

		Inventaris Wob-verzoek W17-05								
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.		document NTS nr 2015183	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1		Aanvraagformulier				x		x	x	
2		Projectvoorstel			x					
3		NTS	x							
4		Bijlage beschrijving dierproeven 1			x					
5		Bijlage beschrijving dierproeven 2			x					
6		DEC advies				x		x	x	
7		Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8		Verzoek om aanvullende informatie				x		x	x	
9		Advies CCD aan bestuur		x						x
10		Beschikking en vergunning				x		x	x	

10 DEC 2015

AUD 905 DU 2015 183



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 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen																								
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td 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>5374 RE</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	5374 RE	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	5374 RE	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><tr><td>(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">BioXpert 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	BioXpert B.V.		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]										
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	☐ Dhr. ☒ Mw.																								
Functie	[REDACTED]																									
Afdeling	BioXpert B.V.																									
Telefoonnummer	[REDACTED]																									
E-mailadres	[REDACTED]																									
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(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">BioXpert 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	BioXpert B.V.		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]										
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	☐ Dhr. ☐ Mw.																								
Functie	[REDACTED]																									
Afdeling	BioXpert 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 is 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 | 15 - 12 - 2015 |
| Einddatum | 15 - 12 - 2020 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- | |
|---|
| Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten |
|---|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- | |
|--|
| Bepalen van de veiligheid van een nieuw vaccin tegen malaria |
|--|
- 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	[Redacted]
Functie	Vergunninghouder
Plaats	Schaijk
Datum	7 - 12 - 2015
Handtekening	[Redacted]



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | | | |
|-----|--|---|
| 1.1 | Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | 90500 |
| 1.2 | Vul de naam van de instelling of organisatie in. | BioXpert B.V. |
| 1.3 | Vul de titel van het project in. | Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten |

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Meer dan een derde van de wereld populatie loopt het risico om malaria te krijgen. Elk jaar krijgen naar schatting 200 miljoen mensen malaria en sterven er meer dan een half miljoen mensen aan deze ernstige ziekte. Elke minuut sterft een kind aan de gevolgen van een malaria infectie. Naast sterfte en ziektelast heeft malaria een grote impact op de sociale en economische ontwikkeling van vooral ontwikkelingslanden. Malaria behoort derhalve tot de grootste mondiale infectieziekten.

Malaria wordt veroorzaakt door een parasiet genaamd *Plasmodium* en wordt vooral 's nachts overgebracht via beten van *Plasmodium*-geïnfecteerde muggen. Preventie is mogelijk door bescherming tegen deze muggenbeten door te slapen onder bednetten (klamboes) geïmpregneerd met een insecticide. Tevens zijn er geneesmiddelen waarmee malaria effectief kan worden behandeld. Betere inzet van deze bestaande middelen hebben de afgelopen jaren gezorgd voor een significante afname van malaria (met 30-50%) in vele gebieden maar deze trend dreigt te stagneren door resistentie van de parasiet tegen deze bestrijdingsstrategieën.

Malaria maakt nog steeds veel dodelijke slachtoffers in de grootste risico groep van vooral jonge Afrikaanse kinderen die nog geen natuurlijke afweer hebben kunnen opbouwen. Natuurlijke bescherming ontstaat namelijk pas na jaren van blootstelling en doorlopen infecties. Een werkzaam vaccin is dringend gewenst maar niet beschikbaar. Doelstelling van een vaccin is training van het afweer of wel immuun systeem opdat afdoende bescherming wordt bereikt bij een natuurlijke blootstelling aan infectie.

Beschikbaarheid van een beschermend vaccin heeft de hoogste prioriteit voor een succesvolle strijd tegen malaria. Waarschijnlijk later dit jaar wordt het eerste malaria vaccin met de naam RTS,S naar de markt gebracht na een ontwikkelingsfase van ruim twee decennia. Dit vaccin is gebaseerd op een eiwit van de parasietvorm die door muggen wordt overgebracht, de zogenaamde sporozoieten. Na RTS,S vaccinatie zijn jonge kinderen voor 30-50% beschermd gedurende een aantal maanden. Bemoedigend maar een effectiever vaccin is dringend nodig.

Een ander vaccinatiestrategie richt zich op de ontwikkeling van een sporozoieten (de asexuele parasietenvorm) vaccin, niet op basis van 1 eiwit (zoals bij RTS,S) maar door gebruik te maken van de hele sporozoiet. Deze methode is uitvoerig getest in het Controlled Human Malaria Infection Model (CHMI), waarbij vrijwilligers geïnfecteerd worden met sporozoieten middels beten van malaria muggen (*Nat. Rev Imm* 2010). Dit blijkt een effectieve en veilige methode om bescherming tegen malaria te ontwikkelen, maar een groot nadeel hiervan is dat de vrijwilligers dus worden blootgesteld aan de potentieel dodelijke malariaparasiet. Daarom worden de parasieten verzwakt of wordt een antimalariamiddel gegeven ter voorkoming van de ziekte. Deze methode naar het veld brengen is om praktische redenen moeilijk uitvoerbaar gezien de kans van een doorbraak infectie te groot is.

Wij willen daarom de veiligheid van een nieuw vaccin tegen malaria bestuderen. Dit vaccin is gebaseerd op het gebruik van genetisch gemodificeerde knaagdier parasieten (*P. berghei*) als dragers van de immunogene antigenen van de *Plasmodium* soort die de mens kan infecteren.

Meer specifiek: in deze studie zal de biodistributie en de toxiciteit /veiligheid van het experimentele vaccin bestaande uit genetisch gemodificeerde *P. berghei* parasieten die *P. falciparum* circumsporozoïte proteïne (CS) tot expressie brengt onder de controle van de *P. berghei* UIS4 promotor (Pb(PfCS@UIS4)), bepaald worden in konijnen.

De genetisch gemodificeerde knaagdier malaria parasiet (*Plasmodium berghei*) is niet pathogeen voor de mens, maar kan wel een afweer respons opwekken. Uit preklinische *in vitro*- en *in vivo* data blijkt de parasiet in staat te zijn om de humane levercel te infecteren, wat nodig is om zo een afweer respons op te wekken, zonder in staat te zijn de humane rode bloedcel te infecteren, wat normaal gesproken de klinische symptomen zou veroorzaken. De gevolgen voor de mens van de infectie van de humane levercel door *P. berghei* zijn onbekend, gezien *P. berghei* infecties nooit in mensen zijn beschreven. Niet gepubliceerde data

laten wel zien dat mensen die in het lab werken met *P. berghei* ooit gestoken zijn, zonder ziek te worden. In *P. falciparum* is de infectie van de humane levercel asymptomatisch en overeenkomstig is bij knaagdieren infectie met *P. berghei* ook asymptomatisch.

Door een eiwit (CS) van de humane *Plasmodium falciparum* (Pf) parasiet toe te voegen aan de knaagdierparasiet kan er een sterker specifiek afweer respons ontstaan tegen Pf. Deze methode zou een oplossing kunnen betekenen voor de ontwikkeling van een effectief beschermend malariavaccin te ontwikkelen, zonder de kans op doorbraakinfecties. Er is onlangs aangetoond dat er bescherming optreedt in muizen via passieve immunisaties met immuunsera van konijnen en muizen die geïmmuniseerd zijn met PbPfCS@UIS4-geïnfecteerde muggen. Deze pre-klinische efficacy studies ondersteunen de hypothese en de wetenschappelijke onderbouwing dat immunisaties met PbPfCS@UIS4 bescherming kan geven tegen malaria.

Er is in deze dierproef gekozen voor het konijn als diermodel omdat het konijn geen natuurlijke gastheer voor *P. berghei* is. De parasiet kan zich niet ontwikkelen in een konijnen erythrocyt, wat noodzakelijk is om ziekteverschijnselen te krijgen. De parasiet kan wel hepatocyten van konijnen invaderen en zich daar verder ontwikkelen wat nodig is voor het induceren van een (immuun)respons. Een konijn kan dus geen malaria ontwikkelen met het daarbij behorende ongerief, maar kan wel een (immuun)respons tegen de malariaparasieten opwekken.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

In dit project zal de biodistributie en de veiligheid van het vaccin bestaande uit genetisch gemodificeerde *P. berghei* parasieten die *P. falciparum* circumsporozoïte proteïne (CS) tot expressie brengt onder de controle van de *P. berghei* UIS4 promotor (Pb(PfCS@UIS4)), worden bepaald in konijnen.

Deze voorgestelde studie worden gedaan om informatie te verzamelen over de veiligheid en toxiciteit voor toekomstige Fase I/IIa klinische trials met dit experimentele vaccin.

De eventuele toxische effecten na herhaalde doseringen zullen worden bepaald omdat in een klinische setting meerdere immunisaties nodig zijn. De voorgestelde toedieningsroute en 'dosering'-schema komen overeen met diegene zoals gebruikt zullen worden in de kliniek. Hierbij wordt rekening gehouden met de mogelijke verschillen in de tijd voor het ontstaan van een reactie tussen dieren en mensen.

Door de richtlijn van de FDA te volgen wordt getracht een zo zorgvuldig mogelijke aanpak van het onderzoek te hebben. Door de zeer experimentele aard van deze methode en de lastig te voorspellen effecten van het vaccin, wordt er voor een zo breed mogelijk aanpak gekozen en wordt een zo hoogst mogelijke standaard gevolgd om de veiligheid te bepalen voor de humane studie. Er zouden minder bloedanalyses en ex vivo (pathologische) analyses gedaan worden wanneer de richtlijn van FDA niet gevolgd zou worden. Echter door dit nu mee te nemen en te includeren, is de "herhaling" van tenminste een deel van de voorgestelde experimenten niet nodig.

