

		Inventaris Wob-verzoek W17-05								
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.		document NTS nr 2015161	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1		Aanvraagformulier				x		x	x	
2		NTS	x							
3		Projectvoorstel				x	x		x	
4		Bijlage beschrijving dierproeven 1				x	x		x	
5		Bijlage beschrijving dierproeven 2				x	x		x	
6		Bijlage beschrijving dierproeven 3				x	x		x	
7		Bijlage beschrijving dierproeven 4				x	x		x	
8		Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x	
9		Antwoord op verzoek om aanvullende informatie				x	x	x	x	
10		Ontvangstbevestiging				x		x	x	
11		DEC advies				x		x	x	
12		adviesnota CCD		x						x
13		Beschikking				x		x	x	

04 NOV. 2015



Centrale Commissie Dierproeven

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>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 90500 <u>1161</u> ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																								
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Naam instelling of organisatie</td> <td colspan="2">BioXpert B.V.</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>54838134</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Nistelrooise Baan</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td colspan="2"></td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>5374RE</td> <td>Schaijk</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td colspan="2">NL72RABO0183605888</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td colspan="2">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	Schaijk	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	Schaijk																								
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 border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">Viroclinics Biosciences B.V.</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	Viroclinics Biosciences B.V.		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]										
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	☒ Dhr. ☐ Mw.																								
Functie	[REDACTED]																									
Afdeling	Viroclinics Biosciences B.V.																									
Telefoonnummer	[REDACTED]																									
E-mailadres	[REDACTED]																									
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">Viroclinics Biosciences B.V.</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">[REDACTED]</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	Viroclinics Biosciences B.V.		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]										
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	☒ Dhr. ☐ 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 | | ☒ Dhr. ☐ Mw. |
| Functie | | |
| Afdeling | Scientific Support | |
| Telefoonnummer | | |
| E-mailadres | | |
- 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 - 2018 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Preclinical model development for HRSV in ferrets
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Ontwikkeling van een preklinisch model voor onderzoek naar en testen van behandelings- en beschermingsstrategieën tegen Humaan Respiratoir Syncytieel Virus (HRSV) in fretten
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--|
| Naam DEC | |
| Postadres | |
| E-mailadres | |

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.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☒ Na ontvangst van de factuur
- 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.*

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	
Functie	Vergunninghouder
Plaats	Schaijk
Datum	3 - 7 - 2015
Handtekening	



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: 3 november 2015

Betreft: Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD905002015161

Geachte heer / mevrouw,

Bijgaand de getekende aanvraag Projectvergunning Dierproeven AVD905002015161 met als titel:

Preclinical model development for HRSV in ferrets.

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

Met vriendelijke groet,

[Redacted signature]



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 Provide the title of the project.

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- ☒ Basic research
- ☒ Translational or applied research
- ☐ Regulatory use or routine production
- ☐ Research into environmental protection in the interest of human or
- ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- ☐ Higher education or training
- ☐ Forensic enquiries
- ☐ Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

In the context of the development of vaccine and antiviral formulations against human respiratory syncytial virus (HRSV), the applicant is aiming to establish a preclinical model that allows efficacy testing of these formulations. Once established, these models are subsequently made available to third parties (pharmaceutical companies, academia) to test newly developed vaccines and/or antiviral formulations.

These parties use the expertise of the applicant to select the relevant preclinical model that allows appropriate testing of their preparations.

HRSV infection and disease

Lower respiratory tract infections (LRTI) continue to be a major cause of death globally. Human respiratory syncytial virus (HRSV) plays an important role in LRTI mortality. It is estimated that about 40 million LRTI cases are associated with HRSV infections in the lower airways, of which more than 3 million require hospitalization. Annually, about 200,000 children below the age of 5 succumb to this infection, mainly in developing countries (██████████). WHO estimates global RSV disease burden to 64 million cases and 160,000 deaths every year (WHO, 2009). This makes HRSV the most important viral cause of severe LRTI in young children.

Like many other respiratory viruses, the incidence of HRSV shows seasonal fluctuations and peaks during winter in the northern and southern hemispheres or during the rainy season in tropical areas (██████████). HRSV is easily transmitted from one person to another, especially in conditions where people gather close together such as in day care centres, hospitals or nursing homes (██████████). At the age of two, the majority of children have at least been infected once with HRSV, not only because young children are susceptible, but also because immunity is short-lived. HRSV infection is the leading cause of hospitalization for children two to six months of age. The majority of HRSV infections remains confined to the upper respiratory tract, causing only common cold like symptoms. However, when the virus spreads to the lower respiratory tract it causes serious disease in up to 2% of them.

A number of groups have been identified that are at risk for developing LRTI upon infection with HRSV. These include premature newborns, young children with congenital heart and bronchopulmonary disease, immunocompromised people and the elderly. HRSV outbreaks are seen regularly in nursing homes. HRSV infection of immunocompromised people can result in persistent infection and ultimately even death. About 60 to 80% of bone marrow transplant patients do not survive HRSV induced pneumonia (██████████).

Since its identification in 1956, much effort has been made to reduce the global disease burden of HRSV. One of the major results has been the generation of a monoclonal antibody preparation that was shown to reduce hospitalization rates significantly upon prophylactic treatment of (prematurely born) children at risk of developing LRTI (██████████), but does not suppress the burden of disease in people with no apparent risk factors (██████████). Despite numerous attempts, there is currently no licensed HRSV vaccine available. Also, there is no proven effective standard of treatment of infected subjects with severe LRTI and support is mainly palliative.

HRSV animal models

Currently, the best available small animal model for HRSV is considered the cotton rat (*Sigmodon hispidus*). In this model we have performed several successful studies. HRSV infected cotton rats, however, do not exhibit clinical signs of infection as they are known in humans (congested or runny nose, (dry) cough, low-grade fever). Furthermore, handling of cotton rats can be difficult and adult males need to be housed separately to prevent fighting. Another drawback of the cotton rat model is the limited availability of reagents for analysis purposes. Furthermore, transmission of HRSV between animals through direct contact could not be demonstrated in our experiments, while the virus is very contagious and easily transmitted between humans.

Mice are relatively insusceptible to HRSV infection, generally requiring 100-1000 times higher challenge doses compared to cotton rats in order to become productively infected. Not only does this not reflect physiologically relevant dosages, even at this dose the mouse model does not develop clinical signs of HRSV infection. African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) are considered to be the best nonhuman primate model (apart from chimpanzees, but these are not allowed to be used for research purposes by law), but this model has obvious ethical drawbacks. Also, their permissiveness to HRSV infection makes it difficult to obtain HRSV seronegative animals. Working with large numbers is difficult for both financial as well as housing reasons as they require specific housing conditions.

The ferret as an animal model for respiratory infections and disease

Ferrets (*Mustela putorius furo*) may offer new and previously unavailable means to study HRSV in vivo. Ferrets are considered the best preclinical/animal model for influenza research because of similar respiratory airways as in humans. Furthermore, ferrets develop clinical signs upon infection with influenza like cold-like symptoms (██████████). Also, models for transmission (██████████) and immunocompromised subjects have been developed for ferrets (██████████). Use of these models can provide new means to study (prevention and treatment of) HRSV infection. Previous studies have shown that both young as well as adult ferrets can be infected with HRSV (██████████), but times have

changed and so have housing, feeding and anaesthetics but most importantly the availability of more (clinically) relevant HRSV strains offers possibilities to conduct more clinically relevant preclinical studies. HRSV strains commonly used for infection studies in animal models are often so-called laboratory adapted strains that have an attenuated phenotype in vivo due to adaptive mutations acquired during serial passaging on cell lines. Since the source of the HRSV challenge stock used in the first infection studies in the 1970s cannot be traced, it is very likely that these have been laboratory adapted.

Recently, we showed that adult ferrets (one year of age) can be productively infected via the intranasal and intratracheal routes using a primary HRSV isolate for challenge. The replication kinetics were shown to closely resemble those known for HRSV infection of man. In addition, using an established ferret model for immunocompromised patients (██████████), it was shown that ferrets in which the immune system is impaired, prolonged virus shedding is observed, similar to HRSV infected patient groups in which immunity is impaired (██████████), who are typically at risk of developing respiratory complications upon RSV infection. The availability of the above mentioned ferret models to study transmission and infection in immunocompromised hosts renders the ferret a promising new model to study HRSV infection that may enable research and preclinical testing opportunities not available in other model systems for HRSV infection.

