

	Inventaris Wob-verzoek W16-22S								
		wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2016412								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel			x					
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1			x					
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2			x					
6	Bijlage beschrijving dierproeven 3			x					
7	DEC-advies				x		x	x	
8	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
9	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
10	Reactie verzoek aanvulling				x		x	x	
11	Verzoek reactie DEC				x		x	x	
12	Reactie DEC				x		x	x	
13	Advies CCD		x						x
14	Beschikking en vergunning				x		x	x	



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.centralecommissiedierproeven.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

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

☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 90500
☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen

412
AVD go 500 2016320

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

Naam instelling of organisatie	BioXpert B.V.
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
KvK-nummer	54838134
Straat en huisnummer	Nistelrooise Baan 3
Postbus	
Postcode en plaats	5374RE Schaijk
IBAN	NL72RABO0183605888
Tenaamstelling van het rekeningnummer	BioXpert

- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.
Functie	[Redacted]	
Afdeling	[Redacted]	
Telefoonnummer	[Redacted]	
E-mailadres	[Redacted]	

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

(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☐ Dhr. ☒ Mw.
Functie	[Redacted]	
Afdeling	[Redacted]	
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

Telefoonnummer

E-mailadres

- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?

☐ Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag

☒ Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?

☒ Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3

☐ Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2

☐ Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3

- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?

☐ Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier

☐ Nee > Ga verder met vraag 3

- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?

☐ Nee > Ga verder met vraag 3

☐ Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?

Startdatum 1 - 3 - 2016

Einddatum 28 - 2 - 2021

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Veiligheid van levend verzwakte griepvaccins in muizen en fretten.

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC

Postadres

E-mailadres

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1441 Lege
- ☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☐ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

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

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

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

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

Naam

Functie

Plaats

Schaljk

Datum

2 - 3 - 2016

Handtekening



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 |
| 1.3 | Vul de titel van het project in. | Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten. |

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

In het kader van vaccin ontwikkeling tegen influenza biedt de aanvrager van dit projectvoorstel verschillende preklinische modellen aan om de veiligheid van deze vaccins uit te testen. Deze modellen zijn door de aanvrager opgezet en kunnen gebruikt worden om preparaten verschaft door derden (in het algemeen farmaceutische bedrijven) uit te testen.

De antigeniciteit van influenza virussen verandert in de tijd significant, een proces beter bekend als antigene drift. Als gevolg hiervan dient het jaarlijkse influenza vaccin regelmatig aangepast te worden om bescherming te kunnen blijven bieden tijdens de elk jaar terugkerende epidemie door de zogenoemde seizoensvirussen. Daarnaast is er een constante dreiging van het uitbreken van een humane influenza pandemie. Deze pandemieën worden veroorzaakt door influenza virussen die tot dan toe nog niet voorgekomen zijn in de humane populatie (antigene shift) en waartegen geen (of zeer beperkte) immunologische respons bestaat. Als gevolg daarvan ondervinden personen geïnfecteerd met dergelijke pandemische virussen, maar ook personen behorend tot risico groepen geïnfecteerd met seizoensvirussen, een meer ernstig ziektebeeld resulterend in een hoge mortaliteit. Voor virussen behorend tot beide groepen (seizoens en pandemische virussen) is constant onderzoek nodig om de humane populatie voldoende bescherming te kunnen bieden.

Tegen zowel laag pathogene seizoensvirussen als hoog pathogene (mogelijk pandemische) virussen zijn op dit moment verschillende vaccins beschikbaar welke in de meeste gevallen gebruik maken van een geïnactiveerd influenza preparaat dat in de afwezigheid (seizoensvaccinatie) of aanwezigheid (pandemische vaccinatie) van een adjuvant gegeven worden. De keuze om wel of niet een adjuvant toe te voegen hangt af van de immunologische achtergrond van de te vaccineren personen. Indien reeds een influenza-specifieke immunologische achtergrond aanwezig is, kan volstaan worden te vaccineren zonder adjuvant. Echter, bij een immunologisch naïeve populatie dient een adjuvant toegevoegd te worden om bescherming te kunnen garanderen. Een alternatief voor geïnactiveerd vaccin al dan niet met adjuvant is het gebruik van een levend verzwakt influenza vaccin (LAIV: life-attenuated influenza vaccin). Een dergelijk vaccin geeft een gelimiteerde infectie waarbij de virale eiwitten in de gastheercel tot expressie worden gebracht. Door deze transcriptie is een brede presentatie van de virale eiwitten aan het immuunsysteem van de gastheer en wordt er een efficiëntere immuunrespons opgewekt. Dit blijkt uit het feit dat bij vaccinatie met een dergelijk LAIV een enkele vaccinatie benodigd is om te komen tot een effectieve immuunrespons, terwijl bijvoorbeeld geïnactiveerd antigeen in combinatie met adjuvant twee keer toegediend moet worden. Op dit moment is er voor influenza slechts één product op basis van LAIV, namelijk Flumist, waarvoor toestemming is gegeven voor toepassing in de mens. Dit wordt op grote schaal in de Verenigde Staten toegepast. Voor de vrijgifte testen van dergelijke LAIVs is door de regelgevende autoriteiten (EMA en WHO) een aantal kwalitatieve testen opgelegd. In deze testen is het van belang om de donor virussen te testen, de zogenaamde Master Donor Viruses (MDVs), in zowel muizen als fretten. Deze virussen vormen de basis waaruit de vaccin batch geproduceerd zal worden.