3.3 Belang

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

Medisch belang

Elk jaar sterven meer dan een half miljoen mensen aan de gevolgen van malaria. Ongeveer 200 miljoen mensen worden elk jaar blootgesteld aan de effecten van deze infectieziekte. Malaria is hiermee de

infectieziekte met de grootste ziektelast ter wereld. De hoge kosten en toenemende resistentie van oude en nieuwe anti-malariamiddelen maken een snelle implementatie van een goed werkend malariavaccin noodzakelijk. Deze studie zal bijdragen aan het vinden van een veilig en klinisch toepasbaar vaccin tegen malaria.

Wetenschappelijk belang

De ontwikkeling van een nieuw vaccin tegen malaria dat klinisch toepasbaar is. Deze studie zal bijdragen aan de preklinische studies die de veiligheid beoordelen van immunisaties met Pb(PfCS@UIS4), voordat deze in humane studies zullen worden getest.

Maatschappelijk belang

De ziektelast en het sterftecijfer van malaria zijn groot. De resistentie van de parasiet tegen de beschikbare anti-malariamiddelen neemt toe. Daarnaast zijn de kosten van deze medicijnen hoog. De ontwikkeling van een goedkoop en effectief vaccin tegen humane malaria is daarom erg belangrijk. Dit zal veel ziektelast besparen en vele levens redden.

Deze studie maakt onderdeel uit van een groot project, gesubsidieerd door de Bill & Melinda Gates Foundation en Path- Malaria Vaccine Initiative, dat door het Radboudumc zal worden uitgevoerd. De doelstelling van dat project is de ontwikkeling van een nieuw veilig en effectief vaccin tegen humane malaria. Deze toxicologie studie is gericht op het beoordelen van de veiligheid van immunisaties met Pb(PfCS@UIS4), voordat deze in humane trials getest zal worden.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Muggen met en zonder Pb(PfCS@UIS4) parasieten krijgen op verschillende dagen gedurende 15 minuten de gelegenheid het konijn (onder sedatie) te prikken. Hierdoor vindt er transmissie van de parasiet van de mug naar het konijn plaats. Deze wijze van transmissie komt overeen met de humane situatie waarbij de parasiet overgebracht wordt via muggenbeten naar mens. Er zal op nader te bepalen dagen nuchter bloed afgenomen worden om op basis van de veranderingen in leukocyten en serum eiwitten een eventueel toxisch effect te kunnen volgen.

Deze voorgestelde studie wordt gedaan om informatie te verzamelen over de veiligheid en toxiciteit voor toekomstige Fase I/IIa klinische trials met dit experimentele vaccin. De dagen van immunisatie zijn gebaseerd op de toekomstige klinische trial en FDA gerelateerde toxicologie studies (n+1), waarbij rekening gehouden is met een potentieel verschil tussen dier en mens. Het interval tussen immunisaties is zodanig dat er genoeg tijd is voor het opwekken van een immuunrespons. De tijdstippen van bloedafname zijn ook gebaseerd op de klinische trial. In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zullen de dagen waarop de konijnen geprikt worden en waarop bloed afgenomen wordt gespecificeerd en gemotiveerd worden.

Drie (acute fase) of achtentwintig dagen (herstel fase) na de laatste immunisatie zullen de dieren geëuthanaseerd worden waarna post-mortem de biodistributie van de Pb(PfCS@UIS4) parasieten bepaald zal worden.

Voorafgaand aan deze studie zal in een pilotstudie bepaald worden of de veiligheid van het vaccin in voldoende mate kan worden vast gesteld met het voorgestelde aantal muggen dat per konijn gebruikt zal worden (haalbaarheidsstudie).

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

De konijnen worden in het pilotexperiment 1- maal nuchter en onder sedatie blootgesteld aan 100 muggen

met wildtype *P. berghei* parasieten. Bepaald zal worden hoeveel van die 100 muggen daadwerkelijk het konijn gestoken heeft (feeding rate) en de parasiet heeft overgebracht.-Op basis van de feeding rate kan bepaald worden hoeveel muggen er gebruikt moeten worden in de eigenlijke studie om minimaal 75 muggenbeten per konijn te halen.

De konijnen worden in de eigenlijke proef 5- maal op nog nader te bepalen dagen nuchter en onder sedatie blootgesteld aan muggen met en zonder Pb(PfCS@UIS4) parasieten (minimaal aantal muggenprikken: 75). De dagen van blootstelling aan de muggen worden zo gekozen dat een immunologische respons kan optreden en dat een niet genetisch gemodificeerde parasiet normaal kan ontwikkelen. Op nog nader te bepalen dagen zal nuchter een bloed monsters afgenomen worden via de oorvene. De dieren moeten voor bloedafname of immunisatie nuchter zijn, omdat voeding labwaarden in het bloed kunnen doen veranderen. Daarnaast willen we voorkomen dat een konijn een volle maag heeft voordat het dier onder anesthesie gaat om te immuniseren. Er zal om de 14 dagen onder sedatie geïmmuniseerd worden en er zal maximaal 28-maal nuchter bloed afgenomen worden (max. 6.5 ml bloed per keer) met een interval variërend van 1-13 dagen. Per tijdstip wordt verschillende volumina bloed afgenomen in meerdere bloedbuizen met verschillende coagulantia voor verschillende assays of bepalingen, nl. chemie (sample volume 1,5 ml), hematologie (1,0 ml), hematologie (2,0 ml), coagulatie (2,0 ml), bepaling C-Reactive Protein and Serum Protein Electrophoresis (2,0 ml) en/of additionele fibrinogeen assay (2,0 ml). De aangegeven volumina per bepaling zijn de minimaal benodigde hoeveelheden voor de respectievelijke bepalingen. In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zal het aantal bloedafnames , de dagen waarop bloed afgenomen wordt en de hoeveelheid bloed per dag nader gespecificeerd en gemotiveerd worden. De dieren krijgen een afgemeten hoeveelheid voer in een gestandaardiseerd voerregime. Aan het begin van de werkdag (half negen of negen uur) zullen als eerste bloedmonsters afgenomen worden van nuchtere dieren waarna ze direct voer krijgen. Aan het einde van de werkdag wordt gecontroleerd of de voerbakken leeg zijn. Zo niet dan wordt het restant weggenomen (en eventueel gewogen). Het weghalen van het restant voer zal alleen plaatsvinden als de volgende dag bloed afgenomen wordt of geïmmuniseerd wordt.

Zie onderstaand schema voor een gedetailleerd tijdschema.

week	Bloedafname op dag:	Volume (ml)	Totaal volume per week
- 1	Voor de start van de studie (nog nader te bepalen)	6.5	6.5
1	0	6.5	17.5
	2	4.5	
	3	2.0	
	4	4.5	
2	8	4.0	4.0
3	14	4.5	15.5
	16	4.5	
	17	2.0	
	18	4.5	
4	22	2.0	2.0
5	28	4.5	15.5
	30	4.5	
	31	2.0	
	32	4.5	
6	36	2.0	

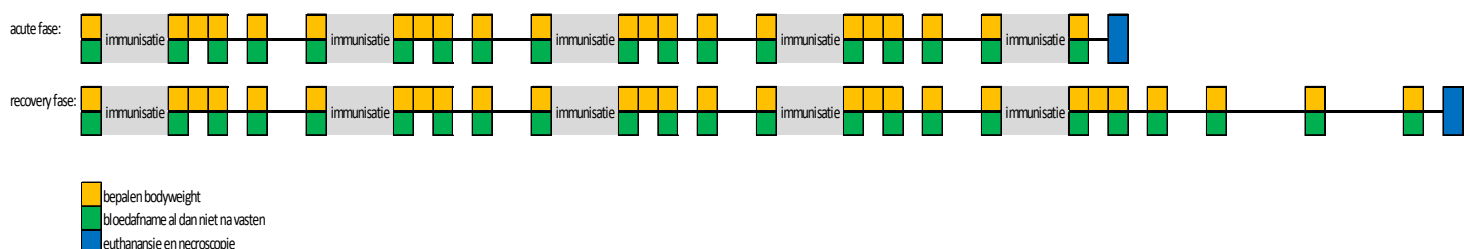
7	42	4.5	13.5
	44	4.5	
	46	4.5	
8		0	0
9	56	4.5	17.5
	57	2.0	
	58	4.5	
	59	2.0	
	60	4.5	
10	64	2.0	2.0
11	70	4.5	6.5
	71	2.0	
12		0	0
13	84 (euthanasie)	-	-

In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zullen de dagen waarop de konijnen blootgesteld worden aan de muggen en waarop bloed afgenomen wordt gespecificeerd en gemotiveerd worden. Met dit aantal bloedafnames wordt onder de hoeveelheid van 17 ml per week gebleven, zoals staat in het artikel van Diehl et al. (J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001)). Ook zullen we de oogleden van de konijnen regelmatig monitoren op anemie. Indien anemie wordt vastgesteld wordt gedurende minimaal 1 week geen bloed afgenomen. Indien het dier dan nog niet voldoende hersteld is, zal het dier uit proef worden genomen.

Drie (acute fase) of achtentwintig (herstel fase) dagen na de laatste immunisatie zullen de dieren geëuthanaseerd worden waarna *ex-vivo* de biodistributie van de Pb(PfCS@UIS4) parasieten bepaald zal worden.

In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zullen de dagen waarop de konijnen blootgesteld worden aan de muggen en waarop bloed afgenomen wordt gespecificeerd en gemotiveerd worden.