Therapeutic treatment

In the same ferret study, it was shown that the only currently available prophylactic treatment to reduce the impact of HRSV infection in the neonatal target groups, Palivizumab (██████████), could reduce and delay virus replication in a short term treatment schedule. Ribavirin has shown promising activity against RSV in vitro and in vivo. This drug when delivered by aerosol reduces the amount of RSV in lung tissues of experimentally infected cotton rats (██████████) and appears to ameliorate human infection with particularly striking improvement in arterial oxygen pressures in infected infants (██████████). However, subjective improvement is often subtle (██████████). Combination of ribavirin with another agent particularly IVIG, might provide improved protection against RSV infection. This combination has been utilized in immunocompromised patients with severe RSV disease, including hematopoietic stem cell and lung transplant recipients. This treatment combination was associated with decreased mortality in these patients (██████████). Cotton rat models have demonstrated decreased lung viral titers after combination treatment with IVIG and ribavirin, as compared to treatment with placebo or either agent alone (██████████).

Vaccine-induced enhanced disease

In clinical studies performed in the 1960's (██████████), children vaccinated with a vaccine preparation inactivated by formalin treatment, were shown to be more vulnerable to develop LRTD than those vaccinated with a control preparation, resulting in hospitalization rates of up to 80% in vaccinees and two fatalities. The experience with the formalin-inactivated RSV (FI-RSV) vaccine was of consequence primarily because atypical disease was observed in a significant number of seronegative infants on subsequent exposure to virus. This specific atypical HRSV disease was subsequently coined vaccine-induced enhanced disease. Speculation on the mechanism of disease potentiation by the inactivated RSV vaccine has centred on several possible aberrations of the immune response to vaccine that involve an imbalance between or within various compartments of the immune system. Nonetheless, immunological analysis of sera and peripheral mononuclear cells from the FI-RSV vaccine recipients and studies in rodents supported the notion that type 2 (TH2) helper T-cell responses were involved. Hence, the prevailing hypothesis is that inactivated non-replicating or subunit vaccines that induce primarily TH2 helper T-cell responses are contraindicated as vaccines for RSV.

Development of a ferret model for HRSV infection and disease

The studies described in this project proposal are aimed to further develop the HRSV/ferret model: First, studies will be performed to establish optimal administration dose, route and infection kinetics of a clinically relevant, recent HRSV strain in healthy and immunocompromised ferrets (to allow future testing of intervention strategies in specific target groups).

Having established the above parameters, the following studies are performed to a) establish the HRSV/ferret model to study treatment options of HRSV infected subjects using healthy and immunocompromised ferrets and b) to determine FI-RSV vaccine induced enhanced disease in ferrets to establish a model to study the safety profile of newly developed candidate vaccines, as these vaccines will have to be tested to demonstrate they will not induce this severe adverse effect.

Upon completion of the studies described in the project, a preclinical model for HRSV infection and disease has been established that allows assessment of prophylactic and therapeutic antiviral intervention strategies in settings that are not available in rodent animal models currently in use. As the

ferret's respiratory organs and tissues more closely resemble those in man than those of rodents, the context in which these studies can be performed gains relevance in this new preclinical model. Furthermore, observations of clinical signs and transmission of the virus from infected to naïve animals allows testing of new intervention strategies aimed at prevention/reduction of transmission – a strategy that has remained unexplored for HRSV. In addition, the establishment of the HRSV infection model in immunocompromised ferrets allows assessment of intervention strategies specifically for high risk patient groups in which the immune system is in one way or the other not working optimally, i.e. in premature newborns, young children with congenital heart and bronchopulmonary disease, immunocompromised people (i.e. transplant recipients, those treated for autoimmune diseases, etc.) and the elderly.

This new and relevant preclinical model for HRSV infection will subsequently be made available for pharmaceutical companies to test newly developed HRSV specific intervention strategies (antivirals, antibody preparations, vaccines) and also for academic institutions that wish to address scientific issues in this model.

3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
- If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?

The objective of the studies described in this project proposal is to establish the ferret as a preclinical model for HRSV infection that can be used to assess the potential of HRSV specific antiviral intervention strategies in general as well as for specific target groups.

In order to achieve this objective, the following needs were identified for which the specific studies were designed:

- Determination of optimal infectious dose of a clinically relevant HRSV isolate in healthy and immunocompromised ferrets
This is achieved in study 1. In a previous study, both healthy and immunocompromised ferrets were shown to be susceptible to the HRSV isolate that will be used in these studies.
- Establish a clinical scoring system for healthy and immunocompromised ferrets.
This is achieved in study 1. The previous study in these animals using the same HRSV isolate clinical signs were observed in individual animals. Close monitoring of groups of animals infected with a dose range of HRSV will result in an elaborate set of clinical data.
- Assessment of HRSV transmission in healthy and immunocompromised ferrets.
As clinical signs (sneezing) were observed in individual animals in the previous study, this suggests a potential for transmission. An experimental setup involving infected and naïve ferrets in study 1 allows proper assessment of transmission in this animal model.
- Determination of the virus replication and dissemination kinetics in healthy and immunocompromised ferrets.
Since the preliminary study showed healthy and immunocompromised ferrets were susceptible to HRSV infection, this objective is achieved by studying the time-course of infection in these animals in study 2.
- Assessment of therapeutic treatment of HRSV infection in ferrets.
The preliminary study showed an inhibitory effect of Synagis (a registered antibody preparation used for HRSV prophylaxis in newborn target groups) on HRSV replication in ferrets. This objective will be achieved in study 3 which will assess efficacy of the treatment regimen currently most often used to treat HRSV infections, a combination of IVIG and ribavirin.
- Assessment of enhanced disease after vaccination with formalin-inactivated (FI) HRSV vaccines
As the preliminary study showed ferrets to be susceptible to the HRSV isolate to be used, including similar pathological effects as seen in humans, this objective will be achieved in study 4 in which the extent of enhanced disease is determined by infecting vaccinated animals with HRSV and assessing virus loads, pathology and potential clinical signs.

These studies are performed by the applicant to fill a gap in the availability of preclinical models of HRSV that enable testing of antiviral intervention strategies that are being developed by third parties. The expertise of the applicant in HRSV research both in in vitro as well as in in vivo systems has resulted in publications in peer-reviewed journals and presentations at international symposia. This expertise will enable the establishment of the proposed preclinical model of HRSV that will facilitate the development of

new and/or improved antiviral intervention strategies.

3.3 Relevance

What is the scientific and/or social relevance of the objectives described above?

Global burden

HRSV infections are responsible for a significant global disease burden, as it is estimated that about 40 million LRTI cases are associated with HRSV infections in the lower airways, of which more than 3 million require hospitalization. Annually, about 200.000 children below the age of 5 succumb to this infection, mainly in developing countries (██████████). WHO estimates the global RSV disease burden to 64 million cases and 160000 deaths every year (WHO, 2009).

HRSV infections induce no complete immunity and reinfections are common and occur regularly throughout life. In healthy adults the symptoms are mild (congested or runny nose, (dry) cough, low-grade fever) and the infection remains localized to the upper airways. In young children, elderly and immunocompromised people infections with HRSV can spread to the lower airways, inducing more severe clinical symptoms (fever, severe cough, wheezing, rapid of difficulty breathing). In children these episodes are associated with induction of chronic airway disorders such as asthma and recurrent wheezing. These cases also have an economic impact since these severe cases result in absenteeism of affected parents.

Need for vaccines and antiviral compounds

New antiviral compounds for treatment of HRSV (disease) and vaccine(s) that are able to provide prophylaxis for all concerned target groups mentioned above, are necessary to reduce morbidity and mortality in these risk groups and to reduce the economic impact associated with HRSV infection and disease.

Gap: lack of an animal model for clinical disease, transmission and immunocompromised hosts

The establishment and further development of the ferret models that are the subject of this project proposal will subsequently be made available to pharmaceutical companies to help support the development of these new and improved treatment options by allowing assessment of efficacy and safety profiles in a preclinical setting. Furthermore, academic institutions that wish to address scientific issues in this model will be involved in collaborative efforts to pursue these issues.