Aangezien de fret zeer gevoelig is voor infectie met wild-type (niet laboratorium-geadapteerde en klinisch relevante) influenza virussen, worden fretten al jaren gebruikt voor het maken van influenza-specifiek antiserum. Ondanks het feit dat het fretten model de eerste keuze is in het kader van influenza onderzoek, is ook de muis voor een aantal experimenten nodig. Zeker in het geval van neurovirulentie (1 van de vereisten voorgeschreven door de EMA) is de beschikbaarheid van een muis-geadapteerd virus dat in staat is om te repliceren in de hersenen na intranasale infectie een belangrijke factor voor de keuze van juist het muizenmodel. Dit neurovirulente virus kan ingezet worden als positieve controle in de uit te voeren experimenten in muizen.

De vrijgifte criteria waaraan bovengenoemde LAIVs moeten voldoen zijn vastgelegd in verschillende regulatoire documenten en moeten voldoen aan de volgende eisen:

1. Afwezigheid van neurovirulentie (zoals voorgeschreven door de EMA)
2. Bevestiging van het verzwakte fenotype in de longen (zoals voorgeschreven door de WHO)

Ad 1 (dierproef 1 en 2). Alhoewel het maar zelden voorkomt, kunnen influenza virus infecties geassocieerd worden met neurologische aandoeningen. De uitkomst van deze aandoeningen zijn zeer verschillend en kunnen leiden tot volledige genezing, maar ook tot blijvende schade en zelfs de dood.

Deze neurologische verschijnselen zijn zeer zeldzaam, maar ondanks dat moeten de MDVs van levend verzwakte influenza virus vaccins (zoals LAIV) getest worden op de afwezigheid van neurovirulente eigenschappen in het muizenmodel (zie EMEA richtlijnen EMEA/CPMP/BWP/2289/01, Appendix 1a en 1b en Voeten et al, Appendix 3).

Ad 2 (dierproef 3). Volgens de richtlijnen van de WHO zoals vermeld in de "WHO Expert Committee on Biological Standardization" is het voorgeschreven dat de MDVs van elk nieuw kandidaat levend verzwakt vaccin uitgetest moet worden. In dit experiment dient het verzwakte fenotype van de MDVs bevestigd te worden in de longen van fretten voordat de distributie van het betreffende vaccin in werking kan worden gezet (zie Annex 5 human pandemic influenza, Appendix 2).

Beide hierboven omschreven testen bij Ad 1 en Ad 2 betreffen kwalitatieve testen. In deze experimenten zal met de meest gevoelige detectie technieken aangetoond moeten worden dat de betreffende MDVs geen replicatie vertonen in de hersenen (zoals beschreven bij Ad 1) of in de lage luchtwegen (zoals beschreven bij Ad 2).

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

De algemene doelstelling van het project is het uittesten van de veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins door middel van een kwalitatieve bepaling:

1. Aantonen van de afwezigheid van replicatie in de hersenen (neurovirulentie testen) waarbij de primaire uitleesparameter de afwezigheid zal zijn van replicatie in de hersenen van muizen (in deze experimenten zal een influenza virus waarvan bewezen is dat het repliceert in de hersenen van muizen dienen als positieve controle).
2. het bevestigen van het levend verzwakte fenotype waarbij de primaire uitleesparameter de afwezigheid van virale replicatie in de longen van fretten is (in deze experimenten zal het corresponderende wildtype influenza virus dat wel repliceert in de longen dienen als positieve controle).

Dit soort studies worden door de aanvrager uitgevoerd om te kunnen voldoen aan de vraag van derden om de veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins uit te testen en om advies uit te brengen richting regelgevende instanties (de WHO en de EMEA). Vanwege de grote expertise van de aanvrager op het gebied van influenza en haar relevante in vivo modellen hebben dergelijke studies ook geleid tot publicatie in peer-reviewed tijdschriften. Deze expertise leidt tot een toename van de kwaliteit van het te gebruiken model en het ontwikkeltraject van de betreffende interventie strategie.

