikt worden bepaalde ringtesten te initiëren. Voor een bepaald aantal assays welke uitgevoerd worden bij de aanvrager is standaardisatie moeilijk vanwege het karakter van de assay: gecompliceerd in uitvoer, aflezen en analyse. Derhalve zijn er geen commerciële reagentia beschikbaar voor het uitvoeren van deze ringtesten en neemt de aanvrager hierin het voortouw.

3.3 Belang

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

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 met name 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 (mogelijk) pandemische virus 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 landbouw 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 seizoensinflenzavaccins zou moeten zijn voor zowel het noordelijke als het zuidelijke halfrond. Dit netwerk bestaat op dit moment uit ruim 100 nationale influenza centra en vier samenwerkende centra voor referentie en onderzoek waarvoor [REDACTED] veel contract onderzoek doet. Dit netwerk karakteriseert routinematig de antigene eigenschappen van influenza virus waarvoor de antistoffen verkregen in dierproef 1 onontbeerlijk zijn.

Voor zowel vaccinproductie tegen laag pathogene circulerende virussen als voor mogelijk pandemische influenzavirussen, is het van belang om de effectiviteit van het vaccin te testen in een challenge model. Hiervoor dient de optimale infectiedosis van de te gebruiken influenzavirussen bepaald te worden. Voor nieuwe influenzavirussen wordt dit bepaald in dierproef 2, voor een bevestiging van de optimale dosering van nieuwe preparaten van reeds bekende virussen dient dierproef 3.

De resultaten verkregen in de dierproeven beschreven in dit dierproef 2 en 3 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.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

In de studies beschreven in deze proefopzet zullen fretten geïnfecteerd worden met influenza virus ten behoeve van:

1. Ontwikkelen van een antistofpreparaten tegen influenzavirussen.
2. Karakterisatie van nog niet eerder uitgeteste influenzavirussen middels dose-finding studies.
3. Karakterisatie van reeds eerder uitgeteste influenzavirussen middels dose-confirmation studies.

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

1. Ontwikkelen van een antistof respons na infectie met influenza virus

Na een acclimatisatieperiode zal van de dieren onder ketamine sedatie bloed afgenomen worden (pre-monster), waarna de dieren onder ketamine-medetomidine gewogen en geïnfecteerd worden via de intranasale en/of intratracheale route. De werking van medetomidine wordt geantagoneerd met antisedan. Twee weken na de infectie zullen de dieren gewogen en geëuthanaseerd worden onder ketamine-medetomidine sedatie door middel van verbloeden.

NB: eventueel kan besloten worden, indien de replicatie kinetiek van het te gebruiken virus nog onbekend is en benodigd is voor toekomstige efficacy studies, om tijdens de eerste dagen van de infectie fase ook de dieren te bemonsteren uit de luchtwegen (neus en keel). Dit zal per virus bekeken worden en gecommuniceerd worden met de IvD wat het belang en de noodzaak zijn van deze extra bemonstering voor het betreffende virus.

2. Dose-finding van een nog niet uitgetest influenza virus

Na een acclimatisatieperiode zullen alle dieren intraperitoneaal voorzien worden van een data logger onder ketamine-medetomidine sedatie. De werking van medetomidine wordt geantagoneerd met antisedan. Na minimaal twee weken zal van de dieren onder ketamine sedatie bloed en keel en neus monsters afgenomen worden (pre-monster), waarna de dieren onder ketamine-medetomidine geïnfecteerd worden gewogen en via de intranasale en/of intratracheale route. De werking van medetomidine wordt geantagoneerd met antisedan. Dagelijks na infectie zullen de dieren bemonsterd

worden (bloed, neus en keel) onder ketamine sedatie tot en met het moment van euthanasie. Op een bepaald moment na infectie (dag 4, 5 of 7) zullen dieren gewogen en geëuthanaseerd worden onder ketamine-medetomidine sedatie door middel van verbloeden.

3. Dose-confirmation van een reeds uitgetest influenza virus

Hoofdpijnen zijn vergelijkbaar met 2. "Dose-finding", echter worden de dieren hier met een vooraf bepaalde dosis geïnfecteerd zoals gevonden in eerdere studies.

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.

Om goed voorbereid te zijn en te blijven op de epidemische en pandemische dreiging van circulerende en nieuw geïntroduceerde influenzavirussen is het up to date houden van een aantal cruciale reagentia en virusstammen en tevens het onderzoeken van hun eigenschappen van groot belang. Hiertoe dienen de experimenten beschreven in het huidige project.

Voor een (nieuw) influenzavirus waarvoor specifieke antisera niet beschikbaar zijn dient dierproef 1. Hierin worden fretten met het betreffende influenzavirus geïnfecteerd voor het opwekken van een specifiek antiserum dat vervolgens gebruikt kan worden ter verdere karakterisatie van het virus en de bijbehorende immuunrespons. Ook wordt dit serum verspreid over samenwerkende laboratoria om zo wereldwijd bij te dragen aan de zgn. preparedness, de paraatheid tegen de dreiging van influenzavirussen.

Daarnaast is voor het uittesten van potentiële antivirale interventiestrategieën tegen circulerende en nieuw geïntroduceerde influenzavirussen (zoals vaccins, maar ook antivirale middelen, antistofpreparaten, etc.) de optimale infectiedosis van een influenzavirus een belangrijke parameter die bepaald dient te worden, dit gebeurt in dierproef 2.

Indien voor nieuwe batches van bekende influenzavirussen de juiste infectiedosis bevestigd dient te worden, wordt gebruik gemaakt van dierproef 3.

Gezamenlijk wordt met dierproeven 1, 2 en 3 alle benodigde informatie voor het uittesten van de werkzaamheid van antivirale interventiestrategieën tegen (nieuwe) influenzavirussen gegenereerd waardoor de paraatheid ondersteund wordt die vereist is om snel en accuraat te kunnen (blijven) reageren op epidemische en pandemische dreiging ten gevolge van circulerende en nieuw geïntroduceerde influenzavirussen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Antiserum productie na infectie met influenza virus
2	Dose-finding van een nog niet uitgetest influenza virus
3	Dose-confirmation van een reeds uitgetest influenza virus
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



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.
- 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.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Antiserum productie na infectie met influenza virus</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Antiserum productie na infectie met influenza virus
Volgnummer	Type dierproef					
1	Antiserum productie na infectie met influenza virus					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Voor de productie van antiserum zullen de dieren geïnfecteerd worden via de intranasale en/of intratracheale route. Primaire uitkomstparameter zal seroconversie zijn na infectie. Resultaten uit het verleden hebben aangetoond dat in slechts een enkel geval infectie niet aanslaat en niet zal leiden tot seroconversie.

NB: indien het een nieuw virus betreft waarvan nog geen informatie voorhanden is over de replicatie kinetiek in de luchtwegen kan besloten worden om met een weinig invasieve werkwijze de luchtwegen (neus en keel) te bemonsteren ten behoeve van virologische analyse. Deze bemonstering heeft geen invloed op het ontwikkelen van de immuunrespons tegen het virus en dus ook niet op de seroconversie.

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.

Na een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zullen de dieren onder ketamine-medetomidine sedatie gewogen en geïnfecteerd worden met influenza virus via de intranasale en/of intratracheale route in een volume van respectievelijk 0.3ml en 3ml. De keuze van de route zal afhangen van het te gebruiken virus en indien bekend van de receptor beschikbaarheid van dit virus in de luchtwegen (bovenste en onderste). Zoals beschreven door van Riel et al (AJP 2007) infecteren seizoens virussen voornamelijk de bovenste luchtwegen en in mindere mate de onderste luchtwegen. Pandemische virussen infecteren juist vooral de onderste luchtwegen en laten geen replicatie zien in de bovenste luchtwegen. Op basis van het klinisch beeld van de patiënt waar het isolaat uit afkomstig is kan bepaald worden of men te maken heeft met de eerste of de tweede.

Twee weken na de infectie zullen de dieren gewogen en geëuthanaseerd worden onder ketamine-medetomidine sedatie door middel van verbloeden via hartpunctie. Deze periode tussen infectie en verbloeden is dusdanig gekozen dat het antiserum nog een hoge specificiteit heeft tegen het virus waarmee

geïnfecteerd is. Indien voor een later tijdstip gekozen wordt bevat het antiserum een meer bredere specificiteit waardoor bijvoorbeeld typering van virussen op basis van antiserum niet meer mogelijk is. Eerdere bemonstering is niet van toepassing aangezien de hoogte van de immuunrespons dan nog te laag is om te gebruiken in de voorgestelde testen.