The establishment of the ferret/HRSV model would provide additional features in preclinical testing studies that are difficult or even impossible to perform in currently available animal models of HRSV infection. As the ferret's respiratory organs and tissues more closely resemble those in man than those of rodents, the context in which these studies can be performed gains relevance in this new preclinical model. Furthermore, observations of clinical signs and transmission of the virus from infected to naïve animals allows testing of new intervention strategies aimed at prevention/reduction of transmission – a strategy that has remained unexplored for HRSV. In addition, the establishment of the HRSV infection model in immunocompromised ferrets allows assessment of intervention strategies specifically for high risk patient groups in which the immune system is in one way or the other not working optimally, i.e. in premature newborns, young children with congenital heart and bronchopulmonary disease, immunocompromised people (i.e. transplant recipients, those treated for autoimmune diseases, etc.) and the elderly. These features are not available in animal models currently in use, are considered important for the development of future intervention strategies, and have been identified as a programmatic gap (██████████).

3.4 Research strategy

3.4.1 Provide an overview of the overall design of the project (strategy).

The purpose of the studies described in this project proposal is to establish the ferret as a preclinical model for HRSV infection of that can be used to assess the potential of HRSV specific antiviral intervention strategies. In a study we recently performed it was shown that ferrets can be infected with HRSV. Infection of healthy animals resulted in virus replication kinetics similar to those in cotton rats, which were tested in parallel and are currently considered the standard preclinical model to study HRSV prophylactic treatments. In addition, in a ferret model for immune deficiency, extended replication was observed.

The current proposal builds on that study to establish the ferret/HRSV infection and disease model

through a series of studies (1 to 4) that together fulfill the requirements for the establishment of an HRSV preclinical model that enables studies into prevention and treatment (i.e. intervention) strategies against HRSV infections in general and in high-risk target groups in particular (immunodeficient populations).

Therefore, to establish this preclinical model the studies are performed on both healthy and immunocompromised ferrets. The former to set up a general preclinical model for HRSV infection, the latter represent specific high risk groups for HRSV infection for which no specific model is available: premature newborns, young children with congenital heart and bronchopulmonary disease, immunocompromised people (i.e. transplant recipients, those treated for autoimmune diseases, etc.) and the elderly.

Study 1

- Determine the optimal challenge dose of a clinically relevant HRSV isolate
 - Intranasally: simulation of natural route of infection through respiratory tissues in the nose. Future challenge route for efficacy studies of vaccine preparations.
 - Intratracheally: simulation of natural route of infection through respiratory tissues in the lower airways. Future challenge route for efficacy studies of antiviral compounds that target the lung, specific antibody preparations, etc.
- Develop a clinical scoring system to be used for future efficacy studies for treatment options, may also be used to fine tune humane endpoints for future use.
- Assessment of the potential of transmission to allow future studies aimed at prevention/intervention of transmission.

Study 2

- Assess the time-course of HRSV infection to determine the optimal end point for future anti-HRSV treatment studies (based on virological and/or pathological parameters)

Study 3

- Assess the potential to study therapeutic treatment strategies
Designed to reflect the treatment currently mostly used in clinical settings, a combination of a polyclonal anti-RSV antibody preparation (IVIG) and the antiviral Ribavirin. Its efficacy will be tested with the optimal dose determined in study 1.

Study 4

- Assess extent of vaccine-induced enhanced disease, a severe adverse effect shown to be induced in clinical studies in the 1960s
Reproduce these findings in the ferret to allow safety testing of future vaccine preparations by assessing the risk of vaccine-induced enhanced disease in a preclinical model.

Taken together, the above studies are aimed to establish the ferret/HRSV model as an asset to currently available models that allows preclinical testing of HRSV specific antiviral intervention strategies in contexts that are currently not available.

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

1. Dose Finding, clinical signs and transmission of HRSV in ferrets
Animal procedures: weighing, intraperitoneal implantation of data loggers under anaesthesia and using analgesia, oral administration of immune suppressants and antibiotics, sampling of blood, nose and throat under anaesthesia, intranasal or intratracheal challenge infection under anaesthesia, co-habitation of naïve and infected animals, euthanasia, necropsy for pathological assessment and collection of organs and tissues.
2. Time Course of HRSV infection in Ferrets
Animal procedures: weighing, intraperitoneal implantation of data loggers under anaesthesia and

using analgesia (optional), oral administration of immune suppressants and antibiotics, sampling of blood, nose and throat under anaesthesia, intranasal or intratracheal challenge infection under anaesthesia, euthanasia, necropsy for pathological assessment and collection of organs and tissues.

3. Assessment of therapeutic treatment of HRSV infection in ferrets
Animal procedures: weighing, intraperitoneal implantation of data loggers under anaesthesia and using analgesia (optional), oral administration of ribavirin or PBS, administration of IVIG, sampling of blood, nose and throat under anaesthesia, intranasal or intratracheal challenge infection under anaesthesia, euthanasia, necropsy for pathological assessment and collection of organs and tissues.
4. Assessment of enhanced disease after vaccination with formalin-inactivated (FI) HRSV vaccines
Animal procedures: weighing, intraperitoneal implantation of data loggers under anaesthesia and using analgesia (optional), i.m. administration of FI-vaccine, sampling of blood, nose and throat under anaesthesia, intranasal or intratracheal challenge infection under anaesthesia, bronchoalveolar lavage (BAL), euthanasia, necropsy for pathological assessment and collection of organs and tissues.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points.

1. Dose Finding, clinical signs and transmission of HRSV in ferrets
 - This component identifies optimal doses for HRSV infection of healthy and immunocompromised ferrets for the intranasal and intratracheal administration routes, which will be used for studies **2**, **3** and **4** (selection points).
 - Furthermore, it will result in a clinical scoring system for HRSV induced clinical signs in infected healthy and immunocompromised ferrets, which will be used for studies **2**, **3** and **4**. If HRSV infection does not result in temperature changes that deviate from normal, subsequent studies 2 and 3 will not require use of data loggers (selection point).
 - Also, it allows evaluation of an important feature currently not available in other preclinical HRSV models: transmission of infection. Establishment of transmission would allow for new HRSV intervention methods to be tested in future studies which would be a unique feature currently not available in other preclinical models.
 - Finally, it allows generation of a homologous IVIG preparation that can be used to test efficacy of this treatment regimen in combination with an antiviral in study **3**. A homologous preparation is preferred since human antibody preparation have a limited half life in ferrets.
2. Time Course of HRSV infection in Ferrets
This component identifies the optimal end points for histopathological analysis of infected healthy and immunocompromised ferrets, which will be used for studies **3** and **4**, but will also be used for future preclinical studies aimed at testing new HRSV intervention strategies. The optimal challenge doses to be used for this study will be selected based on the results of study **1**.
3. Assessment of therapeutic treatment of HRSV infection in ferrets
This component determines the efficacy of the most commonly used treatment regimen against HRSV in hospitalized risk groups and helps to establish the ferret model of HRSV disease in which new treatment options can be assessed in future studies. The optimal challenge doses and endpoint to be used for this study will be selected based on the results of study **1** and **2**.
4. Assessment of enhanced disease after vaccination with formalin-inactivated (FI) HRSV vaccines
This component assesses the occurrence and extent of FI-HRSV vaccine induced enhanced disease in the ferret model, which will allow assessment of the safety profile of newly developed HRSV vaccines in this preclinical model. The optimal challenge doses and endpoint to be used for

this study will be selected based on the results of study **1** and **2**.