3.3 Belang

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

Seizoensinfluenza treft jaarlijks tussen de 5% en 10% van de volwassenen en zo'n 20% tot 30% van de kinderen. De ontwikkeling van griep kan resulteren in hospitalisatie en sterfte in vooral de zogenaamde risicogroepen (baby's, jonge kinderen, bejaarden en chronisch zieken). Geschat wordt dat de jaarlijkse epidemieën wereldwijd 3 tot 5 miljoen ernstig zieken leidt en tussen de 250.000 en 500.000 sterftegevallen. In ontwikkelde landen vallen de meeste doden bij mensen ouder dan 65 jaar. Epidemieën kunnen tevens leiden tot absentie van arbeiders en scholieren en daarmee economische schade veroorzaken (WHO Influenza fact sheet, 2014).

Influenza pandemieën zijn onvoorspelbaar maar terugkerende gebeurtenissen die wereldwijd grote gezondheids-, economische en maatschappelijke gevolgen hebben. Hiervoor zijn meerdere parallelle factoren verantwoordelijk: een (mogelijk) pandemische virus dat in staat is om blijvende mens-op-mens

transmissie te bewerkstelligen waarbij het een virus betreft waarvoor geen of nauwelijks immuniteit tegen is opgebouwd in de populatie. Door de wereldwijde toename in handel en reismogelijkheden kan een lokale epidemie snel omslaan naar een infectie op pandemische schaal waarbij weinig tijd beschikbaar is om doeltreffende maatregelen te treffen vanuit het oogpunt van de volksgezondheid. Daarnaast kan niet uitgesloten worden dat influenzavirussen uit andere bronnen zoals varkens, ook pandemisch potentieel hebben (WHO Avian Influenza fact sheet, 2014).

De resultaten verkregen in de dierproeven beschreven in dit project voorstel zullen gebruikt worden om veiligheid te garanderen van levend verzwakte influenza vaccins en de betreffende levend verzwakte influenza vaccins vrij te geven voor humaan gebruik. Vanwege het hoog immunogene karakter van deze levend verzwakte vaccins kunnen deze een bijdrage leveren in het voorkomen van infectie en de gevolgen van de infectie (ziekte) van zowel seizoensvirussen als ook pandemische virussen

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het doel van deze projectaanvraag is het uitvoeren van wettelijk vereiste veiligheidstesten voor het op de markt kunnen brengen van nieuwe levend verzwakte vaccins tegen influenza.

Levend verzwakte influenza vaccins dienen getest te worden op zowel werkzaamheid (immunogeniciteit en effectiviteit) en veiligheid voor humaan gebruik. Als eerste zal bepaald worden of een vaccin voldoende immunogeen is, m.a.w. kan het een adequate immuunrespons induceren. Zodra dit (al dan niet uitgevoerd door de aanvrager of anders gecommuniceerd door de derde partij met de aanvrager) aangetoond is, is het noodzakelijk dat de veiligheid van de vaccins bestudeerd wordt. Aangezien het vaccin uiteindelijk gebruikt zal worden in mensen, kan de veiligheid alleen uitgetest worden in de voor het preparaat en voor de vraagstelling geschikte diermodellen, zoals voorgeschreven door de verschillende regelgevende instanties. In het geval van replicerende (maar verzwakte) vaccins tegen influenza is vastgesteld door EMEA en WHO dat het vaccin na inoculatie niet mag repliceren in de hersenen (zie dierproeven 1 en 2 opgelegd door de EMEA) en dient aangetoond te worden dat het vaccin niet kan repliceren in de longen (zie dierproef 3 opgelegd door de WHO). Vrijgifte van het betreffende levend verzwakte influenza vaccin hangt af van de resultaten van beide experimenten. Indien in 1 van de 2 experimenten replicatie aangetoond wordt (in de hersenen van muizen bij dierproef 2 of in de longen van fretten bij dierproef 3) zal het betreffende levend verzwakte influenza vaccin niet vrijgegeven worden.

De volgorde van bovenstaande testen (afwezigheid van replicatie in de hersenen van muizen of in de longen van fretten) is in het vrijgifte proces niet van belang. Echter, indien in 1 van de 2 experimenten wel degelijk replicatie wordt aangetoond, zal het betreffende levend verzwakte influenza vaccin niet vrijgegeven kunnen worden.

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

Ad 1. Kan het levend verzwakte influenza vaccin repliceren in de hersenen van muizen:

Experiment 1: Dosis bepaling/bevestiging bewezen neurovirulent influenza virus

In dit experiment zal de optimale dosis van het bewezen neurovirulente virus (positieve controle) bevestigd worden. Dit virus is reeds beschreven in een wetenschappelijke publicatie waarin aangetoond is dat bij de door de auteurs gebruikte dosering en route van infectie het virus kan repliceren in de hersenen. Aangezien het betreffende virus opnieuw opgegroeid is, dient bevestigd te worden dat de nieuwe virusstock dezelfde biologische eigenschappen heeft als beschreven in de publicatie. Hiertoe zullen muizen intranasaal geïnfecteerd worden met 1 of verschillende doses van het virus en vervolgd worden voor 3 en 5 dagen na infectie. Dagelijks zullen alle dieren geobserveerd worden en klinische verschijnselen en virale load (op dag 3, 5 of bij vroegtijdige uitval) in de hersenen zal vergeleken worden met de reeds bekende dosis of tussen de verschillende doses op verschillende tijdstippen. De optimale dosis zal gebruikt worden in het opvolgende experiment.