Tijdslijn:



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

In het pilotexperiment zal bepaald worden hoeveel muggen daadwerkelijk het konijn steken. Daartoe worden de muggen nadat ze gelegenheid hebben gehad om het konijn te prikken middels blootstelling aan ethanol gedood en de magen van de muggen gescoord op de aanwezigheid van bloed (feeding rate). Op basis van de feeding rate kan bepaald worden hoeveel muggen er gebruikt moeten worden in de eigenlijke studie om minimaal 75 muggenbeten per konijn te halen.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Pilotexperiment: Bepalen of de veiligheid van het vaccin in voldoende mate kan worden vast gesteld met het voorgestelde aantal muggen (haalbaarheidsstudie)
2	Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	90500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	BioXpert	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
	<i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	1	Pilotexperiment: Bepalen of de veiligheid van het vaccin in voldoende mate kan worden vast gesteld met het voorgestelde aantal muggen (haalbaarheidsstudie)

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

In deze haalbaarheidsstudie worden konijnen nuchter en onder sedatie 1-maal geïnfecteerd met wildtype *P. berghei* parasieten via muggenbeten. Deze wijze van transmissie komt overeen met de humane situatie waarbij de parasiet overgebracht wordt via muggenbeten naar mens. Bepaald zal worden hoeveel van de muggen daadwerkelijk het konijn gestoken heeft (feeding rate) en de parasiet heeft overgebracht. Op basis van de feeding rate kan bepaald worden hoeveel muggen er gebruikt moeten worden in de eigenlijke studie om minimaal 75 muggenbeten per konijn te halen.

Hoewel niet het primaire doel, zal ook de mate van roodheid, oedeemvorming en jeuk op de plaats van de muggenbeten d.m.v. foto's in kaart gebracht worden. Dit om het scoren van deze parameters door onze biotechnici te vergemakkelijken en te standaardiseren.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

De konijnen worden eerst geschoren op de plek van toediening (i.e. flank). Honderd muggen met wildtype *P. berghei* parasieten krijgen 1-maal 15 minuten de gelegenheid het konijn (dat gesedeerd en nuchter is) te prikken. De muggen zitten in een container en deze container wordt op de flank van het konijn geplaatst. Via de semipermeabele deksel (doorsnede 9 cm) kunnen de muggen het konijn prikken. Hierdoor vindt er transmissie van de parasiet van de mug naar het konijn plaats. Deze wijze van transmissie komt overeen met de humane situatie waarbij de parasiet overgebracht wordt via muggenbeten op de mens. Na 15 minuten

wordt de container van de flank gehaald en zullen de muggen gedood worden d.m.v. ethanol. Bepaald zal worden hoeveel muggen bloed in hun maag hebben (feeding rate). Op basis van de feeding rate kan bepaald worden hoeveel muggen er gebruikt moeten worden in de eigenlijke studie om minimaal 75 muggenbeten per konijn te halen.

De dieren krijgen een afgemeten hoeveelheid voer in een gestandaardiseerd voerregime. Aan het begin van de werkdag (half negen of negen uur) zullen nuchtere dieren blootgesteld worden aan de muggen waarna ze direct voer krijgen.

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

Voor deze haalbaarheidsstudie is geen powerberekening is uitgevoerd. Op grond van richtsnoeren van de registratie autoriteit (FDA) en op basis van ervaring en conventie zullen we 5 konijnen gebruiken.

B. De dieren

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

Wij stellen voor deze studie in konijnen te doen. Een konijn is geen natuurlijke gastheer voor *P. berghei*. Preklinische data laten zien dat de parasiet zich niet kan ontwikkelen in een konijnen erythrocyt, wat noodzakelijk is om ziekteverschijnselen te krijgen. Verder is gebleken dat *P. berghei* hepatocyten van konijnen kan invaderen en daar verder kan ontwikkelen wat nodig is voor het induceren van een (immuun)respons. We verwachten dus geen verspreiding van parasieten naar andere organen, maar wel een immuunrespons en de productie van antistoffen. Omdat de mens en het konijn in dit opzicht vergelijkbare reacties laten zien op de parasiet, zijn konijnen een goed alternatief voor humane preklinische toxicologie studies.

In deze studie zullen 5 mannelijke of vrouwelijke New Zealand White (surplus) konijnen gebruikt worden, afhankelijk van de beschikbaarheid bij de proefdierleverancier / fokker.

Herkomst: geregistreerde fokker in de EU

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

Het aantal van 100 muggen is gebaseerd op het aantal sporozoieten dat geïnjecteerd wordt na een muggenbeet. Het doel is om in het eigenlijke experiment alsook de humane klinische trial met minimaal 75 geïnfecteerde muggenbeten te immuniseren. In de praktijk zijn niet alle muggen geïnfecteerd (dit wordt vooraf bepaald als de infectie ratio) en zullen niet alle muggen bijten (feeding ratio), met gevolg dat waarschijnlijk meer muggen gebruikt moeten worden. Het gebruik van 100 muggen in deze pilot studie is zo vastgesteld om voor de eigenlijke studie aan de hand van de gevonden feeding ratio het aantal benodigde muggen te bepalen. Als bijv. 80% van de muggen zullen bijten, en de infectie ratio 90% is, dan zullen er voor de eigenlijke studie dus $75/0.9/0.8 = 105$ muggen gebruikt worden om er zeker van te zijn dat minimaal 75 geïnfecteerde muggen hebben gebeten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk

keuzes daarbij zijn gemaakt.

Verfijning:

Er is in deze dierproef gekozen voor het konijn als diermodel omdat het konijn geen natuurlijke gastheer voor *P. berghei* is. De parasiet kan zich niet ontwikkelen in een konijnen erythrocyt, wat noodzakelijk is om ziekteverschijnselen te krijgen. De parasiet kan wel hepatocyten van konijnen invaderen en zich daar verder ontwikkelen wat nodig is voor het induceren van een (immuun)respons. Een konijn kan dus geen malaria ontwikkelen met het daarbij behorende ongerief, maar kan wel een (immuun)respons tegen de malariaparasieten opwekken.

Vermindering:

De groepsgrootte is gebaseerd op grond van richtsnoeren van de registratie autoriteit (FDA) en op basis van ervaring en conventie. Er wordt geen uitval verwacht.

Vervanging:

In deze dierstudie wordt bepaald hoeveel muggen daadwerkelijk het konijn steken (feeding rate). Op basis van de feeding rate kan bepaald worden hoeveel muggen er gebruikt moeten worden in de eigenlijke studie om minimaal 75 muggenbeten per konijn te halen. Omdat dit pilotexperiment informatie genereert dat nodig is voor de eigenlijke studie kan het niet in een ander diermodel gedaan worden.

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

De dieren zullen individueel gehuisvest worden met kooiverrijking. Bij groepshuisvesting is de kans op gebroken ruggen en ander verwondingen groter a.g.v. het 'blind' en wild door de ren heen rennen en is derhalve individuele huisvesting minder stressvol voor het dier.

De algemene gezondheid van de dieren zal dagelijks gecontroleerd worden.

De biotechnische handelingen zullen uitgevoerd worden volgens de geldende best practices en door gekwalificeerde en competente biotechnici.

De konijnen zullen eerst gesedeerd worden voordat ze blootgesteld zullen worden aan de muggen.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

N.V.T.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☐ Nee

☒ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

De dieren zullen individueel gehuisvest worden met kooiverrijking. Bij groepshuisvesting is de kans op gebroken ruggen en ander verwondingen groter a.g.v. het 'blind' en wild door de ren heen rennen en is derhalve individuele huisvesting minder stressvol voor het dier. De dieren zijn bij de leverancier ook al individueel gehuisvest. Sociale huisvesting geeft dan zeer veel onrust en risico op ernstige verwondingen bij het uitvangen van de dieren.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Mogelijke roodheid, oedeemvorming om en jeuk op de plaats van de muggenbeten.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Deze verschijnselen worden veroorzaakt door de (immuun)respons op de muggenbeten en de parasieten. Het aantal muggen per immunisatie is gebaseerd op het aantal sporozoieten dat geïnjecteerd wordt na een muggenbeet. Het doel is om in het eigenlijke experiment alsook in de geplande humane klinische trial met 75 geïnfecteerde muggenbeten te immuniseren. Er bestaat geen bewezen effectief uitwendig middel tegen jeuk anders dan medicatie met systemische effecten. Uitwendige toepassing van antihistaminica is niet aangewezen tegen jeuk. De Commissie Farmacotherapeutisch Kompas, van zorginstituut Nederland, adviseert op farmacotherapeutische gronden toedieningsvormen voor lokaal gebruik van tripelennamine (antihistaminicum) niet voor te schrijven. Muggenbeten zijn niet geassocieerd met pijn behalve minimale sensaties op het moment van de beten zelf. (De dieren zullen gesedeerd worden ten tijde van de muggenbeten.) Het lijkt zeer onwaarschijnlijk dat de dieren een ander ongerief dan jeuk zullen ondervinden door de muggenbeten.

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

De hierboven beschreven verschijnselen zijn inherent aan deze haalbaarheidsstudie. De algemene gezondheid van de dieren zal dagelijks gecontroleerd worden. Indien daartoe aanleiding, zal de IvD en/of een dierenarts geconsulteerd worden. Er zijn strikte criteria opgesteld welke moeten borgen dat een dier zo min mogelijk lijdt.