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	Dose Finding, clinical signs and transmission of HRSV in ferrets
2	Time Course of HRSV infection in Ferrets
3	Assessment of therapeutic treatment of HRSV infection in ferrets
4	Assessment of enhanced disease after vaccination with formalin-inactivated (FI) HRSV vaccines
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Appendix 1

Dose finding and Transmission of HRSV in ferrets

Group	No.	Immune status	Titer	Infection route	Day							
					D -18	D-4	D- 3 to -1	D0	D1 to 3	D4 to 9	D10 to 20	D21
1	■	Healthy	10-3	IN	DL, B, A	-	-	IN	NS/TS	NS/TS	NS/TS	NS/TS, B, N
2	■	Healthy	10-4	IN	DL, B, A	-	-	IN	NS/TS	NS/TS	NS/TS	NS/TS, B, N
3	■	Healthy	10-5	IN	DL, B, A	-	-	IN	NS/TS	NS/TS, T	NS/TS	NS/TS, B, N
4	■	Healthy	10-3	IT	DL, B, A	-	-	IT	NS/TS	NS/TS	NS/TS	NS/TS, B, N
5	■	Healthy	10-4	IT	DL, B, A	-	-	IT	NS/TS	NS/TS	NS/TS	NS/TS, B, N
6	■	Healthy	10-5	IT	DL, B, A	-	-	IT	NS/TS	NS/TS, T	NS/TS	NS/TS, B, N
7	■	IC	10-3	IN	DL, B, A	AB	IM	IM, IN	IM, NS/TS	IM, NS/TS	IM, NS/TS	NS/TS, B, N
8	■	IC	10-4	IN	DL, B, A	AB	IM	IM, IN	IM, NS/TS	IM, NS/TS	IM, NS/TS	NS/TS, B, N
9	■	IC	10-5	IN	DL, B, A	AB	IM	IM, IN	IM, NS/TS	IM, NS/TS, T	IM, NS/TS	NS/TS, B, N
10	■	IC	10-3	IT	DL, B, A	AB	IM	IM, IT	IM, NS/TS	IM, NS/TS	IM, NS/TS	NS/TS, B, N
11	■	IC	10-4	IT	DL, B, A	AB	IM	IM, IT	IM, NS/TS	IM, NS/TS	IM, NS/TS	NS/TS, B, N
12	■	IC	10-5	IT	DL, B, A	AB	IM	IM, IT	IM, NS/TS	IM, NS/TS, T	IM, NS/TS	NS/TS, B, N

Transmissior					D-18
	13	■	Healthy	-	DL, B, A
	14	■	Healthy	-	DL, B, A
	15	■	IC	-	DL, B, A
	16	■	IC	-	DL, B, A

D -4		D -3 to -1	D0 to 5 (Transmission)	D6 to 20	D21
			T, NS/TS	NS/TS	NS/TS, B, N
			T, NS/TS	NS/TS	NS/TS, B, N
AB		IM	T, IM, NS/TS	IM, NS/TS	NS/TS, B, N
AB		IM	T, IM, NS/TS	IM, NS/TS	NS/TS, B, N

Abbreviations:

IC: Immune Compromised; DL: Data logger implantation; W: weight; IM: administration immune suppressants and antibiotics; AB: Antibiotics;

IN/IT: intranasal / intratracheal challenge; NS: nose swab; TS: Throat Swab; B: blood; N: necropsie; A: Analgesia; T: Healthy animals housed with inoculated animal (1:1)

Transmission: In this study, ■ recipient animals (groups 13 - 16) will be housed together 1:1 with ■ donor animals that will be taken from groups 3, 9, 6 and 12, respectively.

After co-habitation, the donor animals will be returned to their respective groups.

On Day -18 and from Day 0 (Day -4 for IC animals) animals will be weighed and checked on a daily basis.

Appendix 2**Time Course of HRSV in ferrets**

Group	No.	Immune status	infection route	Titer	Day											
					D -18	D-4	D-3 to D-1	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
1	■	Healthy	IN	T.B.D.	DL	B		IN		NS/TS, B ,N						
2	■	Healthy	IN	T.B.D.	DL	B		IN				NS/TS, B ,N				
3	■	Healthy	IN	T.B.D.	DL	B		IN						NS/TS, B ,N		
4	■	Healthy	IN	T.B.D.	DL	B		IN								NS/TS, B ,N
5	■	Healthy	IT	T.B.D.	DL	B		IT		NS/TS, B ,N						
6	■	Healthy	IT	T.B.D.	DL	B		IT				NS/TS, B ,N				
7	■	Healthy	IT	T.B.D.	DL	B		IT						NS/TS, B ,N		
8	■	Healthy	IT	T.B.D.	DL	B		IT								NS/TS, B ,N
9	■	IC	IN	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IN	IM	NS/TS, B ,N						
10	■	IC	IN	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IN	IM	IM	IM	NS/TS, B ,N				
11	■	IC	IN	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IN	IM	IM	IM	IM	IM	NS/TS, B ,N		
12	■	IC	IN	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IN	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	NS/TS, B ,N
13	■	IC	IT	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IT	IM	NS/TS, B ,N						
14	■	IC	IT	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IT	IM	IM	IM	NS/TS, B ,N				
15	■	IC	IT	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IT	IM	IM	IM	IM	IM	NS/TS, B ,N		
16	■	IC	IT	T.B.D.	DL	AB	IM	IM, IT	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	NS/TS, B ,N
17	■	Control	IN	T.B.D.	DL	B		V								NS/TS, B ,N
18	■	Control	IT	T.B.D.	DL	B		V								NS/TS, B ,N

Abbreviations:

W: weight; IM: administration immune suppressants and antibiotics; AB: administration antibiotics; IN/IT: intranasal / intratracheal challenge; NS: nose swab; TS: Throat Swab; B: blood;

DL: Data logger implantation (grey: optional); N: necropsy; IN: intranasal; IT: intratracheal; V: IN/IT vehicle; T.B.D.: to be determined (in the dose-finding study)

Healthy animals will be weight on Day -4 and from Day 0 daily. IC animals will be weighed from D-4 daily

Appendix 3

RSV Challenge, treatment & Sampling Schedule							
		RSV Challenge, treatment & Sampling Schedule*					
Group	No.	d -X**	d 0	d X	d X'	d X'-X''	d X'''
1	■	B, TS,W	Intranasal and /or intratracheal challenge with RSV K1454***	CS and W	Ribavirin	IVIG	CS, W, S,T, LW, necropsy
2	■	B, TS,W		CS and W	PBS	PBS	
HOUSING		NORMAL					

* Ferrets seronegative for Aleutian Disease and RSV will be brought into the animal facility (standard housing).

** At least 14 days before day 0, temperature probes are implanted and blood is taken to determine the RSV specific serological status

*** The optimal doses will be determined in the dose finding study

d X, X', X'', and X''' are determined in the Time course study, but will not be later than 14 days after infection

Abbreviations: *d = day; B = whole blood for serum; S = throat & nose swabs; T = lung and nasal turbinate tissue; TS = temperature sensor implantation; W = body weight; LW = lung weight; CS = clinical scores; IVIG = Intraveneus immunoglobuline*

Appendix 4

RSV vaccination, challenge, & Sampling Schedule														
Group		No.	d -X**	RSV vaccination & Sampling Schedule								Challenge & Sampling Schedule		
				d 0	d 14	d 28		d 42	d 56		d 70	d 84	d X-X'	d X''
1	■	B, TS,W	CS, W, B	FI-vaccination	CS, W, B	CS, W, B	FI-vaccination	CS, W, B	CS, W, B	FI-vaccination	CS, W, B, BAL	Intranasal and /or intratracheal challenge with RSV K1454***	CS, W, B, BAL	CS, W, S,T, B, LW necropsy
2	■	B, TS,W	CS, W, B	RSV priming	CS, W, B	CS, W, B	RSV priming	CS, W, B	CS, W, B	RSV priming	CS, W, B, BAL		CS, W, B, BAL	
3	■	B, TS,W	CS, W, B	PBS	CS, W, B	CS, W, B	PBS	CS, W, B	CS, W, B	PBS	CS, W, B, BAL		CS, W, B, BAL	
HOUSING		NORMAL												

* Ferrets seronegative for Aleutian Disease and RSV will be brought into the animal facility (standard housing).

** At least 14 days before day 0, temperature probes are implanted and blood is taken to determine the RSV specific serological status

*** The optimal doses will be determined in the dose finding study

d X, X', and X'' are determined in the Time course study

Abbreviations: d = day; B = whole blood for serum; S = throat & nose swabs; T = lung and nasal turbinate tissue; TS = temperature sensor implantation; W = body weight; LW = lung weight; FI = formalin-inactivated RSV vaccine, CS= clinical scores; BAL= bronchoalveolar lavage



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert B.V.
t.a.v. [REDACTED]
Nistelrooise Baan 3
5374RE Schaijk
[Barcode]

**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
AVD905002015161

Datum 2 december 2015
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen
1

Geachte [REDACTED],

Op 4 november 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Preclinical model development for HRSV in ferrets' met aanvraagnummer AVD905002015161. 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:

Onduidelijkheden

U beschrijft in de bijlages beschrijving dierproeven het gebruik van fretten. De CCD hecht er aan dat het aantal dieren in voorraad gedood terug te dringen. Kunt u toelichten of het mogelijk is dieren van beide geslachten te gebruiken en als dit niet mogelijk is kunt u dan onderbouwen waarom het belangrijk is alleen dieren van een geslacht te gebruiken?