NB: indien in het uitgevoerde experiment ook de replicatie kinetiek bestudeerd gaat worden, zullen de dieren op dag van infectie (pre-monster) en dagelijks (t/m dag 7) na infectie bemonsterd worden uit de luchtwegen (keel en neus) onder ketamine sedatie. Deze eerste resultaten kunnen gebruikt worden om een eventuele dose-finding (zie dierproef 2) te verfijnen. De keuze om deze bemonstering te beëindigen op dag 7 na infectie is vanwege het feit dat eerder (gepubliceerd) onderzoek heeft aangetoond dat de piek van de virale replicatie binnen deze eerste 7 dagen zal plaatsvinden.

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

In principe zullen per virus [REDACTED] dieren geïnfecteerd worden om het antiserum op te wekken. De jarenlange ervaring van het Nederlands Influenza Centrum (NIC) welke ondergebracht is bij de afdeling Viroscience van het Erasmus MC, heeft geleerd dat de opbrengst van [REDACTED] dieren per isolaat voldoende is voor het uitvoeren van de gewenste testen. Maatstaf zal hier zijn dat het bloedvolume ongeveer 7-8% van het lichaamsgewicht is en dat bij opwerken ongeveer 40% van het bloedvolume uit serum zal bestaan. Voor een mannelijke fret van 800 gram zal dit dus een serum volume van 20-25ml zijn.

B. De dieren

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

Diersoort: fretten (mannelijk) van 6-18 maanden.

De fret is zeer gevoelig voor infectie met wild-type (niet laboratorium-geadapteerde en klinisch relevante) influenza virussen. Daarom worden fretten al jaren gebruikt voor het maken van influenza-specifiek antiserum. Vanwege het hogere lichaamsgewicht en dus ook bloedvolume wordt altijd gebruik gemaakt van mannelijke fretten.

Herkomst: geregistreerde leverancier 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.

Geschatte aantal: [REDACTED] dieren in 5 jaar

Er wordt verwacht om per jaar voor 10 verschillende influenza virussen antiserum op te wekken. Per jaar circuleren er 4 verschillende influenza virussen (1x H1N1, 1x H3N2 en 2xB) en de verwachting is om per jaar voor minimaal elk virus antiserum op te wekken tegen een drift variant (mogelijk afwijkende virus variant). Daarnaast ligt het in de verwachting om per jaar ook antiserum op te wekken tegen 2 "emerging influenza viruses".

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: de dierproeven die vallen onder dit project zijn opgezet ter productie van antiserum tegen influenza virus. Dit is in vitro niet na te bootsen. Aangezien fretten te infecteren zijn met wild-type virussen in tegenstelling tot muizen die over het algemeen alleen te infecteren zijn met muis-geadapteerde influenza virussen, is dit het kleinst mogelijke en meest relevante model om antiserum te produceren.

Vermindering: de benodigde hoeveelheid antiserum is leidend in deze experimenten. Er wordt altijd gebruik gemaakt van mannelijke fretten, omdat mannelijke fretten een hoger lichaamsgewicht hebben en dus een groter bloedvolume.

Verfijning: Meest invasieve behandelingen zullen uitgevoerd worden onder anesthesie en dieren worden dagelijks geobserveerd. Indien de klinische symptomen daartoe aanleiding geven zullen de dieren frequenter geobserveerd worden en daarnaast zullen ze indien dit nodig is vanuit welzijnsstandpunt ook vaker 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 om te voorkomen dat een humaan eindpunt bereikt wordt voor het volgende controle moment.

Tevens kan besloten worden, indien het een nieuw virus betreft waarvan nog geen informatie voorhanden is over de replicatie kinetiek in de luchtwegen, om met een weinig invasieve werkwijze de luchtwegen (neus en keel) te bemonsteren ten behoeve van virologische analyse tijdens de eerste fase van de infectie. Deze bemonstering heeft geen invloed op het ontwikkelen van de immunrespons tegen het virus en dus ook niet op de seroconversie. Met deze eerste resultaten kunnen vervolgens dose-finding experimenten beter geoptimaliseerd worden wat betreft bijvoorbeeld challenge condities of opvolgtijd na infectie wat kan leiden tot verfijning en vermindering in vervolg experimenten.

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 de dieren gehuisvest zullen worden na infectie onder klasse II of klasse III inperking. Afval (bedding, kadavers en andere gebruikte materialen) zal aangeboden 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.

n.v.t.

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.

In het algemeen hebben analgetica een ontstekingsremmende werking en dergelijke bijverschijnselen zijn niet verenigbaar met een dierproef waarin het opwekken van een ontsteking (bijvoorbeeld een immuunrespons t.g.v. een infectie) een belangrijke rol speelt (in dit geval de productie van antilichamen).

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?

Agressie binnen de groep

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Verandering van leefomgeving (bv verhuizing van standaard groepshuisvesting naar klasse III inperking) of gebruik van dieren die niet eerder samen gehuisvest waren.

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

Er zal kooiverrijking aangeboden worden welke geen gevaar oplevert voor de medewerkers indien dieren onder klasse III inperking gehuisvest worden. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan schuilmogelijkheden welke het uitvangen van de dieren bemoeilijken met bijt-accidenten als gevolg. Daarnaast is de leverancier van fretten dusdanig uitgekozen dat agressie niet of nauwelijks een rol speelt in deze dieren.

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.

Infecties met influenza virus kunnen leiden tot ernstige ziekte gekenmerkt door: respiratoire problemen, neurologische verschijnselen, diarree, dyspnoe, afwezigheid van eetlust, lethargie en gewichtsverlies van >20%. Na infectie zullen de dieren uitvoerig gevolgd worden voor het detecteren van deze verschijnselen. Aangezien het ongerief en de desbetreffende humane eindpunten afhankelijk zijn van het gekozen virus, zijn deze hieronder uitgesplitst naar infectie met laag en hoog pathogeen influenza virus. Tevens zijn twee criteria toegevoegd waarbij dieren direct geëuthanaseerd zullen worden en die onafhankelijk zijn van het gekozen virus (laag of hoog pathogeen). Bij het vertonen van een van de volgende humane eindpunten zal het betreffende dier geëuthanaseerd worden:

Laag pathogeen influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (althoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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. Aangezien 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 influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (alhoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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 (maw als het niet meer reageert op externe prikkels).

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

Het verloop van klinische verschijnselen zal afhankelijk zijn van het gekozen influenza virus (laag of hoog pathogeen) en zal derhalve hieronder uitgesplitst worden:

In het geval van laag pathogene (seizoens)influenzavirussen is de kans hierop heel klein, $\leq 5\%$ (het waarnemingspercentage in eigen experimenten in het verleden is 0%).

In het geval van hoog pathogene ("emerging", pandemische, aviaire) influenzavirussen is de kans hierop variabel, afhankelijk van virulentie en dosis van het te gebruiken virus: 0 - 100%. Hieronder ter verduidelijking een figuur met data uit een vergelijkbare studie met dit soort influenzavirussen (██████████).

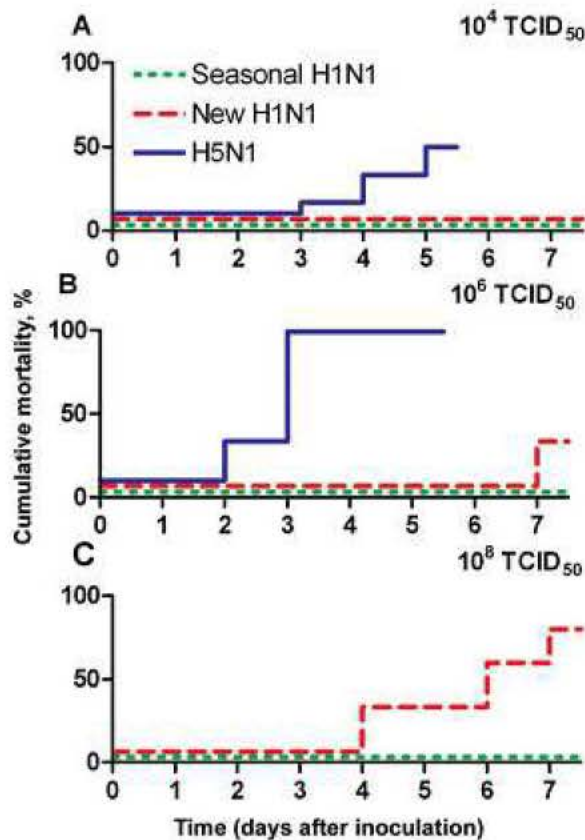


Figure 1. Cumulative mortality rates of ferrets inoculated with different influenza viruses. Ferrets were intratracheally inoculated with seasonal H1N1 ($n = 3$), new H1N1 ($n = 6$), or highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 ($n = 6$) influenza viruses at a dose of 10^4 (A), 10^6 (B), or 10^8 (C) median tissue culture infective dose (TCID₅₀). Cumulative mortality for new H1N1 virus was intermediate between that for seasonal H1N1 virus and that for HPAI H5N1 virus.