Elke klinische conditie dat euthanasie vereist om verder lijden te voorkomen:

- ernstige pilo-erectie (score 2)
- verlies van lichaamsgewicht (> 20%)
- een totale score van > 4 volgens de tabel

Clinical sign	Score
Posture	0 normal
	1 Hunched back
Fur	0 No, no pilo erection
	1 Yes, slight pilo-erection
	2 Yes, severe pilo-erection*
Level of locomotion activity	0 Normal activity
	1 Increased activity
	2 Decreased activity
	3 Withdrawal reflection
Skin color	0 Normal pink
	1 Pale
	2 Dark red
Dermal Draize test	0 Score 04 < 4 dagen
	1 Score 04 > 4 dagen
Other	0

* toepassen humane eindpunt

Er is besloten om de jeuk en een muggenbult op de plaats van de muggenbeten niet met bijv. Azaron te bestrijden omdat alle middelen die de konijnen zouden krijgen, kunnen interfereren met deze studie. Antihistaminica of corticosteroïden (middelen die goed werken tegen jeuk) kunnen een te groot systemisch effect geven. Daarnaast is het onlangs aangetoond dat histamine een effect heeft op de hoeveelheid parasieten in de lever na een malaria infectie in muizen, waardoor in dit geval antihistaminica liever niet worden gegeven.

De dieren zullen na te zijn blootgesteld aan de muggen op dezelfde dag intensief zullen worden geobserveerd om te zien of ze (overmatig) krabben en zichzelf daardoor verwonden. Mocht dit inderdaad het geval zijn, zal met de IvD besproken of en zo ja welk antijeukmiddel toe te passen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- ernstige pilo-erectie (score 2 volgens de tabel bij vraag I);
- verlies van lichaamsgewicht (> 20%)
- een totale score van > 4 volgens de tabel bij vraag I

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

0%

K. Classificatie van ongerief

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

Licht

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☒ Nee

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

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☐ Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	90500				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	BioXpert				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr><tr><td>2</td><td>Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten</td></tr></table>	Volgnummer	Type dierproef	2	Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten
Volgnummer	Type dierproef					
2	Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

In deze studie worden konijnen (onder sedatie) 5-maal geïnfecteerd met al dan niet genetisch gemodificeerde parasieten via muggenbeten. Deze wijze van transmissie komt overeen met de humane situatie waarbij de parasiet overgebracht wordt via muggenbeten naar mens. Er zullen op nader te bepalen dagen maximaal 28-maal bloed afgenomen worden (max. 6.5 ml bloed per keer) met een interval variërend van 1-13 dagen om op basis van de veranderingen in leukocyten en serumeiwitten te volgen of het vaccin schadelijke effecten heeft. De dagen van immunisatie zijn gebaseerd op de toekomstige klinische trial en FDA gerelateerde toxicologie studies (n+1), waarbij rekening gehouden is met een potentieel verschil tussen dier en mens. Het interval tussen immunisaties (14 dagen) is zodanig dat er genoeg tijd is voor het opwekken van een immuunrespons. De tijdstippen van bloedafname zijn ook gebaseerd op de klinische trial. In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zullen de dagen waarop de konijnen geprikt worden en waarop bloed afgenomen wordt gespecificeerd en gemotiveerd worden.

Drie (acute fase) of achtentwintig (herstel fase) dagen na de laatste immunisatie zullen de dieren geëuthanaseerd worden waarna *ex-vivo* de biodistributie van de Pb(PfCS@UIS4) parasieten bepaald zal worden.

Tijdens de in-vivo fase van de proef zullen de volgende parameters bepaald worden:

- mortaliteit, morbiditeit, algemene gezondheid, tekenen van toxiciteit;
- lichaamsgewicht;

- voedsel inname;
- lichaamstemperatuur;
- roodheid, oedeemvorming en jeuk op de plaats van de muggenbeten;
- klinische observaties: afwijkingen aan de huid, ogen en slijmvliezen, respiratoire en circulatoire afwijkingen, afwijkingen van het centrale en autonome zenuwstelsel, motorische en gedragsafwijkingen;
- oftalmologisch onderzoek;
- serum: eiwitsamenstelling, hematologie, coagulatie, gehalte aan fibrinogeen en C-reactive Protein, parameters voor leverfunctie

De registratie-autoriteit de FDA stelt oftalmologisch onderzoek als een standaard onderdeel in toxicologische / veiligheidstudies zoals deze. Bij het oftalmologisch onderzoek zal met een oogspiegel (fundoscoop of oftalmoscoop) in het oog worden gekeken. Voorafgaand aan het oftalmologisch onderzoek worden atropine bevattende oogdruppels (1 per oog) gebruikt die zijn geregistreerd voor toepassing in hond en kat. Op grond van de gegevens van dat product worden geen systemische effecten verwacht. Er zal gekeken worden naar bijv. eventuele bloedingen of infarcten, naar retinopathie ('retinal whitening' (macula/perifeer), 'vessel changes' (tramlining/capillary whitening), 'retinal hemorrhages (white centered), papiloedeem, 'cotton wool spots'). Stapeling van de parasiet in het oog zal zeer onwaarschijnlijk zijn in deze studie. Het oftalmologisch onderzoek zal 2-maal plaats vinden, nl. voorafgaand aan de 1e immunisatie (pretest) en voorafgaand aan de necropsie.

Tijdens de *ex-vivo* / post-mortem fase van de proef zullen de volgende parameters bepaald worden:

- macroscopisch onderzoek van o.a. de huid, mond en anus, de toedieningsplaatsen, de craniale, thoracale en abdominale holtes en hun inhoud;
- hematologische analyse van het beenmerg uit het sternum;
- orgaangewichten;
- leverfunctie
- histopathologische analyse van geselecteerde organen en/of lesies.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

De konijnen worden eerst geschoren op de plek van toediening (i.e. flank). Pb(PfCS@UIS4) parasieten of controle parasieten zullen d.m.v. muggen op 5 nog nader te bepalen dagen toegediend worden. Muggen met en zonder Pb(PfCS@UIS4) parasieten krijgen op deze dagen 15 minuten de gelegenheid het konijn (nuchter en gesedeerd) te prikken. De muggen zitten in containers en deze containers worden steeds op de zelfde plaats op de flank van het konijn geplaatst. Via de semipermeabele deksel (doorsnede 9 cm) kunnen de muggen het konijn prikken. Hierdoor vindt er transmissie van de parasiet van de mug naar het konijn plaats. Deze wijze van transmissie komt overeen met de humane situatie waarbij de parasiet overgebracht wordt via muggenbeten op de mens. Per immunisatie moeten minimaal 75 muggen prikken. Drie (acute fase) of achtentwintig (herstel fase) dagen na de laatste immunisatie zullen de dieren geëuthanaseerd worden.

De 'dosering' van het vaccin (i.e. minimaal 75 muggenbeten) in het konijn komt overeen met tenminste de hoogste dosis welke gebruikt zal worden in de klinische trials. Het aantal muggen per immunisatie is gebaseerd op het aantal sporozoieten dat geïnjecteerd wordt na een muggenbeet. Het doel is om met 75 geïnfecteerde muggenbeten te immuniseren, zoals ook voorzien is voor de humane studie. In de praktijk zijn niet alle muggen geïnfecteerd (dit wordt vooraf bepaald als de infectie ratio) en zullen niet alle muggen bijten (feeding ratio), met gevolg dat waarschijnlijk meer muggen gebruikt moeten worden. Aan de hand van de feeding ratio zoals bepaald in het pilotexperiment zal het aantal benodigde muggen berekend worden. Als bijv. 80% van de muggen zullen bijten, en de infectie ratio 90% is, dan zullen er voor de eigenlijke studie dus $75/0.9/0.8 = 105$ muggen gebruikt worden om er zeker van te zijn dat minimaal 75 geïnfecteerde muggen hebben gebeten.

In het experiment wordt er 5-maal geïmmuniseerd. Dit is één immunisatie (n+1) meer dan in de geplande

humane studie. N+1 wordt als veiligheidsmarge genomen, wat gebruikelijk is voor toxicologische/veiligheidsstudies. Het immunisatieschema is afgeleid van het klinische regime waarbij het maandelijkse schema zoal in de klinische trials vervangen is door een tweewekelijks regime in het konijn. De tijd tussen immunisaties dient om een immuunrespons te induceren.

Er zal om de 14 dagen nuchter en onder sedatie geïmmuniseerd worden. Er zal maximaal 28-maal nuchter bloed afgenomen worden (max. 6.5 ml bloed per keer) met een interval variërend van 1-13 dagen). Per tijdstip wordt verschillende volumina bloed afgenomen in meerdere bloedbuizen met verschillende coagulantia voor verschillende assays of bepalingen, nl. chemie (sample volume 1,5 ml), hematologie (1,0 ml), hematologie (2,0 ml), coagulatie (2,0 ml), bepaling C-Reactive Protein and Serum Protein Electrophoresis (2,0 ml) en/of additionele fibrinogeen assay (2,0 ml). De aangegeven volumina per bepaling zijn de minimaal benodigde hoeveelheden voor de respectievelijke bepalingen. In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zal het aantal bloedafnames, de dagen waarop bloed afgenomen wordt en de hoeveelheid bloed per dag nader gespecificeerd en gemotiveerd worden. Zie onderstaand schema voor een gedetailleerd tijdschema.

week	Bloedafname op dag:	Volume (ml)	Totaal volume per week
- 1	Voor de start van de studie (nog nader te bepalen)	6.5	6.5
1	0	6.5	17.5
	2	4.5	
	3	2.0	
	4	4.5	
2	8	4.0	4.0
3	14	4.5	15.5
	16	4.5	
	17	2.0	
	18	4.5	
4	22	2.0	2.0
5	28	4.5	15.5
	30	4.5	
	31	2.0	
	32	4.5	
6	36	2.0	
7	42	4.5	13.5
	44	4.5	
	46	4.5	
8		0	0
9	56	4.5	17.5
	57	2.0	
	58	4.5	
	59	2.0	
	60	4.5	
10	64	2.0	2.0
11	70	4.5	6.5
	71	2.0	
12		0	0
13	84 (euthanasie)	-	-

In het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD, zullen de dagen waarop de konijnen blootgesteld worden aan de muggen en waarop bloed afgenomen wordt gespecificeerd en gemotiveerd worden. Met dit aantal bloedafnames wordt onder de hoeveelheid van 17 ml per week gebleven, zoals staat in het artikel van Diehl et al. (J. Appl. Toxicol. 21, 15–23 (2001)). Ook zullen de oogleden van de konijnen regelmatig monitoren op anemie. Indien anemie wordt vastgesteld wordt gedurende minimaal 1 week geen bloed afgenomen. Indien het dier dan nog niet voldoende hersteld is, zal het dier uit proef worden genomen.