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. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt. Om uw aanvraag in de eerstvolgende CCD vergadering te kunnen bespreken verzoeken we u vriendelijk om uiterlijk donderdag, 3 december 2015, uw antwoord aan ons te sturen.

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.

Datum

2 december 2015

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD905002015161

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: Verzoek om aanvullende informatie voor projectaanvraag AVD905002015161: "Preclinical model development for HRSV in ferrets"

Datum: 2 december 2015

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

Met referentie naar uw verzoek om aanvullende informatie ontvangen op 2 december 2015 stuur ik u hierbij mijn antwoord op de vraag gesteld in uw schrijven.

Vraag:

U beschrijft in de bijlages beschrijving dierproeven het gebruik van fretten. De CCD hecht er aan dat het aantal dieren in voorraad gedood terug te dringen. Kunt u toelichten of het mogelijk is dieren van beide geslachten te gebruiken en als dit niet mogelijk is kunt u dan onderbouwen waarom het belangrijk is alleen dieren van een geslacht te gebruiken?

Antwoord:

Uiteraard ondersteunen wij de visie van de CCD dat het gebruik van beide geslachten in dierproeven in bepaalde gevallen kan leiden tot vermindering van het onnodig doden van surplus dieren van een bepaald geslacht. Echter voor het gebruik van bepaalde species en zeker binnen dit project waarvoor fretten worden gebruikt is er geen sprake van fokoverschot. zie de bijgevoegde brief van de leverancier van de fretten als Bijlage A). Aanvullende argumenten, zoals die uitgebreid zijn verwoord in ons bezwaar inzake project AVD905002015142 (als "16Nov2015 bezwaar CCD project AVD905002015142 final nov 17.docx" via de SFTP Dienst aangeleverd aan de CCD op 17 november, de inhoud hiervan is als Bijlage B aan deze brief toegevoegd), om niet in individuele experiment en fretten van beide geslachten te gebruiken zijn:

- Beschikbaarheid van de dieren (van een bepaald geslacht);
- Eerder uitgevoerde experimenten waarmee vergeleken dient te worden;
- Bepaalde keuze van geslacht vanuit wetenschappelijk of regelgevend oogpunt.

Bij het aanvragen van de verschillende dierproeven zal toezicht gehouden worden (door middel van toetsing van werkprotocollen inclusief de rechtvaardiging voor het geslacht bij IvD) over het gelijkwaardig gebruik van de verschillende geslachten tussen de dierproeven.

Ik hoop u hiermede voldoende te hebben geïnformeerd om de beoordeling van dit projectvoorstel af te ronden.

Met vriendelijke groeten,

[Redacted signature]

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

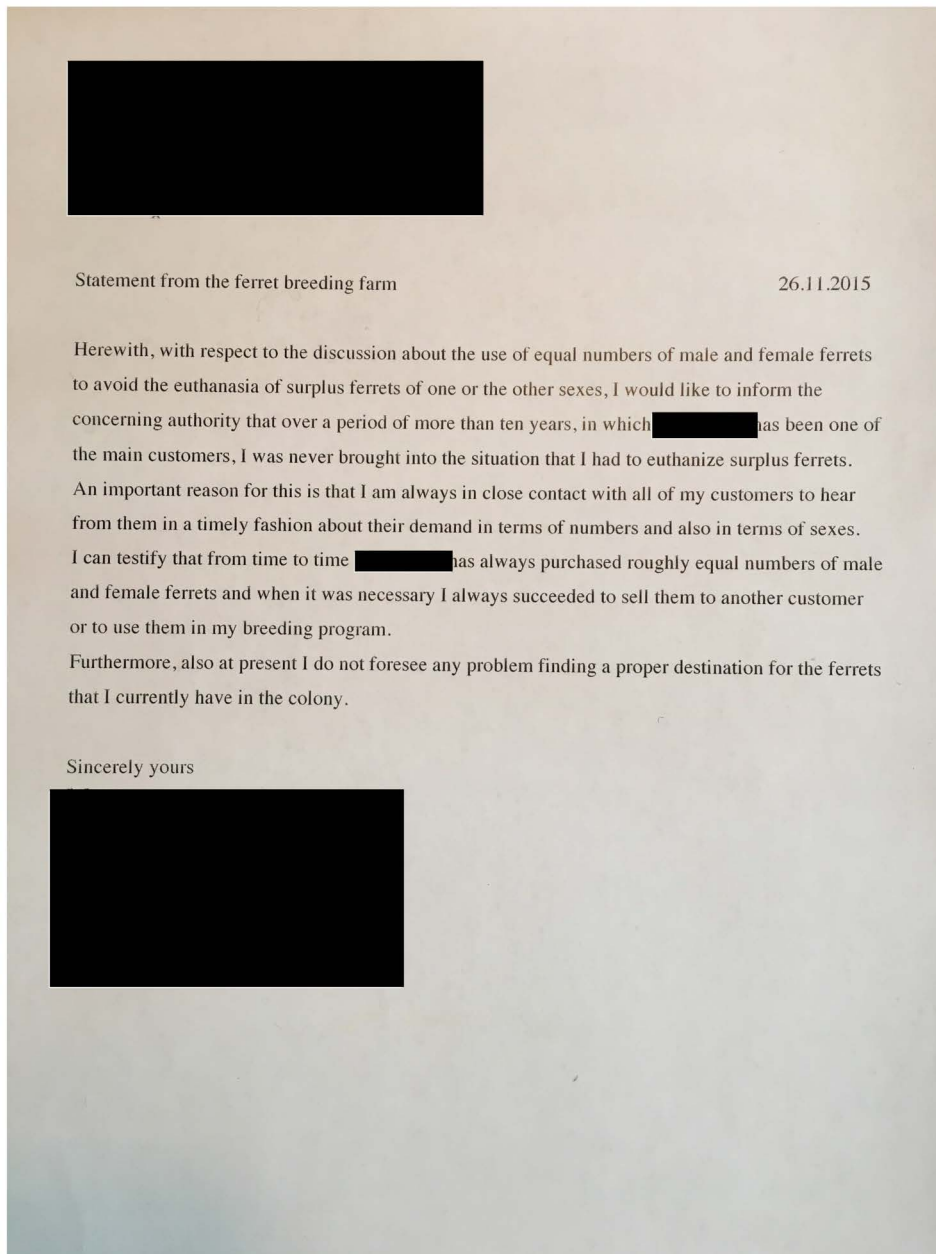
[Redacted contact information]

Bijlagen:

- A. Brief van de frettenleverancier
- B. Inhoud bezwaarschrift "16Nov2015 bezwaar CCD project AVD905002015142 final nov 17.docx"

Bijlage A

Brief van de frettenleverancier



Bijlage B

Inhoud bezwaarschrift “16Nov2015 bezwaar CCD project AVD905002015142 final nov 17.docx”

To: CCD
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Date: 16 november 2015

RE: Bezwaarschrift tegen beslissing aanvraag projectvergunning dierproeven AVD905002015142, afgegeven d.d. 2 november 2015.

Cc: [REDACTED] Viroclinics Biosciences B.V.
IvD BioXpert B.V.

Geachte leden van de Centrale Commissie Dierproeven,

Op 2 november 2015 ontvingen we uw beslissing over projectaanvraag AVD905002015142, getiteld ‘Het testen van de effectiviteit van influenza vaccins al dan niet met een adjuvans tegen infectie met influenza virus in fretten’. In uw beslissing stelt u de volgende voorwaarde:

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

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

Ten eerste betreur ik, als vergunninghouder, het feit dat er geen vragen zijn gesteld over het gebruik van beide geslachten terwijl de CCD wel andere vragen heeft gesteld bij de beoordeling van dit projectvoorstel. Daarnaast betreur ik het feit dat ondanks eerdere beloften (bijeenkomst in september van de CCD met vergunninghouders en bespreking van de CCD met 3 vergunninghouders in oktober) er geen gebruik gemaakt is van ruimte om met de vergunninghouder te overleggen over de impact van de eventueel op te leggen voorwaarde.