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.

Het cumulatieve ongerief voor deze experimenten wordt ingeschaald op matig voor laag pathogene seizoens influenza virussen en ernstig voor hoog pathogene (mogelijk pandemische) influenza virussen.

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.

De gemiddelde benodigde hoeveelheid antiserum is niet te verkrijgen door bloedafname, maar dient te gebeuren door middel van verbloeden.

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



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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 2 | Dose-finding van een nog niet uitgetest influenza virus |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

De hier beschreven experimenten hebben als doel om de infectie dosis te bepalen van een nieuw/nog niet uitgetest influenza virus in fretten. Deze infectie dosis kan vervolgens gebruikt worden in opvolgende profylactische of therapeutische interventie studies tegen influenza. Hiervoor zullen dieren, welke voorzien zijn van een datalogger voor temperatuur metingen, geïnfecteerd worden met verschillende doses (in het algemeen 3 verschillende doses) van het uit te testen virus en zullen tijdens de looptijd van het experiment monsters uit de luchtwegen verzameld worden om de replicatie kinetiek te bepalen. Op het eindpunt van het experiment zullen de dieren geëuthanaseerd worden voor zowel pathologie als virologie op respiratoire (en indien van toepassing andere) weefsels.

De primaire uitkomst parameter zal afhankelijk zijn van het uit te testen virus, maar zal in het algemeen virale replicatie zijn in het voorspelde gedeelte van de luchtwegen.

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.

Na een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zullen de dieren onder ketamine-medetomidine sedatie worden voorzien van een intraperitoneale datalogger. Na deze operatie zal er een periode van herstel zijn van minimaal twee weken, waarna ze gewogen en geïnfecteerd worden met influenza virus via de intranasale en/of intratracheale route in een volume van 0.3ml (intranasaal) en 3ml (intratracheaal) waarbij de dosis van het virus in deze volumina afhangt van het betreffende virus (deze dosis zal beargumenteerd worden in het betreffende werkprotocol). De keuze van de route zal afhangen van het te gebruiken virus en indien bekend van de receptor beschikbaarheid van dit virus in de luchtwegen (bovenste en onderste). Zoals beschreven door van Riel et al (AJP 2007) infecteren seizoens virussen voornamelijk de bovenste luchtwegen en in mindere mate de onderste luchtwegen. Pandemische virussen infecteren juist vooral de onderste luchtwegen en laten geen replicatie zien in de bovenste luchtwegen. Op basis van het klinisch

beeld van de patiënt waar het isolaat uit afkomstig is kan bepaald worden of men te maken heeft met de eerste of de tweede.

Op de dag van infectie (pre-monster) en dagelijks na infectie zullen de dieren gewogen en bemonsterd worden uit de luchtwegen (keel en neus) onder ketamine sedatie tot en met de dag van euthanasie waarbij de dieren verbloed worden onder ketamine-medetomidine sedatie via hartpunctie. De dag van euthanasie zal bepaald worden aan de hand van de voorhanden zijnde (klinische) informatie over het betreffende virus of informatie over vergelijkbare virussen: laag pathogene seizoens influenza virussen op dag 4 na infectie en hoog pathogene (mogelijk pandemische) influenza virussen op dag 5 na infectie.

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

Per dosis zullen [] dieren geïnfecteerd worden. Aangezien bij een dose-finding de verschillende groepen met elkaar vergeleken kunnen worden, is het mogelijk om de experimenten met een dergelijk laag aantal dieren per groep uit te voeren. Daarnaast hebben eerdere dose-finding experimenten (niet gepubliceerd) en de ervaring opgedaan in deze eerdere experimenten laten zien dat met dergelijke kleine groepen een goed onderbouwde keuze gemaakt kan worden over de dosis van het betreffende virus.

B. De dieren

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

Diersoort: fretten (mannelijk of vrouwelijk) van 6-18 maanden.

De fret is zeer gevoelig voor infectie met wild-type (niet laboratorium-geadapteerde en klinisch relevante) influenza virussen. Daarom worden fretten al jaren gebruikt voor het maken van influenza-specifiek antiserum, maar ook voor profylactische en therapeutische interventie studies. Tevens is door de FDA bepaald dat het fretten model in aanmerking komt voor de "animal rule", wat erop neer komt dat indien het ethisch niet verantwoord is om een efficacy experiment uit te voeren in mensen, resultaten verkregen in een relevant diermodel gebruikt kunnen worden voor de licentie van een product. Het ziektebeeld na infectie met influenza virus is niet verschillend tussen mannelijke of vrouwelijke fretten.

Herkomst: geregistreerde leverancier 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.

Geschatte aantal: [] dieren in 5 jaar

Er wordt verwacht om per jaar voor 6 verschillende influenza virussen een dose-finding experiment uit te voeren. Per jaar circuleren er 4 verschillende influenza virussen (1x H1N1, 1x H3N2 en 2xB) en daarnaast ligt het in de verwachting om per jaar ook 2 "emerging influenza viruses". Indien per virus [] verschillende dosis uitgetest worden in [] dieren per dosis komt dat uit op een totaal van [] = [] dieren per jaar en [] dieren in 5 jaar.

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: de dierproeven die vallen onder dit project zijn opgezet voor het bepalen van een infectie dosis met influenza virus ten behoeve van toekomstige efficacy experimenten. Dit is in vitro niet na te bootsen. Aangezien fretten te infecteren zijn met wild-type virussen in tegenstelling tot muizen die over het algemeen alleen te infecteren zijn met muis-geadapteerde influenza virussen, is dit het kleinst mogelijke en

meest relevante model om influenza infecties te bestuderen.

Vermindering: kennis uit het verleden is leidend voor de groepsgrootte (namelijk ■ dieren per dosis) in deze experimenten. Indien additionele informatie voorhanden is over het betreffende uit te testen virus (bijvoorbeeld infectie experimenten door een andere instelling met een virus met identieke achtergrond) kan besloten worden om voor het betreffende virus niet een dose-finding, maar slechts een dose-confirmation (zie dierproef 3) uit te voeren wat een vermindering geeft van 6 dieren voor dat betreffende virus.

Verfijning: Meest invasieve behandelingen zullen uitgevoerd worden onder anesthesie en dieren worden dagelijks geobserveerd. Indien de klinische symptomen daartoe aanleiding geven zullen de dieren frequenter geobserveerd worden en daarnaast zullen ze indien dit nodig is vanuit welzijnsstandpunt ook vaker 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 om te voorkomen dat een humaan eindpunt bereikt wordt voor het 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 de dieren gehuisvest zullen worden na infectie onder klasse II of klasse III inperking. Afval (bedding, kadavers en andere gebruikte materialen) zal aangeboden 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.

n.v.t.

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.

In het algemeen hebben analgetica een ontstekingsremmende werking en dergelijke bijverschijnselen zijn niet verenigbaar met een dierproef waarin het opwekken van een ontsteking (bijvoorbeeld een immuunrespons t.g.v. een infectie) een belangrijke rol speelt (in dit geval de productie van antilichamen).

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?

Agressie binnen de groep

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Verandering van leefomgeving (bv verhuizing van standaard groepshuisvesting naar klasse III inperking) of gebruik van dieren die niet eerder samen gehuisvest waren.

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

Er zal kooiverrijking aangeboden worden welke geen gevaar oplevert voor de medewerkers indien dieren onder klasse III inperking gehuisvest worden. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan schuilmogelijkheden welke het uitvangen van de dieren bemoeilijken met bijt-accidenten als gevolg. Daarnaast is de leverancier van fretten dusdanig uitgekozen dat agressie niet of nauwelijks een rol speelt in deze dieren.

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.