Experiment 2: Neurovirulentie in muizen

In dit experiment zullen muizen via de intranasale route geïnfecteerd worden met zowel het bewezen neurovirulente influenza virus zoals uitgetest in experiment 1, maar ook de betreffende MDVs, zoals omschreven door de EMEA. Dit experiment is om aan te tonen of de MDVs, welke zullen fungeren voor het genereren van het levend verzwakte influenza vaccin (LAIV: life attenuated influenza vaccine), niet kunnen repliceren in de hersenen volgens een kwalitatieve bepaling met de meest gevoelige methode om influenza virus aan te kunnen tonen. Dit experiment is opgedeeld in twee fasen zoals omschreven in de richtlijnen van de EMEA. In het kader van vermindering, zal in de eerste fase per virus (positieve controle en de verschillende MDVs) een beperkt aantal muizen geïnfecteerd worden en de replicatie in de luchtwegen en/of het brein bestudeerd worden. De replicatie in de luchtwegen dient als controle of de dieren productief geïnfecteerd zijn. Indien replicatie in het brein aanwezig is, zal fase 2 niet uitgevoerd worden (NO GO). Indien geen replicatie wordt gezien, zullen per virus extra dieren geïnfecteerd worden om te kijken naar dezelfde variabelen (GO).

Ad 2. Kan het levend verzwakte influenza vaccin repliceren in de longen:

Om te bepalen of de MDVs welke gebruikt zullen worden voor het genereren van de LAIVs nog kunnen repliceren in de longen zullen fretten intranasaal geïnfecteerd worden met een positieve controle (replicerend influenza virus), negatieve control (PBS) en de verschillende MDVs. Voorafgaand aan de studie zullen de dieren voorzien worden van een temperatuur logger en op gezette tijden na infectie worden de dieren bemonsterd uit de luchtwegen en geëuthanaseerd voor het bepalen van replicatie in verschillende organen waaronder de longen. Deze experimenten hebben een kwalitatief karakter waarbij met de meest gevoelige methode zal worden geprobeerd om influenza virus aan te tonen. In tegenstelling tot Ad 1 zijn positieve controles reeds beschikbaar en dient dit niet op voorhand uitgetest te worden.

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.

Voor het testen van de veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins dienen de vaccins te voldoen aan de volgende criteria:

1. afwezigheid van replicatie in de hersenen van muizen (dierproef 2)
2. afwezigheid van replicatie in de longen van fretten (dierproef 3)

Niet noodzakelijkerwijs dienen de experimenten ter bevestiging van de veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in bovenstaande volgorde uitgevoerd te worden. Echter indien in 1 van de 2 experimenten wel degelijk replicatie aangetoond worden in dan wel de hersenen dan wel de luchtwegen, zal het andere experiment niet uitgevoerd worden. Daarnaast zal dierproef 2 gefaseerd uitgevoerd worden. Als eerste zal een beperkt aantal dieren geïnfecteerd worden en bij bewezen replicatie in de hersenen zal dit niet vervolgd worden in een groter aantal dieren (NO GO). Indien in de eerste dieren geen replicatie in de hersenen geobserveerd wordt (GO), zal een groter aantal dieren geïnfecteerd worden om de power te verhogen. Daarnaast is voorgeschreven door de WHO dat ook de replicatie in de luchtwegen van fretten bestudeerd dient te worden. Zodra voldaan is aan beide voorwaarden: afwezigheid van replicatie in de hersenen EN afwezigheid van replicatie in de longen kan het betreffende preparaat of de betreffende preparaten bestudeerd worden op werkzaamheid tegen infectie met influenza virus.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Dosis bepaling/bevestiging van bewezen neurovirulent influenza virus in muizen
2	Veiligheid van levend verzwakt influenza vaccin: Neurovirulentie in muizen
3	Veiligheid van levend verzwakt influenza vaccin: Bevestiging van verzwakte fenotype in de longen van fretten
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	Dosis bepaling/bevestiging van bewezen neurovirulent influenza virus in muizen

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Influenza infecties kunnen geassocieerd worden met verschillende neurologische aandoeningen. Gevolgen van deze aandoeningen zijn zeer variabel, waarbij de patiënt kan genezen maar ook kan overlijden. Ondanks het feit dat neurovirulentie nauwelijks wordt gerapporteerd blijft het een mogelijk gevaar bij het gebruik van levend verzwakte influenza virus vaccins. Dit is dan ook de reden dat de regelgevende instanties oplegt dat er wordt getest op de afwezigheid van neurovirulentie volgens de standaard EMEA richtlijnen voor levend verzwakte influenza virus vaccins (EMEA/CPMP/BWP/2289/01).