De dieren krijgen een afgemeten hoeveelheid voer in een gestandaardiseerd voerregime. Aan het begin van de werkdag (half negen of negen uur) als eerste bloedmonsters afgenomen zullen worden van nuchtere dieren waarna ze direct voer krijgen. Aan het einde van de werkdag wordt gecontroleerd of de voerbakken leeg zijn. Zo niet dan wordt het restant weggenomen (en eventueel gewogen). Het weghalen van het restant voer zal alleen plaatsvinden als de volgende dag bloed afgenomen wordt of geïmmuniseerd wordt.

De konijnen zullen wekelijks gewogen worden in het kader van welzijnsbewaking.

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

Deze toxicologische studie is een observationele studie, waarvoor geen powerberekening is uitgevoerd. Op grond van richtsnoeren van de registratie autoriteit (FDA) en op basis van ervaring en conventie zullen we n=5 per groep gebruiken.

B. De dieren

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

Wij stellen voor deze studie in konijnen te doen. Een konijn is geen natuurlijke gastheer voor *P. berghei*. Preklinische data laten zien dat de parasiet zich niet kan ontwikkelen in een konijnen erythrocyt, wat noodzakelijk is om ziekteverschijnselen te krijgen. Verder is gebleken dat *P. berghei* hepatocyten van konijnen kan invaderen en daar verder kan ontwikkelen wat nodig is voor het induceren van een (immuun)respons. We verwachten dus geen verspreiding van parasieten naar andere organen, maar wel een immuunrespons en de productie van antistoffen. Omdat de mens en het konijn in dit opzicht vergelijkbare reacties laten zien op de parasiet, zijn konijnen een goed alternatief voor humane preklinische toxicologie studies.

In deze studie zullen 20 vrouwelijke en 20 mannelijke New Zealand White konijnen gebruikt worden. De keuze om zowel vrouwelijke als mannelijke konijnen te gebruiken voor deze studie is gebaseerd op de te onderzoeken veiligheidsaspecten die belangrijk zijn voor de humane studie. *Plasmodium berghei* is een parasiet die zich in verschillende soorten weefsels kan ontwikkelen. Het is nog niet eerder onderzocht of deze parasiet (en dus ook de transgene Pb(PfCS@UIS4) zich in geslachtsorganen zou kunnen ontwikkelen. Er wordt op deze manier uitgesloten dat de parasiet zich in geslachtsorganen van de (niet-natuurlijke) host zal ontwikkelen. De mogelijke hormonale verschillen tussen beide geslachten zouden potentieel een invloed kunnen hebben op de ontwikkeling van de parasiet. Ondanks dat er in de literatuur geen aanwijzingen zijn gevonden van hormonale invloeden op de ontwikkeling van de parasiet, is het belangrijk om dit voor de nieuw ontwikkelde transgene parasieten (Pb(PfCS@UIS4) uit te sluiten. Bij de humane studie zullen ook zowel mannen als vrouwen worden blootgesteld. Daarom wordt het noodzakelijk geacht om beide geslachten in de toxicologie studie te onderzoeken.

De dieren zullen verdeeld worden over een niet-geïnficeerde en geïnficeerde groep, waarbij 5 vrouwelijke en 5 mannelijke dieren per groep 3 dagen na de laatste immunisatie zullen worden geëuthanaseerd (acute fase; groep 1 t/m 4) en 5 vrouwelijke en 5 mannelijke dieren per groep 28 dagen na de laatste immunisatie (herstel fase; groep 5 t/m 8).

Herkomst: geregistreerde fokker in de EU

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

Behandeling	Aantal dieren			
	Acute Fase ^a		Herstel Fase ^b	
	Man	Vrouw	Man	Vrouw
Niet-geïnfecteerde muggen (control)	Groep 1: n=5	Groep 2: n=5	Groep 5: n=5	Groep 6: n=5
Geïnfecteerde muggen	Groep 3: n=5	Groep 4: n=5	Groep 7: n=5	Groep 8: n=5

a - Dieren worden 3 dagen na de 5^e immunisatie geëuthanaseerd

b - Dieren worden 28 dagen na de 5^e immunisatie geëuthanaseerd

Het aantal muggen per immunisatie is gebaseerd op het aantal sporozoieten dat geïnjecteerd wordt na een muggenbeet. Het doel is om met 75 geïnfecteerde muggenbeten te immuniseren, zoals ook voorzien is voor de humane studie. In de praktijk zijn niet alle muggen geïnfecteerd (dit wordt vooraf bepaald als de infectie ratio) en zullen niet alle muggen bijten (feeding ratio), met gevolg dat waarschijnlijk meer muggen gebruikt moeten worden. Aan de hand van de feeding ratio zoals bepaald in het pilotexperiment zal het aantal benodigde muggen berekend worden. Als bijv. 80% van de muggen zullen bijten, en de infectie ratio 90% is, dan zullen er voor de eigenlijke studie dus $75/0.9/0.8 = 105$ muggen gebruikt worden om er zeker van te zijn dat minimaal 75 geïnfecteerde muggen hebben gebeten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Verfijning:

Er is in deze dierproef gekozen voor het konijn als diermodel omdat het konijn geen natuurlijke gastheer voor *P. berghei* is. De parasiet kan zich niet ontwikkelen in een konijn erythrocyt, wat noodzakelijk is om ziekteverschijnselen te krijgen. De parasiet kan wel hepatocyten van konijnen invaderen en zich daar verder ontwikkelen wat nodig is voor het induceren van een (immuun)respons. Een konijn kan dus geen malaria ontwikkelen met het daarbij behorende ongerief, maar kan wel een (immuun)respons tegen de malariaparasieten opwekken.

Vermindering:

De groepsgrootte is gebaseerd op grond van richtsnoeren van de registratie autoriteit (FDA) en op basis van ervaring en conventie.. Er wordt geen uitval verwacht.

Vervanging:

Deze dierstudie is de laatste noodzakelijke studie voordat het experimentele vaccin in de mens getest kan worden. Helaas kan de voorgestelde veiligheidsstudie niet in proefpersonen gedaan worden. Er is gekozen voor een diermodel waarin dezelfde reacties waargenomen wordt als in de mens. Lagere diersoorten laten deze reacties niet (volledig) zien en zijn derhalve minder goed te gebruiken voor deze veiligheidsstudie.

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

De dieren zullen individueel gehuisvest worden met kooiverrijking. Dit om de ernst van de zwelling, roodheid en oedeemvorming goed te kunnen volgen alsook dieren beter in de gaten te kunnen houden wat betreft voedsel- en waterinname en urineproductie. Daarnaast is bij groepshuisvesting de kans op gebroken ruggen en ander verwondingen groter a.g.v. het 'blind' en wild door de ren heen rennen en is derhalve individuele huisvesting minder stressvol voor het dier.

De algemene gezondheid van de dieren zal dagelijks gecontroleerd worden.

De biotechnische handelingen zullen uitgevoerd worden volgens de geldende best practices en door gekwalificeerde en competente biotechnici.

De gevolgen voor het dier van de infectie van de lever is een uitkomstmaat die we in deze studie juist willen bekijken om de veiligheid te kunnen beoordelen. Eerdere infecties met Pb(PfCS@UIS4) in konijnen bij de pre-klinische studies voor effectiviteit, lieten geen symptomen zien. Toen is echter leverfunctie niet meegenomen, gezien het geen veiligheid als endpoint had.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

N.V.T.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☐ Nee

☒ Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

De dieren zullen individueel gehuisvest worden met kooiverrijking. Dit om de ernst van de zwelling, roodheid en oedeemvorming goed te kunnen volgen alsook dieren beter in de gaten te kunnen houden wat betreft voedsel- en waterinname en urineproductie. Daarnaast is bij groepshuisvesting de kans op gebroken ruggen en ander verwondingen groter a.g.v. het 'blind' en wild door de ren heen rennen en is derhalve individuele huisvesting minder stressvol voor het dier. De dieren zijn bij de leverancier ook al individueel gehuisvest. Sociale huisvesting geeft dan zeer veel onrust en risico op ernstige verwondingen bij het uitvangen van de dieren.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

☐ Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de

dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Mogelijke roodheid, oedeemvorming om en jeuk op de plaats van de muggenbeten.

Mogelijke lichte korstvorming en op de oren

Mogelijke anemie

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Roodheid, oedeemvorming om en jeuk worden veroorzaakt door de (immuun)respons op de muggenbeten en mogelijk de genetisch gemodificeerde parasieten. Het aantal muggen per immunisatie is gebaseerd op het aantal sporozoitien dat geïnjecteerd wordt na een muggenbeet. Het doel is om in het eigenlijke experiment alsook in de geplande humane klinische trial met 75 geïnfecteerde muggenbeten te immuniseren. Er bestaat geen bewezen effectief uitwendig middel tegen jeuk anders dan medicatie met systemische effecten.