Infecties met influenza virus kunnen leiden tot ernstige ziekte gekenmerkt door: respiratoire problemen, neurologische verschijnselen, diarree, dyspnoe, afwezigheid van eetlust, lethargie en gewichtsverlies van >20%. Na infectie zullen de dieren uitvoerig gevolgd worden voor het detecteren van deze verschijnselen. Aangezien het ongerief en de desbetreffende humane eindpunten afhankelijk zijn van het gekozen virus, zijn deze hieronder uitgesplitst naar infectie met laag en hoog pathogeen influenza virus. Tevens zijn twee criteria toegevoegd waarbij dieren direct geëuthanaseerd zullen worden en die onafhankelijk zijn van het gekozen virus (laag of hoog pathogeen). Bij het vertonen van een van de volgende humane eindpunten zal het betreffende dier geëuthanaseerd worden:

Laag pathogeen influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (althoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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. Aangezien 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 influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (alhoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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 [REDACTED]).
- Lethargie: indien een dier lethargisch is (maw als het niet meer reageert op externe prikkels).

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

Het verloop van klinische verschijnselen zal afhankelijk zijn van het gekozen influenza virus (laag of hoog pathogeen) en zal derhalve hieronder uitgesplitst worden:

In het geval van laag pathogene (seizoens)influenzavirussen is de kans hierop heel klein, $\leq 5\%$ (het waarnemingspercentage in eigen experimenten in het verleden is 0%).

In het geval van hoog pathogene ("emerging", pandemische, aviaire) influenzavirussen is de kans hierop variabel, afhankelijk van virulentie en dosis van het te gebruiken virus: 0 - 100%. Hieronder ter verduidelijking een figuur met data uit een vergelijkbare studie met dit soort influenzavirussen ([REDACTED]).

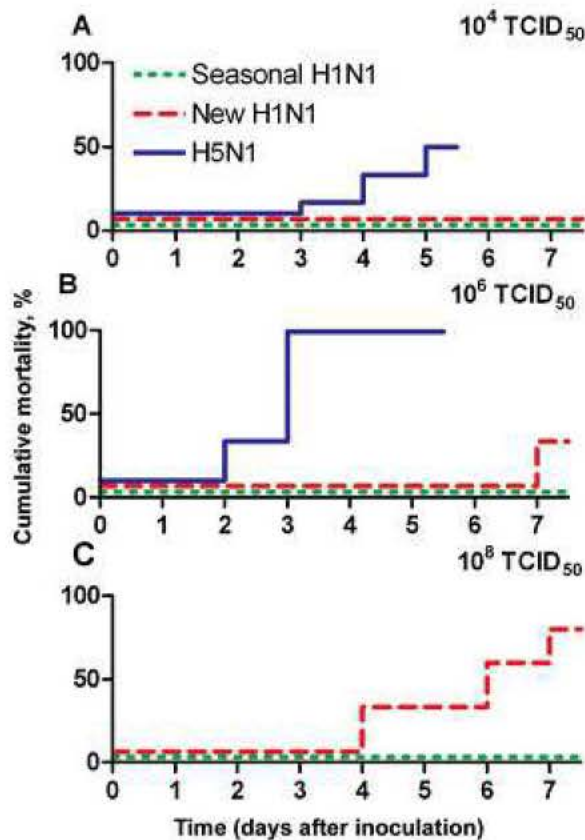


Figure 1. Cumulative mortality rates of ferrets inoculated with different influenza viruses. Ferrets were intratracheally inoculated with seasonal H1N1 ($n = 3$), new H1N1 ($n = 6$), or highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 ($n = 6$) influenza viruses at a dose of 10^4 (A), 10^6 (B), or 10^8 (C) median tissue culture infective dose (TCID₅₀). Cumulative mortality for new H1N1 virus was intermediate between that for seasonal H1N1 virus and that for HPAI H5N1 virus.

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.

Het cumulatieve ongerief voor deze experimenten wordt ingeschaald op matig voor laag pathogene seizoens influenza virussen en ernstig voor hoog pathogene (mogelijk pandemische) influenza virussen.

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 de virale load en pathologie in de longen te bestuderen. 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



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.
- 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.	Volgnummer	Type dierproef
		3	Dose-confirmation van een reeds uitgetest influenza virus

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

De hier beschreven experimenten hebben als doel om de infectie dosis te bevestigen van een reeds eerder uitgetest influenza virus in fretten. Deze experimenten kunnen nodig zijn vanwege de lange tijdsduur tussen de verschillende experimenten (>2 jaar), het feit dat een nieuwe batch virus is opgegroeid of informatie verkregen van derden (dit kan het uittesten zijn van het betreffende virus met dezelfde achtergrond in het fretten model). Deze infectie dosis kan vervolgens gebruikt worden in opvolgende profylactische of therapeutische interventie studies tegen influenza. Hiervoor zullen dieren, welke voorzien zijn van een datalogger voor temperatuur metingen, geïnfecteerd worden met de eerder bepaalde infectie dosis van het uit te testen virus en zullen tijdens de looptijd van het experiment monsters verzameld worden om de replicatie kinetiek te bevestigen. Op het eindpunt van het experiment zullen de dieren geëuthanaseerd worden voor zowel pathologie als virologie op respiratoire (en indien van toepassing andere) weefsels. De primaire uitkomst parameter zal overeenkomst zijn met eerder gevonden resultaten voor het betreffende virus.

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.

Na een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zullen de dieren onder ketamine-medetomidine sedatie worden voorzien van een intraperitoneale datalogger. Na deze operatie zal er een periode van herstel zijn van minimaal twee weken, waarna ze gewogen en geïnfecteerd worden met influenza virus via de intranasale en/of intratracheale route in een volume van 0.3 ml (intranasaal) en 3ml (intratracheaal) waarbij de dosis van het virus in deze volumina afhangt van het betreffende virus (deze dosis zal beargumenteerd worden in het betreffende werkprotocol). De keuze van de route zal afhangen van het te gebruiken virus en indien bekend van de receptor beschikbaarheid van dit virus in de luchtwegen (bovenste en onderste). Zoals beschreven door ██████████ infecteren seizoens virussen voornamelijk de

bovenste luchtwegen en in mindere mate de onderste luchtwegen. Pandemische virussen infecteren juist vooral de onderste luchtwegen en laten geen replicatie zien in de bovenste luchtwegen. Op basis van het klinisch beeld van de patiënt waar het isolaat uit afkomstig is kan bepaald worden of men te maken heeft met de eerste of de tweede.

Op de dag van infectie (pre-monster) en dagelijks na infectie zullen de dieren gewogen en bemonsterd worden uit de luchtwegen (keel en neus) onder ketamine sedatie tot en met de dag van euthanasie waarbij de dieren verbloed worden onder ketamine-medetomidine sedatie via hartpunctie. De dag van euthanasie zal bepaald worden aan de hand van eerder verkregen informatie over het betreffende virus.

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

Per virus zullen ■■■ dieren geïnfecteerd worden. Aangezien resultaten verkregen in deze experimenten vergeleken worden met eerdere resultaten, is het mogelijk om de experimenten met een dergelijk laag aantal dieren per groep uit te voeren. Daarnaast hebben eerdere dose-confirmation experimenten (niet gepubliceerd) en de ervaring opgedaan in deze eerdere experimenten laten zien dat met dergelijke kleine aantallen dieren een goed vergelijk kan worden gemaakt met eerdere resultaten. Indien resultaten dusdanig afwijken van eerdere resultaten kan besloten worden om het betreffende virus uit te testen in een dose-finding experiment (zie beschrijving dierproef 2).

B. De dieren

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

Diersoort: fretten (mannelijk of vrouwelijk) van 6-18 maanden.

De fret is zeer gevoelig voor infectie met wild-type (niet laboratorium-geadapteerde en klinisch relevante) influenza virussen. Daarom worden fretten al jaren gebruikt voor het maken van influenza-specifiek antiserum, maar ook voor profylactische en therapeutische interventie studies. Tevens is door de FDA bepaald dat het fretten model in aanmerking komt voor de "animal rule", wat erop neer komt dat indien het ethisch niet verantwoord is om een efficacy experiment uit te voeren in mensen, resultaten verkregen in een relevant diermodel gebruikt kunnen worden voor de licentie van een product. Het ziektebeeld na infectie met influenza virus is niet verschillend tussen mannelijke of vrouwelijke fretten.

Herkomst: geregistreerde leverancier 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.

Geschatte aantal: ■■■ dieren in 5 jaar

Er wordt verwacht om per jaar voor 5 verschillende influenza virussen een dose-confirmation experiment uit te voeren. Indien per virus ■■ dieren gebruikt worden komt dat uit op een totaal van ■■■■ dieren per jaar en ■■■■ dieren in 5 jaar.

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: de dierproeven die vallen onder dit project zijn opgezet voor het bepalen van een infectie dosis met influenza virus ten behoeve van toekomstige efficacy experimenten. Dit is in vitro niet na te bootsen. Aangezien fretten te infecteren zijn met wild-type virussen in tegenstelling tot muizen die over het algemeen alleen te infecteren zijn met muis-geadapteerde influenza virussen, is dit het kleinst mogelijke en

meest relevante model om influenza infecties te bestuderen.