In dit deel van het onderzoek wordt er eerst gekeken naar de optimale infectie dosis van een positieve controle influenza virus in de muis. Dit positieve controle virus zal vervolgens gebruikt worden in de dierstudie beschreven in dierproef 2, waarbij de afwezigheid van replicatie in de hersenen van muizen aangetoond dient te worden. Het betreffende virus is reeds geadapteerd aan het muizenbrein wat infectie van het brein na intranasale toediening zal garanderen. Om dit aan te tonen zullen de muizen geïnfecteerd worden via de intranasale route en zullen brein en respiratoir weefsel getest worden op de aanwezigheid van influenza virus. Aanwezigheid van virus in respiratoir weefsel zal de positieve controle zijn binnen het experiment en toont aan dat intranasale infectie goed verlopen is. Primaire uitleesparameter in het experiment zal de detectie zijn van virus in de hersenen.

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 opzet van dit soort experimenten inclusief de groepsgroottes is bepaald in de richtlijnen welke omschreven zijn in EMEA/CPMP/BWP/2289/01 en vervolgens gepubliceerd door Voeten et al (Arch Virol 2010).

Nadat de dieren zijn aangekomen in de faciliteit zullen ze een acclimatisatie periode hebben van minimaal 1 week. Dieren worden voorzien van een oorknip voor identificatie, gewogen en er wordt bloed afgenomen via de wangprik (~100ul) voor serum. Deze hoeveelheid serum (~50ul) is voldoende om in het geval van onverwachte resultaten op basis van serologie uit te sluiten dat de dieren op voorhand een immunologische respons hadden tegen influenza. Op dag 0 zullen de dieren geïnfecteerd worden via de intranasale route met 50ul virus onder isofluraan sedatie (3-4%). Na infectie zullen de dieren dagelijks gewogen worden en klinische symptomen gescoord worden. Op gezette tijden na infectie (dag 3 en dag 5) of als het betreffende dier het humane eindpunt bereikt worden dieren geëuthanaseerd voor het bepalen van de virale load in respiratoir en hersen weefsel. Dag 3 na infectie dient ter controle op succesvolle inoculatie waarbij replicatie aangetoond dient te worden in respiratoir weefsel, terwijl dag 5 na infectie gekozen is om replicatie aan te tonen in hersen weefsel. Ter informatie staat hieronder een voorbeeld van de setup voor een dergelijke studie waarin 1 virus uitgetest zal worden (hierbij staat dX voor dag 3 en dY voor dag 5):

			Infection			
Group	No/Group	d -7	d -1	d0	dX	dY
1	5	Entry	Marking and blood	Intranasal inoculation Positive control with 50 µl	Sacrifice and harvesting of tissue	
2	5					Sacrifice and harvesting of tissue
HOUSING		NORMAL	DM-II			

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

Voor het onderzoek wordt er gewerkt volgens de standaard EMEA richtlijnen (EMEA/CPMP/BWP/2289/01). Verder is gebleken uit eerder onderzoek, gepubliceerd door Voeten et al, dat met een beperkt aantal van 5 dieren per tijdspunt aangetoond kan worden dat het betreffende virus ingezet kan worden als positieve controle in het vervolg experiment zoals beschreven in bijlage 2 met de corresponderende aantal dieren per groep. Power analyse is binnen deze dierproef niet mogelijk aangezien geen groepen binnen de dierproef met elkaar vergeleken worden, daarentegen is gekozen voor een zeer beperkt aantal dieren per tijdspunt om aan te tonen dat de positieve controle als zodanig ingezet kan worden in de dierproeven zoals beschreven in bijlage 2.

B. De dieren

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

Diersoort: muizen (Swiss), vrouwelijk of mannelijk van 4-6 weken oud

In tegenstelling tot andere diersoorten (zoals fretten of NHP), is er een influenza virus beschikbaar dat geadapteerd is aan replicatie in de hersenen van muizen. De beschikbaarheid van een dergelijk virus biedt de mogelijkheid om zonder voorwerk (in het kader van vermindering) gebruik te maken van deze positieve controle. Daarnaast heeft reeds gepubliceerd onderzoek aangetoond dat replicatie in de hersenen in deze muizenstam van dit geslacht en leeftijd aangetoond kan worden (Voeten et al). De keuze van het geslacht is gebaseerd op de vervolg experimenten zoals omschreven in dierproef 2, in dierproef 2 is dan ook een rechtvaardiging gegeven voor het te gebruiken geslacht.