Uiteraard ondersteunen wij de visie van de CCD dat het gebruik van beide geslachten in dierproeven in bepaalde gevallen kan leiden tot vermindering van het onnodig doden van surplus dieren van een bepaald geslacht. Echter voor het gebruik van bepaalde species en zeker binnen dit project waarvoor fretten worden gebruikt is er geen sprake van fokoverschot. De afnemers van fretten bij deze leverancier, waartoe de aanvrager ook behoort, gebruiken allen zowel mannelijke als vrouwelijke dieren (ter informatie zie ook de bijlage waarin verschillende gepubliceerde studies zijn aangehaald met ofwel mannelijke ofwel vrouwelijke dieren). Gezien de levensduur van de dieren en de tijdspanne waarin de dieren voor experimenten gebruikt worden (6 – 24 maanden), worden er geen dieren op voorraad gedood.

Wij realiseren ons dat binnen de huidige aanvraag het geslacht van de dieren niet gedefinieerd is, echter de keuze van het geslacht zal meegenomen in de aanvraag van de verschillende dierproeven die uitgevoerd zullen worden binnen dit project en deze keuze zal ook voorgelegd en beoordeeld worden door de IvD. Hierin zullen de onderstaande overwegingen meegenomen worden, niet gerangschikt op basis van prioriteit in de overweging:

- Beschikbaarheid van de dieren (van een bepaald geslacht);
- Eerder uitgevoerde experimenten (al dan niet uitgevoerd door de aanvrager of gecommuniceerd door de opdrachtgever aan de aanvrager) waarmee vergeleken dient te worden;
- Bepaalde keuze van geslacht vanuit wetenschappelijk of regelgevend oogpunt.

Bij het aanvragen van de verschillende dierproeven zal toezicht gehouden worden (door middel van toetsing van werkprotocollen inclusief de rechtvaardiging voor het geslacht bij IvD) over het gelijkwaardig gebruik van de verschillende geslachten tussen de dierproeven.

Los van bovenstaande argumenten willen wij nog toevoegen dat voor experimenten waarbij ook inperking een belangrijke factor is (BSL klasse II of III) een logistiek probleem is in het uitvoeren van dierproeven met beide geslachten. Zoals in de bijlage benoemd zullen de experimenten onder zeer gecontroleerde omstandigheden uitgevoerd worden, waarbij bij experimenten met influenza virus altijd gebruik gemaakt wordt voor de hoogst mogelijke inschaling BSL III (en dus isolator huisvesting) in verband met aerosol transmissie tussen groepen maar ook van dieren naar onderzoekers/biotechnici. Per isolator kan maar één sexe worden gehuisvest. Om dieren die behandeld worden met verschillende preparaten met elkaar te kunnen vergelijken, dient de challenge conditie gelijk te zijn tussen de groepen. Echter, bij aparte huisvesting van mannelijke en vrouwelijke dieren is dit logistiek niet meer mogelijk en wordt een extra variabele geïntroduceerd in het experiment (zogenaamde inter-assay of inter-pen variatie) zodat de groepsgrootte zal toenemen. In het kader van vermindering proefdieren lijkt ons dat niet gewenst.

Wij verzoeken u hierbij dan ook om de beslissing van de CCD aangaande aanvraag AVD905002015142 te heroverwegen en toestemming te verlenen tot het gebruik van één en hetzelfde geslacht binnen een enkele dierproef met de opmerking dat binnen het gehele projectvoorstel (maar ook tussen verschillende projectvoorstellen) wel degelijk een gelijk gebruik (indien van toepassing op basis van beschikbaarheid) is van mannelijke en vrouwelijke dieren, echter in afzonderlijke dierproeven en niet binnen de dierproeven zelf.

Met vriendelijke groet,


Vergunninghouder BioXpert B.V.

Bijlage 1: aanvullende informatie betreffende bezwaarschrift

Bijlage 1:

Zeer recent zijn er meerdere artikelen gepubliceerd waarin het gebruik van beide geslachten geadviseerd wordt, dit onder andere om variatie tussen de geslachten in een vroeg stadium al te onderzoeken, maar ook om het onnodig doden van surplus dieren tegen te gaan.

Echter, voor de dierproeven die uitgevoerd worden binnen deze aanvraag is dit niet van toepassing. Het betreffen hier proof-of-concept studies waarin de effectiviteit van een bepaald vaccinatie regime bestudeerd wordt onder zeer gecontroleerde omstandigheden (in dit geval de uiteindelijke challenge van dieren, die gebruikt wordt om de effectiviteit van de behandeling te bestuderen). Deze gecontroleerde omstandigheden zijn in eerdere experimenten onderzocht en gevalideerd voor een groot aantal verschillende influenza virussen. Op basis van toenmalige beschikbaarheid zijn veel van deze, maar niet alle, validatie studies uitgevoerd in vrouwelijke dieren (zie hieronder verschillende gepubliceerde studies met ofwel mannelijke ofwel vrouwelijke dieren waarin deze gevalideerde modellen zijn gebruikt). Door deze validaties, welke nog uitgevoerd zijn onder de oude WoD regelgeving, is een grote historische database ontstaan met data van verschillende influenza virussen in de verschillende geslachten. Indien voor toekomstige experimenten gekozen zou worden voor het gelijkwaardig gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren zal de volledige validatie van het model opnieuw uitgevoerd dienen te worden. Aangezien de spreiding van de resultaten bij gelijkwaardig gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren niet bekend is kan op voorhand geen uitspraak gedaan worden over de benodigde groepsgrootte van dergelijke experimenten.

Voorbeeld 1 (gebruik van mannelijke dieren):

Vaccine 29 (2011) 9265–9270



Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](http://SciVerse.ScienceDirect.com)

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine



Efficacy of live attenuated vaccines against 2009 pandemic H1N1 influenza in ferrets

^a ViroClinics Biosciences B.V., Dr. Molewaterplein 50, 3015 GE, Rotterdam, The Netherlands

^b Department of Virology, Erasmus Medical Center, Dr. Molewaterplein 50, 3015 GE, Rotterdam, The Netherlands

^c Department of Virology, Institute of Experimental Medicine, 12 Acad. Pavlov Street, 197376 St Petersburg, Russia

^d Serum Institute of India Ltd, 212/2 Off Soli Poonawalla Road, Hadapsar, Pune, Maharashtra 411028, India

^e Government Pharmaceutical Organization, 75/1 Rama VI Road, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand

^f World Health Organization, 20 Av Appia, CH-1211 Geneva 27, Switzerland

2.2. Animals

Groups of six healthy outbred male ferrets (*Mustela putorius furo*), approximately 9 months of age and seronegative for antibodies against circulating influenza viruses B, A/H1N1, A/H3N2 and A/pH1N1 by hemagglutination inhibition (HI) assay were used. Two weeks prior to the start of the experiment, the animals were anesthetized using a cocktail of ketamine (Alfasan, Woerden, The Netherlands) and domitor (Orion Pharma, Espoo, Finland), and a temperature logger (DST micro-T ultra small temperature logger; Star-Oddi, Reykjavik, Iceland) was placed in their peritoneal cavity. This device recorded body temperature of the animals every 10 min. During the whole experiment the animals were maintained in negatively pressurized glovebox isolator cages, and provided with commercial food pellets and water *ad libitum*. The experimental protocol was approved before the start of the experiments by an independent institutional animal ethics committee according to Dutch law.

Voorbeeld 2 (gebruik van vrouwelijke dieren):



Pandemic H1N1 vaccine requires the use of an adjuvant to protect against challenge in naïve ferrets

^a GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium

^b ViroClinics Biosciences BV, Rotterdam, The Netherlands

^c Department of Virology, Erasmus Medical Center (MC), Rotterdam, The Netherlands

2.2. Immunization with H1N1 A/California/07/2009 split vaccine

Eight groups of six ferrets received intramuscularly one (day 21) or two vaccinations (days 0 and 21) with different formulations. Groups 2, 4 and 6 received two vaccinations with 15, 3.75 or 1.9 µg HA of AS03_A-adjuvanted H1N1 A/California/7/09 split vaccine, respectively. Groups 3 and 5 received one vaccination with 3.75 or 1.9 µg HA of AS03_A-adjuvanted H1N1 A/California/7/09 split vaccine, respectively. Finally, group 7 received two vaccinations with 1.9 µg HA of AS03_B-adjuvanted H1N1 A/California/7/09 split vaccine. The control groups 1 and 8 received two vaccinations (3 weeks interval) with 15 µg HA of the non-adjuvanted H1N1 A/California/7/09 split vaccine and two vaccinations with PBS, respectively.