Vermindering: kennis uit het verleden is leidend voor de groepsgrootte (namelijk ■ dieren per virus) in deze experimenten. Met deze methode kan in een beperkt aantal dieren bepaald worden of de infectie dosis in een over het algemeen veel groter interventie experiment juist is.

Verfijning: Meest invasieve behandelingen zullen uitgevoerd worden onder anesthesie en dieren worden dagelijks geobserveerd. Indien de klinische symptomen daartoe aanleiding geven zullen de dieren frequenter geobserveerd worden en daarnaast zullen ze indien dit nodig is vanuit welzijnsstandpunt ook vaker 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 om te voorkomen dat een humaan eindpunt bereikt wordt voor het 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 de dieren gehuisvest zullen worden na infectie onder klasse II of klasse III inperking. Afval (bedding, kadavers en andere gebruikte materialen) zal aangeboden 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.

n.v.t.

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 Wod 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.

In het algemeen hebben analgetica een ontstekingsremmende werking en dergelijke bijverschijnselen zijn niet verenigbaar met een dierproef waarin het opwekken van een ontsteking (bijvoorbeeld een immuunrespons t.g.v. een infectie) een belangrijke rol speelt (in dit geval de productie van antilichamen).

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?

Agressie binnen de groep

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Verandering van leefomgeving (bv verhuizing van standaard groepshuisvesting naar klasse III inperking) of gebruik van dieren die niet eerder samen gehuisvest waren.

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

Er zal kooiverrijking aangeboden worden welke geen gevaar oplevert voor de medewerkers indien dieren onder klasse III inperking gehuisvest worden. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan schuilmogelijkheden welke het uitvangen van de dieren bemoeilijken met bijt-accidenten als gevolg. Daarnaast is de leverancier van fretten dusdanig uitgekozen dat agressie niet of nauwelijks een rol speelt in deze dieren.

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.

Infecties met influenza virus kunnen leiden tot ernstige ziekte gekenmerkt door: respiratoire problemen, neurologische verschijnselen, diarree, dyspnoe, afwezigheid van eetlust, lethargie en gewichtsverlies van >20%. Na infectie zullen de dieren uitvoerig gevolgd worden voor het detecteren van deze verschijnselen. Aangezien het ongerief en de desbetreffende humane eindpunten afhankelijk zijn van het gekozen virus, zijn deze hieronder uitgesplitst naar infectie met laag en hoog pathogeen influenza virus. Tevens zijn twee criteria toegevoegd waarbij dieren direct geëuthanaseerd zullen worden en die onafhankelijk zijn van het gekozen virus (laag of hoog pathogeen). Bij het vertonen van een van de volgende humane eindpunten zal het betreffende dier geëuthanaseerd worden:

Laag pathogeen influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (althoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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. Aangezien 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 influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (alhoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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 (maw als het niet meer reageert op externe prikkels).

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

Het verloop van klinische verschijnselen zal afhankelijk zijn van het gekozen influenza virus (laag of hoog pathogeen) en zal derhalve hieronder uitgesplitst worden:

In het geval van laag pathogene (seizoens)influenzavirussen is de kans hierop heel klein, $\leq 5\%$ (het waarnemingspercentage in eigen experimenten in het verleden is 0%).

In het geval van hoog pathogene ("emerging", pandemische, aviaire) influenzavirussen is de kans hierop variabel, afhankelijk van virulentie en dosis van het te gebruiken virus: 0 - 100%. Hieronder ter verduidelijking een figuur met data uit een vergelijkbare studie met dit soort influenzavirussen (██████████).
██████████).

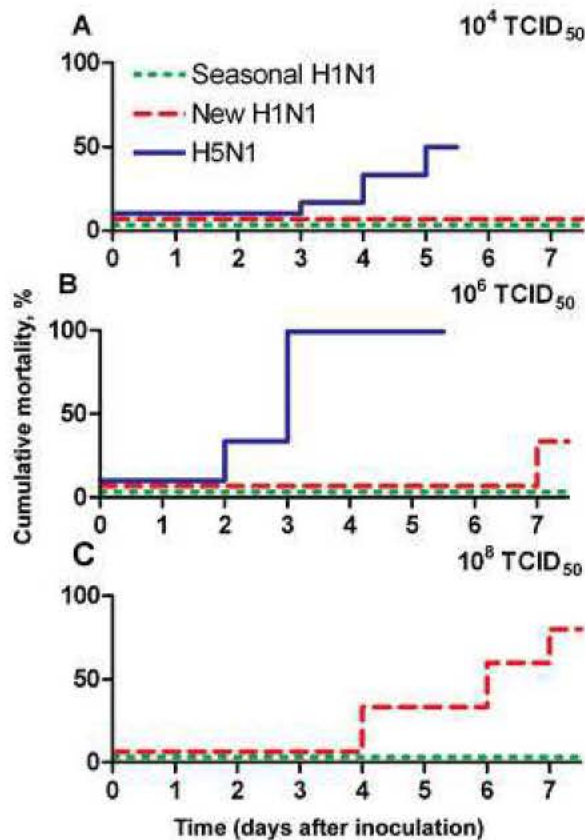


Figure 1. Cumulative mortality rates of ferrets inoculated with different influenza viruses. Ferrets were intratracheally inoculated with seasonal H1N1 ($n = 3$), new H1N1 ($n = 6$), or highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 ($n = 6$) influenza viruses at a dose of 10^4 (A), 10^6 (B), or 10^8 (C) median tissue culture infective dose (TCID₅₀). Cumulative mortality for new H1N1 virus was intermediate between that for seasonal H1N1 virus and that for HPAI H5N1 virus.

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.

Het cumulatieve ongerief voor deze experimenten wordt ingeschaald op matig voor laag pathogene seizoens influenza virussen en ernstig voor hoog pathogene (mogelijk pandemische) influenza virussen.

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 de virale load en pathologie in de longen te bestuderen. 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: AVD905002015149
2. Titel van het project: Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten.
3. Titel van de NTS: Onderzoek naar infectie met griepvirussen 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 25 juni 2015
 - X aanvraag compleet: 21 augustus 2015
 - X in vergadering besproken: 8 juli 2015, 05 augustus 2015 en 09 september 2015
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van / tot
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - X aanpassing aanvraag: 28 juli 2015 en 21 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:

 - Vraag of de aangevinkte doelcategorie van het project wel correct is.

- 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.
- Nadere toelichting en beschrijving van de algemene opzet van het project.
- Beschrijving van de logische samenhang van de verschillende onderdelen. En onderbouwing van het onderbrengen van deze verschillende onderdelen binnen 1 projectaanvraag.
- Nadere toelichting en onderbouwing van de humane eindpunten en het percentage dieren dat naar verwachting het humane eindpunt zal bereiken.
- Tekstueel en redactioneel (verduidelijking en onderlinge afstemming van bepaalde tekstpassages en correcte invulling van het formulier). Aanpassing van de NTS conform de toelichting bij het formulier.

Vragen d.d. 07 augustus 2015:

- Opmerking van de commissie m.b.t. de aangekruiste doelstellingen, nl. zowel fundamenteel als translationeel onderzoek. De commissie is van oordeel dat er bij dit project grotendeels, en misschien wel geheel, sprake is van translationeel of toegepast onderzoek. De commissie heeft dit aspect nadrukkelijk in haar afweging betrokken en een eventuele bijstelling van de tekst hierover heeft naar het oordeel van de commissie dan ook geen consequenties voor de ethische afweging.
- Opmerking m.b.t. de onderlinge samenhang van de verschillende doelstellingen en combinatie ervan in 1 projectaanvraag, welke niet geheel voor de hand lijkt te liggen. De commissie heeft dit aspect in haar afweging betrokken en is er wel van overtuigd dat alle drie de experimenten uiteindelijk bijdragen aan het up to date houden van influenzavaccins door informatie te vergaren over de eigenschappen van influenzavirussen en dat dit project dus een toetsbare eenheid vormt. De huidige beschrijving van de doelstelling hoeft naar het oordeel van de commissie derhalve geen belemmering te vormen voor de ethische afweging.