Uitwendige toepassing van antihistaminica is niet aangewezen tegen jeuk. De Commissie Farmacotherapeutisch Kompas, van zorginstituut Nederland, adviseert op farmacotherapeutische gronden toedieningsvormen voor lokaal gebruik van tripelennamine (antihistaminicum) niet voor te schrijven. Muggenbeten zijn niet geassocieerd met pijn behalve minimale sensaties op het moment van de beten zelf. (De dieren zullen gesedeerd worden ten tijde van de muggenbeten.) Het lijkt zeer onwaarschijnlijk dat de dieren een ander ongerief dan jeuk zullen ondervinden door de muggenbeten.

Mogelijke lichte korstvorming op de oren of mogelijke anemie kunnen optreden als gevolg van het herhaaldelijk bloed afnemen via de oorvene. Om in deze veiligheidsstudie het optreden van nadelige effecten van het vaccin goed te kunnen monitoren is het noodzakelijk om op regelmatige momenten na toedienen van het vaccin de verschillende parameters in het bloed te meten. Deze zelfde parameters zullen in de human klinische trial op dezelfde tijdspunten bepaald worden.

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

De hierboven beschreven verschijnselen zijn inherent aan deze veiligheidsstudie. De algemene gezondheid van de dieren zal dagelijks gecontroleerd worden. Indien daartoe aanleiding, zal de IvD en/of een dierenarts geconsulteerd worden. Er zijn strikte criteria opgesteld welke moeten borgen dat een dier zo min mogelijk lijdt.

Elke klinische conditie dat euthanasie vereist om verder lijden te voorkomen:

- ernstige pilo-erectie (score 2);
- verlies van lichaamsgewicht (> 20%)

- een totale score van > 4 volgens de tabel

Clinical sign	Score
Posture	0 normal
	1 Hunched back
Fur	0 No, no pilo erection
	1 Yes, slight pilo-erection
	2 Yes, severe pilo-erection*
Level of locomotion activity	0 Normal activity
	1 Increased activity
	2 Decreased activity
	3 Withdrawal reflection
Skin color	0 Normal pink
	1 Pale
	2 Dark red
Dermal Draize test	0 Score 04 < 4 dagen
	1 Score 04 > 4 dagen
Other	0

* toepassen humane eindpunt

Indien anemie wordt vastgesteld wordt gedurende minimaal 1 week geen bloed afgenomen. Indien het dier dan nog niet voldoende hersteld is, zal het dier uit proef worden genomen

Er bestaat geen bewezen effectief uitwendig middel tegen jeuk anders dan medicatie met systemische effecten. Uitwendige toepassing van antihistaminica is niet aangewezen tegen jeuk. De Commissie Farmacotherapeutisch Kompas, van zorginstituut Nederland, adviseert op farmacotherapeutische gronden toedieningsvormen voor lokaal gebruik van tripelennamine (antihistaminicum) niet voor te schrijven. Muggenbeten zijn niet geassocieerd met pijn behalve minimale sensaties op het moment van de beten zelf. (De dieren zullen gesedeerd worden ten tijde van de muggenbeten.) Het lijkt zeer onwaarschijnlijk dat de dieren een ander ongerief dan jeuk zullen ondervinden door de muggenbeten. Daarnaast is het onlangs aangetoond dat histamine een effect heeft op de hoeveelheid parasieten in de lever na een malaria infectie in muizen, waardoor in dit geval antihistaminica liever niet worden gegeven. De dieren zullen na te zijn blootgesteld aan de muggen op dezelfde dag intensief worden geobserveerd om te zien of ze (overmatig) krabben en zichzelf daardoor verwonden. Mocht dit inderdaad het geval zijn, zal met de IvD besproken of en zo ja welk antijeuksmiddel toe te passen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

- ernstige pilo-erectie (score 2 volgens de tabel bij vraag I);
- verlies van lichaamsgewicht (> 20%)
- een totale score van > 4 volgens de tabel bij vraag I
- Indien anemie wordt vastgesteld wordt gedurende minimaal 1 week geen bloed afgenomen. Indien het dier dan nog niet voldoende hersteld is, zal het dier uit proef worden genomen.

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

0%

K. Classificatie van ongerief

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

Matig

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

De *ex-vivo* de biodistributie van de Pb(PfCS@UIS4) parasieten wordt bepaald. Daartoe zullen verschillende organen gedissecteed moeten worden.

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

☒ Ja

Format DEC-advies

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD905002015183
2. Titel van het project: Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten.
3. Titel van de NTS: Bepalen van de veiligheid van een nieuw vaccin tegen malaria.
4. Type aanvraag:
 - ☒ nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☒ ontvangen door DEC: 21-7-2015
 - ☒ aanvraag compleet: 16-10-2015
 - ☒ in vergadering besproken: 05-08-2015
 - ☒ anderszins behandeld: door DEC in schriftelijke e-mailronde d.d. 08-09-2015; door kleine commissie in schriftelijke e-mailrondes d.d. 16-10-2015, 16-11-2015 en 04-12-2015.
 - termijnonderbreking(en) van- / tot
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☒ aanpassing aanvraag: 08-09-2015, 16-10-2015, 16-11-2015 en 04-12-2015.
 - advies aan CCD
7. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 08-08-2015, 18-09-2015, 04-11-2015 en 03-12-2015
- Strekking van de vragen en opmerkingen:

Correspondentie d.d. 08-08-2015 had betrekking op:

- o Nadere toelichting en onderbouwing m.b.t. wetenschappelijke achtergrond, het belang van dit project, aangevuld met relevante literatuurverwijzingen.
- o Nadere toelichting en onderbouwing m.b.t. bepaalde experimentele handelingen (bloedafnames, vasten, oftalmologisch onderzoek), in relatie tot het ongerief voor de dieren.
- o Nadere toelichting en onderbouwing van het gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren, in relatie tot de vraagstelling van dit onderzoek.
- o Nadere toelichting en onderbouwing m.b.t. het al dan niet nemen van maatregelen om bij de dieren jeuk a.g.v. muggenbeten te bestrijden.
- o Nadere toelichting m.b.t. de in het projectvoorstelde genoemde reeds eerder uitgevoerde klinische (effectiviteits)studies.
- o Tekstueel en redactioneel (verduidelijking en onderlinge afstemming van bepaalde tesktpassages en correcte invulling van het formulier).

Correspondentie d.d. 18-09-2015 had betrekking op:

- o Nadere onderbouwing van het experimental design van de toegevoegde pilot-studie (m.n. het aantal muggen en de frequentie van het aantal toe te dienen muggenbeten).
- o Nadere toelichting van de aard (categorie) van de doelstelling van het project.
- o Nadere toelichting m.b.t. de (wetenschappelijke) onderbouwing van het project.
- o Nadere toelichting en onderbouwing van het gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren, en daarmee een verdubbeling van het aantal dieren.
- o Heldere beschrijving en onderbouwing van alle factoren die van invloed zijn op het ongerief voor de dieren (aantal muggenbeten, afzien van het gebruik van jeuk/pijnstilling, procedure rondom frequente bloedafnames, procedure m.b.t. oftalmologisch onderzoek). Inschatting van het cumulatieve ongerief.

- Nadere toelichting en onderbouwing van de wijze van monitoring van anemie.

Correspondentie d.d. 04-11-2015 had betrekking op:

- Redactioneel: Juiste invulling van het project aanvraagformulier.
- Nadere onderbouwing van het ongerief als gevolg van de gekozen infectieroute en de beoogde hoeveelheid muggenbeten.
- Nadere toelichting m.b.t. de consequenties van het gebruik van beide geslachten voor wat betreft de opzet van het experiment en m.n. de aantallen dieren; nadere onderbouwing van de aantallen dieren.
- Beschrijving van het ongerief a.g.v. het oftalmologisch onderzoek en onderbouwing van de noodzaak en frequentie van dit onderzoek.
- Nadere onderbouwing van de frequentie van de bloedafnames (in relatie tot het totale maximaal af te nemen volume).

Correspondentie d.d. 03-12-2015 had betrekking op:

- Redactioneel: finale bijstelling van enkele tekstpassages.
-
- Datum antwoord: 08-09-2015; 16-10-2015, 16-11-2015 en 04-12-2015.
 - Strekking van de antwoorden: De vragen en opmerkingen zijn naar tevredenheid beantwoord. De aanvraag is 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 (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Geen van de DEC-leden is betrokken bij het betreffende project of de aanvrager.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
☒ uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie is in overeenstemming met de hoofddoelstelling.
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang. Malaria behoort wereldwijd tot een van de belangrijkste infectieziekten. Meer dan een derde van de wereldpopulatie loopt het risico om malaria te krijgen. Jaarlijks krijgen naar schatting 200 miljoen mensen malaria en sterven er meer dan een miljoen mensen aan deze ernstige ziekte. Bovendien heeft malaria een grote impact op de sociale en economische ontwikkeling, met name van de ontwikkelingslanden. Er is grote behoefte aan een goed werkzaam vaccin, dat voldoende bescherming biedt. Aan de verschillende vaccinatiestrategieën die momenteel worden onderzocht zijn diverse nadelen en beperkingen verbonden. In dit project wordt de veiligheid van een nieuw vaccin tegen malaria bestudeerd, gebaseerd op infectie ('immunisatie') met een genetisch gemodificeerde parasiet waarmee de beoogde immuunrespons kan worden opgewekt. Hiermee kan een bijdrage worden geleverd aan de ontwikkeling van een voor de mens veilig vaccin waarmee een effectieve bescherming tegen malaria infectie en eventuele doorbraakinfecties kan worden opgewekt. Een belangrijke stap in het ontwikkeltraject van vaccins is het testen op werkzaamheid en veiligheid. Het is van belang dat fabrikanten deze fase in de ontwikkeling van een vaccin kunnen laten uitvoeren door hierin gespecialiseerde bedrijven, aangezien dit ten goede komt aan de kwaliteit van de evaluatie van de vaccins.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De instelling heeft een uitgebreide ervaring met het uitvoeren van dit soort testen (in opdracht van derden) en beschikt over gespecialiseerde kennis m.b.t. de gebruikte diermodellen.
5. Er is geen sprake van de bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is