For each experiment, 48 outbred female ferrets, approximately 8 months old, weighing 0.5–0.9 kg and seronegative for Aleutian disease virus, currently circulating prototype and H1N1 A/The Netherlands/602/09 influenza viruses were used for this experiment.

Voorbeeld 3 (gebruik van mannelijke dieren):

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS ONE

Intranasal H5N1 Vaccines, Adjuvanted with Chitosan Derivatives, Protect Ferrets against Highly Pathogenic Influenza Intranasal and Intratracheal Challenge

1 Retroscreen Virology, London, United Kingdom, **2** Viroclinics Biosciences BV, Rotterdam, Netherlands, **3** Archimedes Development Limited, Nottingham, United Kingdom, **4** University of Siena, Siena, Italy, **5** VisMederi LifeSciences, srl, Siena, Italy, **6** Department of Viroscience, Erasmus MC, Rotterdam, Netherlands, **7** Evicom, Teddington, United Kingdom, **8** Department of Clinical Science, University of Bergen, Bergen, Norway, **9** Department of Research and Development, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway

Ferrets & Study Procedures

Thirty-six healthy outbred male ferrets approximately 12 months of age, between 1350 g and 2575 g in weight, were purchased from a commercial breeder. Animals were housed and experiments were conducted in compliance with EU directive 86/609/EEC and Dutch legislation (Experiments on Animals Act, 1997). The protocol was approved by the independent animal experimentation ethical review committee of the Netherlands Vaccine Institute (permit number 201100332). Additional information on animal husbandry can be found in the File S1.

All ferrets tested negative for the presence of HAI antibodies against the challenge virus and recent seasonal strains of Influenza and Aleutian disease virus.

Three days prior to the first immunisation, the animals had temperature transponders implanted into the peritoneal cavity (DST micro-T ultra-small temperature logger; Star-Oddi, Reykjavik, Iceland). This device recorded the body temperature of the animals every 10 minutes. Effect of virus infection on body temperature was assessed for changes in the temperature of each ferret post inoculation. Body weights were measured at 1 and 7 days before inoculation and on 1, 2, 3, 4 and 5 days post inoculation (dpi). Serum was taken days 0, 21, 42, and 49 for hemagglutination inhibition (HAI), virus neutralization (VN), and single radial haemolysis (SRH) serology assays. Nasal and throat swabs were taken on 1, 2, 3, 4 and 5 dpi.

Voorbeeld 4 (gebruik van vrouwelijke dieren):

Vaccine 29 (2011) 2092–2099



Longevity of the protective immune response induced after vaccination with one or two doses of AS03_A-adjuvanted split H5N1 vaccine in ferrets

^a GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium

^b ViroClinics Biosciences BV, Rotterdam, The Netherlands

^c Department of Virology, Erasmus Medical Center (MC), Rotterdam, The Netherlands

^d GlaxoSmithKline Biologicals, Dresden, Germany

2.1. Animals

Forty-eight outbred female ferrets (*Mustela putorius furo*, Schimmel Farms, Uddel, The Netherlands) were used in this study. The animals were approximately 8 months old, weighed 0.8–1.5 kg at the beginning of the experiment and were serologically tested for Aleutian disease virus by using counter-immunoelectrophoresis [16] and for the presence of antibodies against circulating seasonal influenza virus strains (A/H1N1, A/H3N2 and B) and the challenge virus (H5N1 strain A/Indonesia/5/2005) by using an influenza haemagglutination inhibition (HI) assay as described before [14].

Seronegative animals were transferred into the animal facility, identified by an electronic microchip (Plexx, Elst, The Netherlands) and physically inspected on regular time points during the study.

The animals were housed in normal cages during the vaccination phase or in glove box isolator cages from the day of challenge, using sawdust as bedding. The animal facility conditions were a standard day/night light cycle (12 h/12 h), a temperature of $21 \pm 2^\circ\text{C}$ and a relative humidity of 40–60%. The animals had access to tap water and food (Hope Farms, Ferret super) *ad libitum*.

Voorbeeld 5 (gebruik van mannelijke dieren):

OPEN  ACCESS Freely available online

 **PLOS** | PATHOGENS

Prolonged Influenza Virus Shedding and Emergence of Antiviral Resistance in Immunocompromised Patients and Ferrets

1 Department of Virology, ErasmusMC, Rotterdam, The Netherlands, **2** Viroclinics Biosciences B.V., Rotterdam, The Netherlands, **3** Department of Paediatrics, ErasmusMC-Sophia, Rotterdam, The Netherlands, **4** Department of Neurology, ErasmusMC, Rotterdam, The Netherlands, **5** Department of Hospital Pharmacy, ErasmusMC, Rotterdam, The Netherlands

administered to antagonize the effect of medetomidine. All ferrets were eleven-month-old purpose-bred males (body weights between 1562 and 2362 g) and were seronegative for

Voorbeeld 6 (gebruik van vrouwelijke dieren):

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS one

New Class of Monoclonal Antibodies against Severe Influenza: Prophylactic and Therapeutic Efficacy in Ferrets

1 Cruell Holland BV, Leiden, The Netherlands, **2** ViroClinics BV, Rotterdam, The Netherlands, **3** Department of Virology, ErasmusMC, Rotterdam, The Netherlands

Animal Studies

The study was performed with outbred ferrets (*Mustela putorius furo*, female, age approximately 8 months, Schimmel Farms, Uddel, the Netherlands). Ferrets were screened for the presence of serum antibodies against Aleutian Disease virus, circulating seasonal influenza virus strains (A/H1N1, A/H3N2 and B) and the challenge virus (H5N1, A/Indonesia/5/2005), and only seronegative animals were used in the study. The animals were housed in study groups of 6 (prophylactic experiment) or 10 (therapeutic experiment).

Antibodies were administered by intravenous injection in the jugular vein. Viral challenge was performed intratracheally with 10^5 TCID₅₀ A/Indonesia/05/2005 in 3 mL of PBS [33]. Clinical observations were performed twice a day on days of intervention and once daily on other days. In the prophylactic experiment, animals were weighed 2 weeks before viral challenge (day -14), immediately prior to antibody administration (day -1), and after challenge (days 2, 4, and 5 or on the day of premature death). In



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

Nistelrooise Baan 3

5347 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
AVD905002015161

Bijlagen

2

Datum 4 november 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 3 juli 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD905002015161. 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: 5347 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: Scientitific Support
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? ☒ [x] 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 2018
Titel project: Preclinical model development for HRSV in ferrets
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van een preklinisch model voor onderzoek naar en testen van behandelings- en beschermingsstrategiën tegen Humaan Respiratoir Syncytieel Virus (HRSV) in fretten
3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (

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:

3 juli 2015



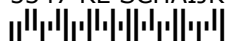
> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV



Nistelrooise Baan 3

5347 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
AVD905002015161

Bijlagen

2

Datum 4 november 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 4 november 2015

Vervaldatum: 4 december 2015

Factuurnummer: 15700161

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD905002015161	€ 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.