- Tekstueel en redactioneel: consistent op elkaar afstemmen van NTS en de overige documenten van deze projectaanvraag, w.b.t. de beschreven doelstellingen.
 - Datum antwoord: 21 juli 2015 en 21 augustus 2015
 - Strekking van de antwoorden: de vragen en opmerkingen van de DEC zijn naar tevredenheid beantwoord; aanvraag na bijstelling volledig 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
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. Influenza epidemieën brengen een hoge ziektelast en veel maatschappelijke kosten met zich mee. De eigenschappen van influenzavirussen veranderen in verloop van tijd aanzienlijk, een verschijnsel dat bekend staat als 'antigene drift'. Als gevolg hiervan dient het jaarlijkse influenza vaccin regelmatig te worden aangepast om voldoende bescherming te kunnen bieden tegen de dan circulerende seizoensvirussen. Wereldwijde surveillance en monitoringsprogramma's zijn dan ook van groot belang om de evolutie van circulerende influenzavirussen in de gaten te houden en om te

kunnen adviseren omtrent de samenstelling van de seizoensinflenzavaccins. Daarnaast is er een constante dreiging van het uitbreken van een influenza pandemie (zgn. 'antigene shift', de introductie van een voor de mens nieuw influenza virus). Monitoring van influenzavirussen is derhalve tevens van groot belang om zo goed mogelijk voorbereid te blijven op mogelijke pandemische uitbraken. In dit project wordt onderzocht of antisera geproduceerd in fretten tegen de huidige, bekende virussen nog kruisreageren met nieuw circulerende virussen. De in dit project verkregen antiserum preparaten worden tevens gebruikt in de kwaliteitscontrole van diverse serologische assays. Tenslotte worden dose-finding en dose-confirmation studies uitgevoerd met respectievelijk nieuw te testen en reeds uitgeteste influenza virussen om een goede inschatting te kunnen maken van de te gebruiken doses in interventiestudies.

Dit project draagt bij aan het tijdig beschikbaar komen van seizoensvaccins en pandemische vaccins die goed zijn afgestemd op de op dat moment circulerende influenzavirussen en die een zo breed mogelijke bescherming bieden.

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 in wettelijk opzicht geen sprake van de volgende 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 geïnfecteerd met seizoensinflenzavirussen 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.
7. De kans op ernstig ongerief is variabel (0 - 100%) en is afhankelijk van het te

testen influenza virus.

- 8.** Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De materialen en data verkregen uit deze studies kunnen niet worden gegenereerd met proefdiervrije methoden.
- 9.** 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 aantallen dieren zijn gebaseerd op resultaten uit het verleden.
- 10.** 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 anesthesie. De dieren worden dagelijks en indien nodig meerdere malen per dag geobserveerd. Dieren die het humane eindpunt bereiken worden zo spoedig mogelijk geëuthanaseerd.
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
- 11.** 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.

Dit project omvat dierproeven die worden uitgevoerd in het kader van wereldwijde surveillance- en monitoringsprogramma's waarin de evolutie van circulerende influenzavirussen wordt gevolgd. De gegevens worden gebruikt om te kunnen adviseren omtrent de samenstelling van de seizoensinflenzavaccins en om tijdig de dreiging van pandemische uitbraken te kunnen onderkennen. Influenza epidemieën brengen een hoge ziektelast en veel maatschappelijke kosten met zich mee. Een influenza pandemie kan zelfs de samenleving ontwrichten. 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.

Tegenover dit substantiële belang staat het feit dat de dieren in deze experimenten meestal matig, maar in sommige gevallen ook ernstig ongerief zullen ondervinden. De commissie is er van overtuigd dat bij de dierproeven

adequaate invulling gegeven zal worden aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. De experimenten zijn onderdeel van een wereldwijd surveillance- en monitoringprogramma en de opzet ervan is afgestemd in nauw overleg tussen de deelnemende centra. Die opzet komt overeen met wat in dit veld gebruikelijk is. Het gebruik van de dieren en het daarbij optredende ongerief is derhalve onvermijdelijk, wil men de doelstellingen kunnen realiseren. De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van dieren.

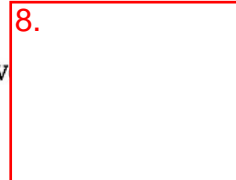
De DEC is van oordeel dat het hier boven geschetste belang de onvermijdelijke nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst, pijn of stress, rechtvaardigt. Aan de eis dat het belang van de experimenten op dient te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, is voldaan.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> 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
AVD905002015149

Bijlagen

2

Datum 24 september 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 21 september 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD905002015149. 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. 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: 1 september 2020
Titel project: Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten
Titel niet-technische samenvatting: Onderzoek naar infectie met griepvirussen 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:

20 september 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
AVD905002015149

Bijlagen

2

Datum 24 september 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

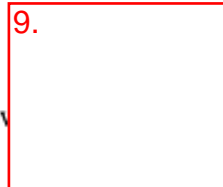
Factuurdatum: 24 september 2015

Vervaldatum: 24 oktober 2015

Factuurnummer: 15700149

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD905002015149	€ 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
AVD905002015149

Datum 29 september 2015
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen
1

Geachte heer/mevrouw,

Op 21 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten met aanvraagnummer AVD905002015149. 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 tekstuele fouten en moeilijke woorden, zoals extrapolatie. Daarnaast staat bij 4.3 bij de verschillende vragen hetzelfde antwoord. Graag ontvangen wij een Niet technische samenvatting die voldoet aan de eisen. Deze eisen kunt u vinden op onze website www.centralecommissiedierproeven.nl.

Onduidelijkheden

Uw project bevat enkele onduidelijkheden.
Kunt u de samenhang tussen Dierproef 1 en de Dierproeven 2 en 3 aangeven?
Hoe wordt de dosis bepaald voor Dierproef 1; hoe wordt voorkomen dat dieren sterven zonder dat bloedafname mogelijk is?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

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

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Datum
29 september 2015

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD905002015149

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben 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. 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.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post

Aan: IvD BioXpert, CCD

Betreft Aanvullende informatie onderzoeksplan getiteld: Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten. (CCD nr: AVD905002015149).

Datum: 02 October 2015

Beste leden van de IvD / Geachte leden van de CCD,

Met referentie naar uw verzoek om aanvullende informatie ontvangen op 29 september 2015 stuur ik u hierbij mijn antwoord op de vraag gesteld in uw schrijven.

Vraag 1:

Niet technische samenvatting: De niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat enkele tekstuele fouten en moeilijke woorden, zoals extrapolatie. Daarnaast staat bij 4.3 bij de verschillende vragen hetzelfde antwoord. Graag ontvangen wij een Niet technische samenvatting die voldoet aan de eisen. Deze eisen kunt u vinden op onze website www.centralecommissiedierproeven.nl.

Antwoord vraag 1:

We hebben de NTS nogmaals doorgelopen en daar waar mogelijk mogelijk lastig te interpreteren woorden aangepast, zodat de tekst ook begrijpelijk is voor een leken-publiek. Op een enkel punt is er ook geschoven met de tekst om het geheel begrijpelijker te maken. Wat betreft de dubbele tekst bij 4.3: op 25 september j.l. is reeds een nieuwe versie per mail naar de CCD gestuurd aangezien dit ook bij de aanvrager op was gevallen. In bijgevoegd aangepast bestand (NTS) is dit ook reeds aangepast.

Vraag 2:

Onduidelijkheden: Uw project bevat enkele onduidelijkheden. Kunt u de samenhang tussen dierproef 1 en de Dierproeven 2 en 3 aangeven? Hoe wordt de dosis bepaald voor Dierproef 1; hoe wordt voorkomen dat dieren sterven zonder dat bloedafname mogelijk is?