voldoende wetenschappelijk onderbouwd. Konijnen zijn geen natuurlijke gastheer voor de gebruikte parasiet (*P.berghei*). Uit pre-klinische data blijkt dat de parasiet geen volledige cyclus kan ontwikkelen in het konijn, en dat infectie met deze parasiet derhalve ook niet leidt tot ziekteverschijnselen, maar wel een afweer respons kan opwekken. Omdat mens en konijn in dit opzicht vergelijkbare reacties op de parasiet laten zien, zijn konijnen een goed alternatief voor de in het ontwikkeltraject van het vaccin noodzakelijke humane preklinische studies met oog op werkzaamheid en veiligheid.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. De dieren worden via muggenbeten geïnfecteerd met de desbetreffende parasieten, conform de overbrengingsroute bij de mens. Het ongerief wordt ingeschat als matig als gevolg van de weefselreactie op de muggenbeten en als gevolg van de biotechnische handelingen (herhaalde bloedafnames, oftalmologisch onderzoek). Naar verwachting zal er jeuk optreden als gevolg van de muggenbeten. Het gebruik van een jeukstillende middelen (bijv. antihistaminica) is niet verenigbaar met het doel van het project, aangezien er geen bewezen effectief middel hiervoor is zonder bijkomende systemische effecten die de immunologische respons moduleren.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. Dit type onderzoek kan alleen worden uitgevoerd in een levend dier met een intact immuunsysteem. Het konijn wordt beschouwd als de meest geschikt diersoort voor deze studies, aangezien mens en konijn vergelijkbare reacties laten zien op dit type infectie. Het is bovendien vanuit ethische overwegingen niet mogelijk dit onderzoek in proefpersonen te doen.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De groepsgrootte (en daarmee het totale aantal dieren) is gebaseerd op richtsnoeren van de registratie autoriteit en op basis van ervaring en conventie. Een pilotproef is opgenomen om te waarborgen dat de infectie in de hoofdstudie goed verloopt.
9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. De gezondheid van de dieren zal dagelijks worden gecontroleerd. De dieren zullen nadat ze zijn blootgesteld

aan de muggen intensief worden geobserveerd om te zien of ernstige jeuk optreedt. Mocht dit het geval zijn, dan wordt bezien of en zo ja welke anti-jeuk behandeling kan worden toegepast. Er zijn strikte criteria opgesteld, welke moeten waarborgen dat een dier zo min mogelijk lijdt.

10. De in deze dierproef gekozen diersoort (het konijn) kan geen malaria ontwikkelen met het daarbij behorende ongerief, maar kan wel een (immuun)respons tegen malaria geven.

Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.

11. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

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

Elk jaar sterven meer dan een half miljoen mensen aan de gevolgen van malaria en ongeveer 200 miljoen mensen worden jaarlijks blootgesteld aan de effecten van deze infectieziekte die de kwaliteit van leven en maatschappelijke participatie negatief beïnvloeden. Bovendien heeft malaria een grote impact op de sociale en economische ontwikkeling, met name van de ontwikkelingslanden. Er is grote behoefte aan een goed werkzaam vaccin, dat voldoende bescherming biedt. Aan de verschillende vaccinatiestrategieën die momenteel worden onderzocht zijn echter diverse nadelen en beperkingen verbonden.

Met deze studie wordt een belangrijke stap gezet in het beschikbaar komen van een veilig en klinisch goed toepasbaar vaccin tegen malaria. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling. Naar het oordeel van de DEC dient dit project dan ook een substantieel belang.

Tegenover dit substantiële belang staat het feit dat de dieren in deze experimenten matig ongerief zullen ondervinden.

De commissie is er van overtuigd dat bij de dierproeven adequaat invulling zal worden gegeven 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 onvermijdelijk voor het realiseren van de beoogde doelstellingen.

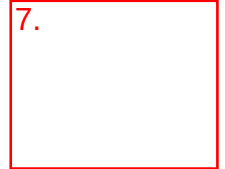
De DEC is van oordeel dat het hierboven geschetste belang de onvermijdelijke nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst, pijn of stress, rechtvaardigt. Aan de eis dat het belang van de experimenten op dient te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, is voldaan.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



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:

KvK-nummer: 54838134

Straat en huisnummer: Nistelrooise Baan 3

Postcode en plaats: 5374 RE SCHAIJK

IBAN: NL72RABO0183605888

Tenaamstelling van het
rekeningnummer: BioXpert BV

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

Functie:

Afdeling: BioXpert B.V.

Telefoonnummer:

E-mailadres:

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Afdeling: BioXpert 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: 15 december 2015
Geplande einddatum: 15 december 2020
Titel project: Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten
Titel niet-technische samenvatting: Bepalen van de veiligheid van een nieuw vaccin tegen malaria
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:

7 december 2015

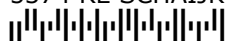


> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

Nistelrooise Baan 3

5374 RE SCHAIJK



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD905002015183

Bijlagen

2

Datum 7 december 2015

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 7 december 2015

Vervaldatum: 6 januari 2016

Factuurnummer: 15700183

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD905002015183	€ 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.

Van: [REDACTED]
Verzonden: maandag 8 februari 2016 12:08
Aan: info@zbo-ccd.nl
CC: [REDACTED]
Onderwerp: FW: AVD905002015183: voorgenomen besluit

Geachte mw [REDACTED], leden van de CCD;
 Vriendelijk dank voor de mogelijkheid om commentaar te kunnen geven of het opleggen van onderstaande voorwaarden een effect zal hebben op de uitvoering van het project.
 Ik heb hieronder (in rood) mijn reacties op de in concept gestelde voorwaarden gegeven.
 De reactie is afgestemd met de opdrachtgever en de IvD van BioXpert.
 Mocht u naar aanleiding van mijn reactie nog vragen hebben, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,
 [REDACTED]
 vergunninghouder

From: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Sent: maandag 1 februari 2016 21:04
To: [REDACTED]
Cc: [REDACTED]
Subject: AVD905002015183: voorgenomen besluit

Geachte [REDACTED],

Wij hebben een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven van u in behandeling. Het gaat om het project 'Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten' met aanvraagnummer AVD905002015183.

De CCD heeft uw aanvraag besproken en is voornemens deze goed te keuren. De CCD wil echter twee voorwaarden toevoegen aan de vergunning die mogelijk consequenties zouden kunnen hebben voor de uitvoering van uw project. Deze voorwaarden en de argumentatie hiervoor vindt u hieronder.

U heeft mij nog gebeld of de voorwaarde dat de projectvergunning maar 2 jaar geldig is een probleem zal opleveren. Ik kan u antwoorden dat dit geen probleem zal opleveren.

Voorgenomen voorwaarde 1:

Een dierenarts dient tijdens de periode van het vasten dagelijks te controleren of de gezondheid van de dieren, en dan met name de werking van de darmen, het herhaaldelijk en met een kort interval vasten toelaat.

Onderbouwing:

U heeft aangegeven dat dieren om de 14 dagen nuchter en onder sedatie geïmmuniseerd worden. Daarnaast zal maximaal 28-maal nuchter bloed afgenomen worden met een interval variërend van 1-13 dagen. U beschrijft dat de dieren van het eind van de werkdag tot het begin van de volgende werkdag zullen vasten. Konijnen mogen echter niet te lang vasten, omdat de darmen op den duur volledig stilgelegd worden. Vanuit dat oogpunt, vindt de CCD de frequentie van vasten vrij hoog en duur van vasten lang. De CCD wil bovenstaande voorwaarde toevoegen om te borgen dat de gezondheid van de dieren niet onnodig gevaar loopt.

Voorwaarde 1

- Wij zijn ons goed bewust dat konijnen gevoelige darmen hebben. De term vasten behoeft hier echter nadere uitleg:
 Konijnen krijgen (zowel voor als tijdens de uitvoering van experimenten) normaal dagelijks in de ochtend 80% van ad lib brok toegediend (ca 100g per dier) en een pluk hooi. Hiermee blijven dieren goed op gewicht en wordt obesitas voorkomen. De dieren hebben hun brok en hooi in de loop van de middag volledig opgegeten. Coprofagie is gewoon toegestaan.
 De volgende voergift is altijd binnen 24 uur (+/- 1uur). Met dit voederpatroon worden nooit problemen gezien. Deze praktijk wordt ook in bijna alle proefdierfaciliteiten toegepast.
- Feitenlijk is er geen sprake van vasten, maar dienen de handelingen (bloed afnemen/immuniseren) vóór de voergift te worden uitgevoerd zodat nuchtere bloedwaardes gemeten kunnen worden en de dieren nuchter gesedeerd kunnen worden voor immunisatie.
 Na de handelingen ontvangen alle dieren direct hun brok en hooi. Gezien deze uitleg lijkt ons dagelijks

toezicht door een dierenarts niet nodig. Uiteraard zullen we het defaecatie patroon goed in de gaten houden en bij afwijkingen contact opnemen met een dierenarts.

Voorgenomen voorwaarde 2:

De aanvrager dient in overleg met de IvD het ongerief van de dieren dat veroorzaakt wordt door jeuk in bijlage 3.4.4.1 te beperken.