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: AVD905002015161
2. Titel van het project: Preclinical model development for HRSV in ferrets.
3. Titel van de NTS: Ontwikkeling van een preklinisch model voor onderzoek naar en testen van behandelings- en beschermingsstrategieën tegen Humaan Respiratoir Syncytieel Virus (HRSV) in fretten.
4. Type aanvraag:
 - X nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - X ontvangen door DEC: 3 juli 2015
 - X aanvraag compleet: 22 juli 2015
 - X in vergadering besproken: 22 juli 2015, 19 oktober 2015
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van / tot
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag
 - advies aan CCD
7. Eventueel horen van aanvrager : n.v.t.
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager

- Strekking van de vraag / vragen
- Strekking van het (de) antwoord(en)

- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag

8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 23 juli 2015.
- Strekking: completering van de aanvraag; de vragen hadden betrekking op de volgende punten:
 - o Nadere toelichting en beargumentering van de achtergronden, doelstelling, en de haalbaarheid van het project.
 - o Nadere toelichting m.b.t de achterliggende ratio en argumentatie bij de verschillende experimenten.
 - o De inschatting van het ongerief m.n. voor de immuungecompromitteerde dieren die gechallenged worden, en in verband daarmee het formuleren van heldere en scherp gestelde HEP-criteria (in het licht van de doelstelling van het experiment).
 - o Bepalen van een window of opportunity met voldoende onderscheidend vermogen voor experiment 4, zonder dat er sprake is van extra ongerief voor de dieren.
 - o Redactionele aspecten: Nader verduidelijken danwel toespitsen van diverse tekstpassages en een logische en consequente opname van tekstpassages bij de desbetreffende (sub)hoofdstukken in elk formulier. Zorgvuldig en consequent afstemmen van de tekst van de het projectvoorstel en de verschillende bijlagen onderling. Omvang en helderheid van de tekst en het taalgebruik in de NTS.

- Datum antwoord: 13 oktober 2015
- Strekking van de antwoorden: In de lijn der verwachting; aanvraag na aanpassing 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 (adviesaanvraag):

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 doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstellingen.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. Infectie met HRSV speelt wereldwijd een belangrijke rol bij ziekte en sterfte als gevolg van luchtweginfecties. Vooral bij jonge kinderen in ontwikkelingslanden is HRSV de belangrijkste oorzaak van ernstige infecties van de lagere luchtwegen. Andere risicogroepen zijn vroeggeboren kinderen en kinderen met aangeboren aandoeningen, ouderen en mensen met een verzwakt immuunsysteem. Ondanks voortdurende inspanningen is er tot nu toe nog geen goed werkzaam en veilig vaccin beschikbaar. Bij in het verleden ontwikkelde vaccins bleek de infectie bij gevaccineerden vaak ernstiger te verlopen dan bij niet gevaccineerden. Dergelijke paradoxale effecten moeten worden voorkomen. Met de tot dusverre beschikbare diermodellen is onderzoek naar dit aspect niet goed mogelijk. Een diermodel als de fret, dat overeenkomsten vertoont met mensen, met name wat betreft het klinische verloop en de symptomen van luchtweginfecties, kan daarbij uitkomst bieden. Evenmin is er een bewezen effectieve standaard behandeling voor mensen met een ernstige lagere luchtweginfectie a.g.v. HRSV. Uit recent onderzoek is gebleken dat de fret nieuwe en tot voorheen niet beschikbare mogelijkheden biedt voor het onderzoek naar HRSV in vivo. Met de experimenten in dit project wordt

beoogd het HRSV/frettenmodel verder te ontwikkelen als een preklinisch model voor HRSV. Met een dergelijk model kunnen interventiestrategieën voor specifieke doelgroepen worden getest die voorheen niet in andere diermodellen onderzocht konden worden. Hiermee kan een belangrijke bijdrage worden geleverd in het ontwikkelen van strategieën voor preventie en interventie in de toekomst.

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Bij de onderzoeksgroep bestaat voldoende expertise en ervaring voor het uitvoeren van dit type onderzoek.
5. Er is geen sprake van de bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze voor de diersoort is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. Fretten worden beschouwd als het meest geschikte preklinische diermodel vanwege de overeenkomsten met mensen wat betreft de luchtwegen, m.n. met betrekking tot de mogelijkheid tot overdracht van HRSV infectie en de klinische reactie op luchtweginfecties (zoals influenza, waar deze diersoort veel voor wordt gebruikt). Daarmee is de fret het meest geschikt om te onderzoeken of het vaccin bescherming biedt tegen de symptomen van een HRSV-infectie.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. De dieren ondergaan matig ongerief als gevolg van het onderdrukken van het immuunsysteem voor een deel van de dieren, chirurgische implantatie van data loggers, sedatie voor afname van bloed en veegmonsters uit neus en keel, toediening van behandelingen en vanwege de symptomen na infectie met RSV. De dieren worden gedurende het gehele experiment en met name na infectie intensief gecontroleerd. Dieren die het humane eindpunt (meer dan matig ongerief) bereiken worden zo spoedig mogelijk geëuthanaseerd.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. Het effect van therapieën en vaccins op de symptomen die optreden bij luchtweginfecties kan alleen effectief bestudeerd worden in een levend dier, met complete fysiologische reacties.

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. Op basis van de uitkomsten van de eerste studie voor wat betreft de optimale infectiedosis alsmede op basis van statistische berekeningen van de vereiste groepsgrootte in de verschillende experimenten, wordt voorkomen dat onnodig dieren worden gebruikt.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De dieren worden in groepen gehuisvest. De dieren worden gesedeerd voor handelingen en ingrepen en euthanasie vinden plaats onder anesthesie. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

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

Het belang van het project is vooral gelegen in het feit dat er nog geen vaccin beschikbaar is voor de veel voorkomende HRSV-infectie, die met name voor de risicogroepen met ernstige ziekteverschijnselen en sterfte gepaard kan gaan. De ontwikkeling van een diermodel in fretten biedt nieuwe mogelijkheden voor onderzoek naar HRSV, omdat met dit model ook onderzocht kan worden in hoeverre preventie- en interventiestrategieën bescherming bieden tegen de ernstige symptomen van de ziekte. Dit is vooral van belang, omdat in het verleden de ervaring is opgedaan dat een HRSV vaccin paradoxale effecten kan hebben, waardoor de aandoening ernstiger verloopt dan bij niet-gevaccineerden. Het onderzoek is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. Op termijn kan het project voordelen opleveren voor de mens. Naar het oordeel van de DEC dient het project een substantieel belang.

Tegenover dit belang staat het feit dat de dieren matig ongerief zullen ondervinden. De commissie is ervan overtuigd dat bij de dierproeven adequaat

invulling gegeven zal worden aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Het gebruik van de dieren en het daarbij optredende ongerief is naar het oordeel van de commissie onvermijdelijk, omdat het onderzoek zich richt op het ontwikkelen van een ziektemodel in fretten waarbij de symptomen van deze luchtweginfectie zoveel mogelijk overeenkomsten vertonen met die bij mensen. De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van de dieren.

De DEC is van oordeel dat het hierboven 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

X 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
5347 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
AVD905002015161

15 DEC. 2015

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte ,

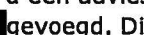
Op 3 november 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Preclinical model development for HRSV in ferrets" met aanvraagnummer AVD905002015161. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 2 december 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld. U heeft gereageerd op de vraag van de CCD over het geslacht van de te gebruiken dieren. De commissie heeft kennis genomen van uw antwoord en stemt in met uw uitleg.

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 en hieronder gemotiveerd. U kunt met uw project "Preclinical model development for HRSV in ferrets" starten. De vergunning wordt afgegeven van 15 december 2015 tot en met 1 september 2018. De looptijd van de vergunning wijkt af omdat de datum in de aanvraag in het verleden ligt. Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie  gevoegd. Dit advies is opgesteld op 19 oktober 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons grotendeels vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie grotendeels 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. De CCD stelt wel voorwaarden aan dit project. Een algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. Bovendien, in het kader van de 3 V's stelt de CCD een voorwaarde met betrekking tot go/no-go momenten.

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).

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: 5347 RE SCHAIJK
Deelnemersnummer: 90500

deze projectvergunning voor het tijdvak 15 december 2015 tot en met 1 september 2018, voor het project "Preclinical model development for HRSV in ferrets" met aanvraagnummer AVD905002015161, 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 3 november 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 3 november 2015;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 3 november 2015;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 19 oktober 2015, ontvangen op 3 november 2015.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 2 december 2015

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Dose Finding, clinical signs and transmission of HRSV in ferrets	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / 6-12 months old; seronegative for HRSV and Aleutian disease	■	Matig / moderate	
Time Course of HRSV infection in Ferrets	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / Gelijk aan dierproef 1.	■	Matig / moderate	
Assessment of therapeutic treatment of HRSV infection in ferrets	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / Gelijk aan dierproef 1.	■	Matig / moderate	
Assessment of enhanced disease after vaccination with formalin-inactivated (FI) HRSV vaccines	Fretten (<i>Mustela putorius furo</i>) / Gelijk aan dierproef 1.	■	Matig / moderate	

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 blijven 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.