Antwoord vraag 2:

Wat betreft de samenhang tussen dierproef 1 en de dierproeven 2 en 3. Zoals weergegeven in punt 3.4.3 van het projectvoorstel waarin de logische samenhang van de verschillende onderdelen moet worden beschreven staat hetvolgende: "Gezamenlijk wordt met dierproeven 1, 2 en 3 alle benodigde informatie voor het uittesten van de werkzaamheid van antivirale interventiestrategieën tegen (nieuwe) influenzavirussen gegenereerd waardoor de paraatheid ondersteund wordt die vereist is om snel en accuraat te kunnen (blijven) reageren op epidemische en pandemische dreiging ten gevolge van circulerende en nieuw geïntroduceerde influenzavirussen." Hiermee wordt aangegeven dat resultaten door infectie van fretten zoals beschreven in dit projectvoorstel allen leiden tot het verzamelen van informatie over de eigenschappen van influenza virussen via verschillende methoden. De logische samenhang is ook naar voren gekomen in correspondentie met de DEC, zoals weergegeven in het advies van de DEC: "Opmerking m.b.t. de onderlinge samenhang van de verschillende doelstellingen en combinatie ervan in 1 projectaanvraag, welke niet geheel voor de hand lijkt te liggen. De commissie heeft dit aspect in haar afweging betrokken en is er wel van overtuigd dat alle drie de experimenten uiteindelijk bijdragen aan het up to date houden van influenzavaccins door informatie te vergaren over de eigenschappen van influenzavirussen en dat dit project dus een toetsbare eenheid vormt. De huidige beschrijving van de doelstelling hoeft naar het oordeel van de commissie derhalve

geen belemmering te vormen voor de ethische afweging.” Ik hoop dat de CCD zich ook kan vinden in de beschrijving van de logische samenhang door de aanvrager en de beoordeling van de DEC. Wat betreft de tweede vraag over de dosis en de kans dat dieren vroegtijdig komen te overlijden zonder dat bloedafname mogelijk is. Een dergelijke situatie is alleen denkbaar bij het gebruik van mogelijk hoog pathogene virussen. Echter, zoals weergegeven in de figuur bij punt J (humane eindpunten) zijn ook voor hoog pathogene virussen doseringen beschikbaar waarbij de dieren daadwerkelijk geïnfecteerd worden, maar niet komen te overlijden voor het einde van de looptijd (in dit geval 14 dagen na infectie). Op grond van voorkennis van dergelijke virussen zal een dusdanige dosering gekozen worden, welke leidt tot het verwachte eindresultaat namelijk overleving tot dag 14 na infectie en seroconversie. Om dit te verduidelijken is een kleine aanpassing gemaakt in de bijlage welke dierproef 1 omschrijft en deze bijgestelde bijlage is ook toegevoegd. Hieronder is de eerste alinea weergegeven van punt A (Experimentele aanpak en primaire uitkomst parameters, sectie Beschrijf de beoogde behandeling...de gekozen aanpak) waarbij de aanpassingen hieronder zijn gemarkeerd:

Na een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zullen de dieren onder ketamine-medetomidine sedatie gewogen en geïnfecteerd worden met influenza virus via de intranasale en/of intratracheale route in een volume van respectievelijk 0.3ml en 3ml. De keuze van de route **en de dosering** zal afhangen van het te gebruiken virus en indien bekend van de receptor beschikbaarheid van dit virus in de luchtwegen (bovenste en onderste). Zoals beschreven door van Riel et al (AJP 2007) infecteren seizoens virussen voornamelijk de bovenste luchtwegen en in mindere mate de onderste luchtwegen. Pandemische virussen infecteren juist vooral de onderste luchtwegen en laten geen replicatie zien in de bovenste luchtwegen. Op basis van het klinisch beeld van de patiënt waar het isolaat uit afkomstig is kan bepaald worden of men te maken heeft met de eerste of de tweede. **Wat betreft de dosering zal een dusdanige dosering gekozen worden dat de dieren overleven tot dag 14 na infectie, zodat inderdaad seroconversie opgetreden zal zijn (zie figuur bij punt J waarbij voor verschillende klassen virussen een dose-response curve is weergegeven).**

Ik hoop u hiermede voldoende te hebben geïnformeerd om dit projectvoorstel in de eerstvolgende vergadering te behandelen.

Met vriendelijke groeten,

[Redacted signature]

Viroclinics Biosciences B.V.
Rotterdam Science Tower
Marconistraat 16
3028 AK Rotterdam

[Redacted contact information]



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.
- 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.	<table><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Antiserum productie na infectie met influenza virus</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Antiserum productie na infectie met influenza virus
Volgnummer	Type dierproef					
1	Antiserum productie na infectie met influenza virus					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Voor de productie van antiserum zullen de dieren geïnfecteerd worden via de intranasale en/of intratracheale route. Primaire uitkomstparameter zal seroconversie zijn na infectie. Resultaten uit het verleden hebben aangetoond dat in slechts een enkel geval infectie niet aanslaat en niet zal leiden tot seroconversie.

NB: indien het een nieuw virus betreft waarvan nog geen informatie voorhanden is over de replicatie kinetiek in de luchtwegen kan besloten worden om met een weinig invasieve werkwijze de luchtwegen (neus en keel) te bemonsteren ten behoeve van virologische analyse. Deze bemonstering heeft geen invloed op het ontwikkelen van de immunrespons tegen het virus en dus ook niet op de seroconversie.

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.

Na een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zullen de dieren onder ketamine-medetomidine sedatie gewogen en geïnfecteerd worden met influenza virus via de intranasale en/of intratracheale route in een volume van respectievelijk 0.3ml en 3ml. De keuze van de route en de dosering zal afhangen van het te gebruiken virus en indien bekend van de receptor beschikbaarheid van dit virus in de luchtwegen (bovenste en onderste). Zoals beschreven door van Riel et al (AJP 2007) infecteren seizoens virussen voornamelijk de bovenste luchtwegen en in mindere mate de onderste luchtwegen. Pandemische virussen infecteren juist vooral de onderste luchtwegen en laten geen replicatie zien in de bovenste luchtwegen. Op basis van het klinisch beeld van de patiënt waar het isolaat uit afkomstig is kan bepaald worden of men te maken heeft met de eerste of de tweede. Wat betreft de dosering zal een dusdanige dosering gekozen worden dat de dieren overleven tot dag 14 na infectie, zodat inderdaad seroconversie opgetreden zal zijn (zie figuur bij punt J waarbij voor verschillende klassen virussen een dose-response curve is weergegeven).

Twee weken na de infectie zullen de dieren gewogen en geëuthanaseerd worden onder ketamine-

medetomidine sedatie door middel van verbloeden via hartpunctie. Deze periode tussen infectie en verbloeden is dusdanig gekozen dat het antiserum nog een hoge specificiteit heeft tegen het virus waarmee geïnfecteerd is. Indien voor een later tijdstip gekozen wordt bevat het antiserum een meer bredere specificiteit waardoor bijvoorbeeld typering van virussen op basis van antiserum niet meer mogelijk is. Eerdere bemonstering is niet van toepassing aangezien de hoogte van de immunorespons dan nog te laag is om te gebruiken in de voorgestelde testen.

NB: indien in het uitgevoerde experiment ook de replicatie kinetiek bestudeerd gaat worden, zullen de dieren op dag van infectie (pre-monster) en dagelijks (t/m dag 7) na infectie bemonsterd worden uit de luchtwegen (keel en neus) onder ketamine sedatie. Deze eerste resultaten kunnen gebruikt worden om een eventuele dose-finding (zie dierproef 2) te verfijnen. De keuze om deze bemonstering te beëindigen op dag 7 na infectie is vanwege het feit dat eerder (gepubliceerd) onderzoek heeft aangetoond dat de piek van de virale replicatie binnen deze eerste 7 dagen zal plaatsvinden.

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

In principe zullen per virus [REDACTED] dieren geïnfecteerd worden om het antiserum op te wekken. De jarenlange ervaring van het Nederlands Influenza Centrum (NIC) welke ondergebracht is bij de afdeling Viroscience van het Erasmus MC, heeft geleerd dat de opbrengst van [REDACTED] dieren per isolaat voldoende is voor het uitvoeren van de gewenste testen. Maatstaf zal hier zijn dat het bloedvolume ongeveer 7-8% van het lichaamsgewicht is en dat bij opwerken ongeveer 40% van het bloedvolume uit serum zal bestaan. Voor een mannelijke fret van 800 gram zal dit dus een serum volume van 20-25ml zijn.

B. De dieren

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

Diersoort: fretten (mannelijk) van 6-18 maanden.

De fret is zeer gevoelig voor infectie met wild-type (niet laboratorium-geadapteerde en klinisch relevante) influenza virussen. Daarom worden fretten al jaren gebruikt voor het maken van influenza-specifiek antiserum. Vanwege het hogere lichaamsgewicht en dus ook bloedvolume wordt altijd gebruik gemaakt van mannelijke fretten.

Herkomst: geregistreerde leverancier 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.

Geschatte aantal: [REDACTED] dieren in 5 jaar

Er wordt verwacht om per jaar voor 10 verschillende influenza virussen antiserum op te wekken. Per jaar circuleren er 4 verschillende influenza virussen (1x H1N1, 1x H3N2 en 2xB) en de verwachting is om per jaar voor minimaal elk virus antiserum op te wekken tegen een drift variant (mogelijk afwijkende virus variant). Daarnaast ligt het in de verwachting om per jaar ook antiserum op te wekken tegen 2 "emerging influenza viruses".