Herkomst: geregistreerde proefdierfokker

Geschatte aantal: 110 dieren in 5 jaar

In eerdere reeds gepubliceerde resultaten (Voeten et al Archives of Virology 2010) is aangetoond dat dit virus kan repliceren in de hersenen van alle geïnfecteerde muizen bij de gekozen dosis en route van infectie. Aangezien infectie en replicatie in de hersenen zal dienen als positieve controle in toekomstige experimenten, dienen alle geïnfecteerde dieren positief te zijn. Zoals beschreven bij punt A zijn 5 dieren per tijdspunt (ofwel 10 dieren per groep) benodigd om aan te tonen dat het virus bij de gekozen dosering kan dienen als positieve controle.

Er wordt verwacht om een dergelijke studie maximaal 1 keer per jaar uit te voeren voor een virus waar de dosering reeds van bekend is (1 uit te testen dosis), dus een totaal aantal van 5 jaar x 10 muizen = 50

muizen. Echter, indien er voldoende onderbouwing is dat het betreffende virus in vivo nog presteert zoals eerder bevonden, zal dit experiment niet nogmaals uitgevoerd worden. 50 muizen in 5 jaar is dus het maximale aantal, maar getracht wordt om hiervoor minder muizen te gebruiken.

Indien de reeds bekende dosis niet leidt tot 100% infectie in de hersenen, zal een dose-finding uitgevoerd worden om te bepalen wat de benodigde dosis moet zijn (dit kan bijvoorbeeld het geval zijn na opnieuw opgroeien van het virus). Op basis van onze ervaring is de verwachting om in de 5 jaar dit maximaal 2 keer uit te zullen moeten testen en waar dan 3 verschillende doseringen uitgetest zullen moeten worden, dus een totaal van $2 \text{ maal} \times 3 \text{ doseringen} \times 10 \text{ muizen} = 60 \text{ muizen}$.

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.

Vervanging: deze experimenten zijn opgezet om te bepalen of het positieve controle virus in de gekozen dosering kan repliceren in het brein van de muis na intranasale toediening. Dit is in vitro niet na te bootsen.

Vermindering: de groepsgrootte is dusdanig tot stand gekomen dat met het kleinst mogelijke aantal gekomen kan worden tot significante resultaten (zie ook B "geschatte aantal").

Verfijning: Meest invasieve behandelingen zullen uitgevoerd worden onder sedatie en dieren worden dagelijks geobserveerd.

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

Zie hierboven bij verfijning. De kans op nadelige milieueffecten zal tot een minimum beperkt worden door het feit dat dieren gehuisvest zullen worden in HEPA gefilterde IVC bakken en handelingen zullen uitgevoerd worden in een veiligheidskabinet. Afval (bedding, kadavers en andere materialen gebruikt in de studie) zullen worden aangeboden voor destructie en/of worden gesteriliseerd. De gehele studie wordt uitgevoerd onder BSL II ingeperkte condities.

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., echter dienen de experimenten uitgevoerd onder dierproef 1 als bevestiging of de positieve controle, zoals meegenomen in de wettelijk vereiste dierproeven uitgevoerd onder dierproef 2, volstaat. Van duplicatie zal dus geen sprake zijn, echter zal een tweede experiment onder dierproef 1 alleen uitgevoerd worden indien onzeker is of de positieve controle nog presteert zoals deze zou moeten presteren.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☒ (de inschatting is dat op basis van ervaring in eerdere dierproeven met de hier uit te testen virus stam, test preparaten en dosis/doses er geen pijn verwacht wordt in de dieren als gevolg van de infectie en vervolgens de replicatie in de luchtwegen/hersenen) 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?

Andere verschijnselen die de dieren kunnen vertonen, maar die niet gepaard gaan met pijn zijn:

- zijn algemene verschijnselen: opgezette vacht, gebogen postuur en verminderd actief bij stimulatie
- respiratoire verschijnselen: een verhoogde ademhalingsfrequentie (deze zal bij verergering overgaan in stokkende/schokkende ademhaling)
- neurologische verschijnselen: verstoorde locomotie zoals een instabiele gang (deze zal bij verergering overgaan in verlamming (parese en paralyse)).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

replicatie in de luchtwegen (respiratoire verschijnselen) of de hersenen (neurologische verschijnselen).

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

De inschatting is dat de dieren binnen de studie geen pijn zullen ondervinden (zie ook H). Daarnaast is het zo dat analgetica in het algemeen naast pijnstillende ook een ontstekingsremmende werking hebben en kunnen dus interfereren in de studie. Daarom is per definitie het gebruik van analgetica niet mogelijk in deze experimenten tijdens de infectie fase. Indien de conditie van een dier dusdanig is dat het niet meer

zelfstandig kan eten, zal er naast voer en water via de normale weg ook (bevochtigd) voer aangeboden worden op de bodem van de bak op een geschikte ondergrond (bv. petrischaal).

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.