Voorwaarde 2:

Op grond van eerder uitgevoerde studies door opdrachtgever in samenwerking met IMM Lisboa, in Portugal worden wel huidreacties verwacht, maar niet gepaard gaande met jeuk. In deze studies zijn konijnen 3 keer blootgesteld aan 75 muggen, zonder dat er jeukeffecten geconstateerd werden. Het tegen gaan van krabben en bijten door eventuele kappen is daarom ook niet toegevoegd aan de studie.

Daarnaast zal in de pilot studie al zeer zorgvuldig worden geobserveerd of de dieren geen jeuk zullen krijgen. In het geval dat er toch forse jeuk met krabben geobserveerd wordt, zal eventueel mentholpoeder als verzachtend middel gebruikt (kunnen) worden. Het toevoegen van bijvoorbeeld Azaron, en elke andere vorm heeft mogelijk invloed op studie zoals ook uitgelegd aan de DEC.

"Er bestaat geen bewezen effectief uitwendig middel tegen jeuk anders dan medicatie met systemische effecten. Uitwendige toepassing van antihistaminica is niet aangewezen tegen jeuk. De Commissie Farmacotherapeutisch Kompas, van zorginstituut Nederland, adviseert op farmacotherapeutische gronden toedieningsvormen voor lokaal gebruik van tripelennamine (antihistaminicum) niet voor te schrijven. Verder is onlangs aangetoond dat histamine een effect heeft op de hoeveelheid parasieten in de lever na een malaria infectie in muizen, waardoor antihistaminica niet zijn geïndiceerd. Muggenbeten zijn niet geassocieerd met pijn behalve minimale sensaties op het moment van de beten zelf (de dieren zullen echter gesedeerd worden ten tijde van de muggenbeten)." Dus het gebruik van een middel dat de roodheid, zwelling en jeuk tegengaat, is helaas niet verenigbaar met het doel van dit projectvoorstel.

De IvD zal verzocht worden elke steekronde toezicht te houden op het optreden van eventuele jeuk.

Onderbouwing:

U heeft aangegeven aan dat in bijlage 3.4.4.1 de dieren nadat ze gestoken worden niet worden gedood. Tegelijkertijd wordt het ongerief van de dieren door jeuk niet verminderd. De argumentatie voor het niet behandelen van de jeuk lijkt niet van toepassing op het desbetreffende experiment. De CCD vraagt zich af of dit wel een wenselijke situatie is en wil bovenstaande voorwaarde toevoegen om het ongerief van de dieren door jeuk te beperken.

Aangezien bovengenoemde voorwaarden mogelijk de uitvoering van uw project kunnen beïnvloeden, wil de CCD u nog in de gelegenheid stellen te reageren op deze voorwaarden alvorens zij een definitief besluit neemt. Daarnaast willen wij de DEC vragen de CCD aanvullend te adviseren over deze voorwaarden. Indien uw reactie of het aanvullend advies van de DEC daar aanleiding toe geeft, kan de CCD haar voorgenomen besluit nog herzien.

Om u hiervoor de gelegenheid te kunnen geven, en uw reactie vervolgens tijdens de CCD vergadering te kunnen bespreken, dienen wij de behandeltermijn op te schorten. Hoewel de CCD uw aanvraag binnen de wettelijke termijn van 40 werkdagen heeft beoordeeld, zullen we, door u in de gelegenheid te stellen te reageren op het voorgenomen besluit, de termijn van 40 werkdagen overschrijden. Wij kunnen u daarom alleen in de gelegenheid stellen te reageren, indien u instemt met het opschorten van de behandeltermijn totdat de CCD uw aanvraag opnieuw kan bespreken en een definitief besluit kan nemen.

Ik ben akkoord met het opschorten van de termijn met de in de wet gestelde periode zoals ik u telefonisch heb laten weten.

Indien u gebruik wilt maken van de mogelijkheid te reageren op de voorgenomen voorwaarden, verzoeken wij u in te stemmen met het opschorten van de behandeltermijn en ons hiervan uiterlijk woensdag 03 februari 2016 op de hoogte te stellen.

Indien u gebruik maakt van bovenstaande mogelijkheid, wordt u verzocht uiterlijk maandag 8 februari 2016 inhoudelijk te reageren en eventueel aanvullende informatie aan te leveren. Wij zullen uw reactie vervolgens doorsturen naar de DEC die advies heeft uitgebracht over uw aanvraag en deze vragen de CCD naar aanleiding van uw reactie aanvullend te adviseren over bovengenoemde voorwaarden.

Mocht u geen gebruik willen maken van de mogelijkheid te reageren of instemmen met de voorgenomen voorwaarden, verzoeken wij u ons dat ook uiterlijk 3 februari 2016 te laten weten. Het voorgenomen besluit zal dan definitief gemaakt worden. Indien wij dan niets van u gehoord hebben, gaan wij er ook van uit dat u geen gebruik wilt maken van de mogelijkheid de aanvullende informatie te verstrekken.

Wij wachten uw reactie af.

Met vriendelijke groet,

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (Let op: nieuw e-mail adres)

Het Radboudumc staat geregistreerd bij de Kamer van Koophandel in het handelsregister onder nummer 41055629.

The Radboud university medical center is listed in the Commercial Register of the Chamber of Commerce under file number 41055629.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert B.V.

Nistelrooisebaan 3
5374 RE Schaijk

**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie
AVD905002015183

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 02 maart 2016

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 07 december 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten' met aanvraagnummer AVD905002015183. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 08 februari 2016 heeft u digitaal gereageerd op ons voornemen voorwaarden te verbinden aan de vergunning.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet). U kunt met uw project 'Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten' starten. De vergunning wordt afgegeven van 02 maart 2016 tot en met 02 maart 2018.

Voorwaarde

Aan deze vergunning is de voorwaarde verbonden zoals genoemd in de vergunning en hieronder toegelicht.

Op basis van uw aanvraag waren wij voornemens twee specifieke voorwaarden te verbinden aan de vergunning waardoor geborgd zou worden dat 1) de gezondheid van de dieren niet onnodig gevaar loopt door het vasten en 2) het ongerief van de dieren door jeuk beperkt wordt.

Op 01 februari 2016 hebben wij u in de gelegenheid gesteld te reageren op deze voorgenomen voorwaarden. Ook hebben wij de DEC gevraagd ons aanvullend te adviseren. Aangezien u in uw reactie van 08 februari 2016 benadrukt heeft dat de dieren niet vasten en de DEC dit in haar aanvullend advies bevestigd heeft, is de voorwaarde die hierop zag komen te vervallen.

U heeft daarnaast aangegeven dat, hoewel er naar alle waarschijnlijkheid geen jeuk zal optreden, dit wel gemonitord zal worden en dat de IvD gevraagd zal worden hierop toezicht te houden. Als mogelijke jeuk verminderende maatregel die niet de uitkomstparameters van de proef beïnvloedt, noemt u mentholpoeder. Uit uw reactie begrijpen wij dat u onze mening deelt dat het belangrijk is te monitoren of de dieren jeuk hebben en, indien nodig, maatregelen genomen worden om dit ongerief te beperken. Naar aanleiding van de door u verstrekte informatie en het aanvullend advies van de DEC hebben wij de voorwaarde geherformuleerd.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie [REDACTED] gevoegd zoals ontvangen op 07 december 2015. Op 02 februari 2016 hebben wij de DEC in de gelegenheid gesteld ons aanvullend te adviseren naar aanleiding van ons voornemen een voorwaarde te verbinden aan de vergunning. Op 09 februari 2016 heeft de DEC ons een aanvullend advies toegestuurd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is zowel het advies als het aanvullend advies van de DEC betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving liggen ten grondslag aan dit besluit. Wij nemen het advies van de Dierexperimentencommissie grotendeels over met uitzondering van bovenstaande afwijkingen. In aanvulling op het DEC advies hebben wij ook een algemene voorwaarde opgenomen in de vergunning.

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 gegevens in het colofon.

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).

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze



mr. drs. H.M. van der Gaag-Halbertsma
plv Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

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 B.V.
Adres: Nistelrooisebaan 3
Postcode en woonplaats: 5374 RE Schaijk
Deelnemersnummer: 90500

deze projectvergunning voor het tijdvak 02 maart 2016 tot en met 02 maart 2018, voor het project 'Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten' met aanvraagnummer AVD905002015183, volgens advies van Dierexperimentencommissie [REDACTED]. Hierbij is afgeweken van het DEC-advies om te borgen dat eventueel ongerief van de dieren door jeuk beperkt wordt.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 07 december 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 07 december 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 07 december 2015;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie, zoals ontvangen per digitale indiening op 07 december 2015 en aanvullend advies van de Dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 09 februari 2016
 - d. Aanvullende informatie, zoals ontvangen bij digitale indiening op 08 februari 2016

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.1: Pilotexperiment: Bepalen of de veiligheid van het vaccin in voldoende mate kan worden vast gesteld met het voorgestelde aantal muggen (haalbaarheidsstudie)	Konijn	5	Licht
3.4.4.2: Bepalen van de biodistributie en toxiciteit / veiligheid van een vaccin tegen malaria bestaande uit genetisch gemodificeerde Pb(PfCS@UIS4) parasieten	Konijn	40	Matig

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen.

1) Indien jeuk optreedt zal met de IvD worden afgestemd of het noodzakelijk is de jeuk te beperken door middel van een jeuk verminderende maatregel die niet de meetparameters van het experiment beïnvloedt, bijvoorbeeld mentholpoeder.

Algemene voorwaarde

2) 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 van Economische Zaken 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 aanneemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

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

Uit artikel 13c 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 13d 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.