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: de dierproeven die vallen onder dit project zijn opgezet ter productie van antiserum tegen influenza virus. Dit is in vitro niet na te bootsen. Aangezien fretten te infecteren zijn met wild-type virussen

in tegenstelling tot muizen die over het algemeen alleen te infecteren zijn met muis-geadapteerde influenza virussen, is dit het kleinst mogelijke en meest relevante model om antiserum te produceren.

Vermindering: de benodigde hoeveelheid antiserum is leidend in deze experimenten. Er wordt altijd gebruik gemaakt van mannelijke fretten, omdat mannelijke fretten een hoger lichaamsgewicht hebben en dus een groter bloedvolume.

Verfijning: Meest invasieve behandelingen zullen uitgevoerd worden onder anesthesie en dieren worden dagelijks geobserveerd. Indien de klinische symptomen daartoe aanleiding geven zullen de dieren frequenter geobserveerd worden en daarnaast zullen ze indien dit nodig is vanuit welzijnsstandpunt ook vaker 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 om te voorkomen dat een humaan eindpunt bereikt wordt voor het volgende controle moment.

Tevens kan besloten worden, indien het een nieuw virus betreft waarvan nog geen informatie voorhanden is over de replicatie kinetiek in de luchtwegen, om met een weinig invasieve werkwijze de luchtwegen (neus en keel) te bemonsteren ten behoeve van virologische analyse tijdens de eerste fase van de infectie. Deze bemonstering heeft geen invloed op het ontwikkelen van de immunrespons tegen het virus en dus ook niet op de seroconversie. Met deze eerste resultaten kunnen vervolgens dose-finding experimenten beter geoptimaliseerd worden wat betreft bijvoorbeeld challenge condities of opvolgtijd na infectie wat kan leiden tot verfijning en vermindering in vervolg experimenten.

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 de dieren gehuisvest zullen worden na infectie onder klasse II of klasse III inperking. Afval (bedding, kadavers en andere gebruikte materialen) zal aangeboden 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.

n.v.t.

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 Wod 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.

In het algemeen hebben analgetica een ontstekingsremmende werking en dergelijke bijverschijnselen zijn niet verenigbaar met een dierproef waarin het opwekken van een ontsteking (bijvoorbeeld een immuunrespons t.g.v. een infectie) een belangrijke rol speelt (in dit geval de productie van antilichamen).

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?

Agressie binnen de groep

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Verandering van leefomgeving (bv verhuizing van standaard groepshuisvesting naar klasse III inperking) of gebruik van dieren die niet eerder samen gehuisvest waren.

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

Er zal kooiverrijking aangeboden worden welke geen gevaar oplevert voor de medewerkers indien dieren onder klasse III inperking gehuisvest worden. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan schuilmogelijkheden welke het uitvangen van de dieren bemoeilijken met bijt-accidenten als gevolg. Daarnaast is de leverancier van fretten dusdanig uitgekozen dat agressie niet of nauwelijks een rol speelt in deze dieren.

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.

Infecties met influenza virus kunnen leiden tot ernstige ziekte gekenmerkt door: respiratoire problemen, neurologische verschijnselen, diarree, dyspnoe, afwezigheid van eetlust, lethargie en gewichtsverlies van >20%. Na infectie zullen de dieren uitvoerig gevolgd worden voor het detecteren van deze verschijnselen. Aangezien het ongerief en de desbetreffende humane eindpunten afhankelijk zijn van het gekozen virus, zijn deze hieronder uitgesplitst naar infectie met laag en hoog pathogeen influenza virus. Tevens zijn twee criteria toegevoegd waarbij dieren direct geëuthanaseerd zullen worden en die onafhankelijk zijn van het gekozen virus (laag of hoog pathogeen). Bij het vertonen van een van de volgende humane eindpunten zal het betreffende dier geëuthanaseerd worden:

Laag pathogeen influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (althoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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. Aangezien 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 influenza virus:

- Gewichtsverlies: tijdens de infectie 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 infectie (alhoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de infectie 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 (maw als het niet meer reageert op externe prikkels).

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

Het verloop van klinische verschijnselen zal afhankelijk zijn van het gekozen influenza virus (laag of hoog pathogeen) en zal derhalve hieronder uitgesplitst worden:

In het geval van laag pathogene (seizoens)influenzavirussen is de kans hierop heel klein, $\leq 5\%$ (het waarnemingspercentage in eigen experimenten in het verleden is 0%).

In het geval van hoog pathogene ("emerging", pandemische, aviaire) influenzavirussen is de kans hierop variabel, afhankelijk van virulentie en dosis van het te gebruiken virus: 0 - 100%. Hieronder ter verduidelijking een figuur met data uit een vergelijkbare studie met dit soort influenzavirussen (██████████).

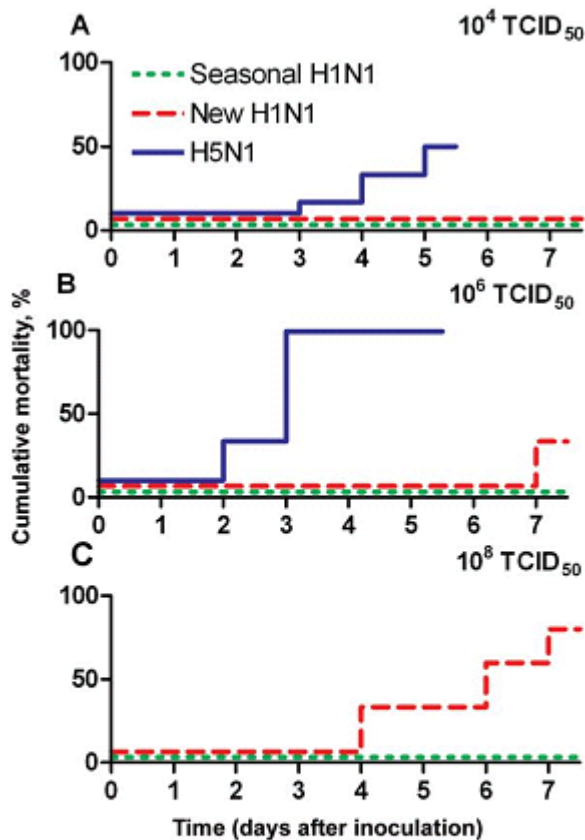


Figure 1. Cumulative mortality rates of ferrets inoculated with different influenza viruses. Ferrets were intratracheally inoculated with seasonal H1N1 ($n = 3$), new H1N1 ($n = 6$), or highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1 ($n = 6$) influenza viruses at a dose of 10^4 (A), 10^6 (B), or 10^8 (C) median tissue culture infective dose (TCID₅₀). Cumulative mortality for new H1N1 virus was intermediate between that for seasonal H1N1 virus and that for HPAI H5N1 virus.

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.

Het cumulatieve ongerief voor deze experimenten wordt ingeschaald op matig voor laag pathogene seizoens influenza virussen en ernstig voor hoog pathogene (mogelijk pandemische) influenza virussen.

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.

De gemiddelde benodigde hoeveelheid antiserum is niet te verkrijgen door bloedafname, maar dient te gebeuren door middel van verbloeden.

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



> 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

AVD905002015149

12 OKT 2015

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Op 21 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten" met aanvraagnummer AVD905002015149. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 2 oktober 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld. Er is een nieuwe NTS verstuurd, de samenhang tussen de verschillende Bijlagen Dierproeven is verder uitgewerkt en de dosisbepaling bij Dierproef 1 is benoemd.

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. U kunt met uw project "Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten" starten. De vergunning wordt afgegeven van 12 oktober 2015 tot en met 1 september 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 [REDACTED] 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. 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 12 oktober 2015 tot en met 1 september 2020, voor het project "Onderzoek naar nieuwe en bevestiging van reeds uitgeteste influenza virussen in fretten" met aanvraagnummer AVD905002015149, 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 21 september 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 21 september 2015;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 oktober 2015;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 9 september 2015, ontvangen op 21 september 2015.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 2 oktober 2015

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Antiserum productie na infectie met influenza virus	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / mannelijk; 6-18 maanden	[REDACTED]	Ernstig / severe	Laag pathogeen: Matig ongerief; Hoog pathogeen: Ernstig ongerief
Dose-finding van een nog niet uitgetest influenza virus	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / 6-18 maanden	[REDACTED]	Ernstig / severe	Laag pathogeen: Matig ongerief; Hoog pathogeen: Ernstig ongerief
Dose-confirmation van een reeds uitgetest influenza virus	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / 6-18 maanden	[REDACTED]	Ernstig / severe	Laag pathogeen: Matig ongerief; Hoog pathogeen: Ernstig ongerief

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 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.

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.