De dieren zullen dagelijks geobserveerd worden en klinische scores (zoals beschreven in de publicatie van Voeten et al.) worden genoteerd. Bij matig ongerief (zie hieronder de inschaling van de ongerief klassen) zal het betreffende dier uit de studie worden genomen. Deze klinische ongerief klassificaties zijn:

Licht: 2 algemene symptomen*

Matig: 3 algemene symptomen of neurologische verschijnselen*

Ernstig: gewichtsverlies van >15%

* algemene symptomen: opgezette vacht, gebogen postuur en verminderd actief

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

Op basis van gepubliceerde data is de verwachting dat 50% van de dieren licht en 50% van de dieren matig ongerief zullen ondervinden. Ernstig ongerief door het vertonen van gewichtsverlies van >15% wordt niet verwacht vanwege de korte tijdsduur van het experiment (5 dagen) en dit is tevens gebaseerd op eigen ervaringen met influenza virus in muizen. Daarnaast is het zo dat respiratoire symptomen i.v.m. de korte looptijd van de studie niet verwacht worden

K. Classificatie van ongerief

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

Het cumulatieve ongerief voor de gehele studie wordt ingeschaald op "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.

Om te zien of het virus neurovirulent is zullen de hersenen moeten worden verwijderd en zullen de virus titers worden bepaald. Daarnaast fungeren de virale titers in het respiratoir weefsel als positieve controle voor infectie. Dergelijke bemonsteringen zijn niet mogelijk uit een intact dier.

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

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

☒ Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	90500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	BioXpert	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
		2	Veiligheid van influenza vaccin: Neurovirulentie in muizen

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.

Het testen van de neurovirulentie van MDVs welke als basis dienen voor life-attenuated influenza vaccines (LAIV) is een wettelijke vereiste. Na het bepalen van de virus dosis van de positieve controle in het voorgaande experiment (volgnummer 1) zal de afwezigheid van neurovirulentie getest worden van de betreffende master donor virussen (MDVs) en als positieve controle zal het positieve controle virus meegenomen worden. Deze MDVs zullen fungeren als basis voor het levend verzwakte influenza vaccin en de afwezigheid van neurovirulentie is 1 van de vereisten van een dergelijk vaccin. De primaire uitleesparameter in dit experiment is de afwezigheid van virusreplicatie in de hersenen waarbij de testen om dit aan te tonen een kwalitatief karakter hebben. En als positieve controle zal na infectie met het positieve controle virus replicatie aangetoond moeten worden in de hersenen van 100% van de muizen. Binnen het experiment zal een GO/NO GO beslissing ingebouwd worden. In het kader van vermindering zal met een beperkt aantal dieren het eerste deel van het experiment uitgevoerd worden. Ten eerste zal virus detectie in de luchtwegen van deze eerste dieren dienen om aan te tonen dat de dieren productief geïnfecteerd zijn geweest. Daarnaast, indien in de eerste 10 dieren al neurologische verschijnselen worden gezien en/of virus wordt gedetecteerd in de hersenen op dag 3 na infectie, zal het resterende aantal (30) niet gebruikt worden (NO GO). Indien bovenstaande niet wordt gevonden, zal het resterende aantal volgens hetzelfde protocol (dosering en route van infectie) wel gebruikt worden om met grotere zekerheid aan te tonen dat de MDVs niet kunnen repliceren in de hersenen op dag 5 na infectie (GO). Deze dag 5 (in tegenstelling tot dag 3 waarbij de replicatie in de luchtwegen piekt) is de meest optimale dag om de replicatie in de hersenen te bestuderen.

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 opzet van dit soort experimenten inclusief de groepsgrootten is bepaald in de richtlijnen welke omschreven zijn in EMEA/CPMP/BWP/2289/01 en vervolgens gepubliceerd door Voeten et al (Arch Virol 2010).

Nadat de dieren zijn aangekomen binnen de faciliteit zullen ze een acclimatisatie periode hebben van minimaal 1 week. Dieren worden voorzien van een oorknip voor identificatie, gewogen en er wordt bloed afgenomen via de wangprik (~100ul) voor serum. Deze hoeveelheid serum (~50ul) is voldoende om in het geval van onverwachte resultaten op basis van serologie uit te sluiten dat de dieren op voorhand een immunologische respons hadden tegen influenza. Op dag 0 zullen de dieren geïnfecteerd worden via de intranasale route met 50ul van het positieve controle virus of test preparaat (MDV) onder isofluraan sedatie (3-4%). Na infectie zullen de dieren dagelijks gewogen worden en klinische symptomen gescoord worden. Op een vastgesteld tijdstip na infectie (dag 3 of dag 5) of als het betreffende dier het humane eindpunt bereikt worden de dieren geëuthanaseerd voor het bepalen van de virale load in respiratoir en hersen weefsel. Indien geen neurologische verschijnselen of virus in de hersenen worden gevonden in de eerste serie dieren, zal een tweede serie met een andere looptijd ingezet worden. Ter informatie staat hieronder een voorbeeld van de setup voor een dergelijke studie waarin 2 test preparaten uitgetest zullen worden (hierbij staat dX voor dag 3 en dY voor dag 5):

		Infection				
Group	No./Group	d -7	d -1	d0	dX	dY
1	10	Entry	Marking	Intranasal inoculation Positive control with 50 µl	Sacrifice and harvesting of tissue	
2	30					Sacrifice and harvesting of tissue
3	10			Intranasal inoculation test substance 1 with 50 µl	Sacrifice and harvesting of tissue	
4	30					Sacrifice and harvesting of tissue
5	10			Intranasal inoculation test substance 2 with 50 µl	Sacrifice and harvesting of tissue	
6	30					Sacrifice and harvesting of tissue
HOUSING		NORMAL	DM-II			

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

Voor het onderzoek wordt er gewerkt volgens de standaard EMEA richtlijnen (EMEA/CPMP/BWP/2289/01). Hierin wordt een aantal van 40 dieren per preparaat aangegeven (in eerste instantie 10 dieren per groep en bij afwezigheid van neurologische verschijnselen of replicatie in de hersenen nog 30 additionele dieren).

B. De dieren

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

Diersoort: muizen (Swiss), vrouwelijk van 4-6 weken oud

In tegenstelling tot andere diersoorten (zoals fretten of NHP), is er een influenza virus beschikbaar dat geadapteerd is aan replicatie in de hersenen van muizen. De beschikbaarheid van een dergelijk virus biedt de mogelijkheid om gebruik te maken van deze positieve controle binnen de experimentele set-up. Daarnaast heeft reeds gepubliceerd onderzoek heeft aangetoond dat replicatie in de hersenen in deze muizenstam van dit geslacht en leeftijd aangetoond kan worden (Voeten et al). Alhoewel het geslacht niet gedefinieerd is in de EMEA richtlijnen, is voor deze dierproeven toch gekozen om voor vrouwelijke dieren te gaan. Dit is gebaseerd op de enige publicatie voor het testen van neurovirulentie van MDVs van Voeten et al. In deze publicatie zijn de experimenten zoals hier ook beschreven succesvol afgerond in vrouwelijke dieren. Indien informatie beschikbaar is die anderzijds aantoonde (vanuit regelgevende instanties of de leverancier), zal overwogen worden om met ofwel mannelijke ofwel gemengde geslachten te gaan werken. Indien dit laatste het geval is, zal ook het voorwerk (zoals beschreven in dierproef 1) in hetzelfde geslacht

uitgevoerd worden.

Herkomst: geregistreerde proefdierfokker

Geschatte aantal: 1200 dieren in 5 jaar

Er wordt verwacht om een dergelijke studie 2 keer per jaar uit te voeren voor twee test preparaten t.o.v. 1 positieve control, dus een totaal aantal van 2 maal x 5 jaar x 40 muizen x 3 groepen = 1200 muizen.

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.

Vervanging: deze experimenten zijn opgezet om te bepalen of de test preparaten na intranasale toediening kunnen repliceren in de hersenen van de muis en klinische verschijnselen induceren. Dit is in vitro niet na te bootsen.

Vermindering: De aantallen zijn opgelegd door de regelgevende instanties. Daarnaast is er een GO/NO GO moment ingebouwd door eerst met een beperkt aantal dieren de experimenten aan te vangen en bij afwezigheid van neurologische verschijnselen en/of replicatie in de hersenen het vervolg in te zetten met een groter aantal dieren.

Verfijning: Meest invasieve behandelingen zullen uitgevoerd worden onder sedatie en dieren worden dagelijks geobserveerd.

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

Zie hierboven bij verfijning. De kans op nadelige milieueffecten zal tot een minimum beperkt worden door het feit dat dieren gehuisvest zullen worden in HEPA gefilterde IVC bakken en handelingen zullen uitgevoerd worden in een veiligheidskabinet. Afval (bedding, kadavers en andere materialen gebruikt in de studie) zullen worden aangeboden voor destructie en/of worden gesteriliseerd. De gehele studie wordt uitgevoerd onder BSL II ingeperkte condities.

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.

Alhoewel het hier experimenten betreffen die opgelegd zijn door regelgevende instanties (en dus een wettelijke vereiste zijn), zullen de test preparaten welke uitgetest zullen worden elke keer weer verschillend zijn van origine.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☒ (de inschatting is dat op basis van ervaring in eerdere dierproeven met de hier uit te testen virus stam, test preparaten en dosis/doses er geen pijn verwacht wordt in de dieren als gevolg van de infectie en vervolgens de replicatie in de luchtwegen/hersenen) 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?

Andere verschijnselen die de dieren kunnen vertonen, maar die niet gepaard gaan met pijn zijn:

- zijn algemene verschijnselen: opgezette vacht, gebogen postuur en verminderd actief bij stimulatie
- respiratoire verschijnselen: een verhoogde ademhalingsfrequentie (deze zal bij verergering overgaan in stokkende/schokkende ademhaling)
- neurologische verschijnselen: verstoorde locomotie zoals een instabiele gang (deze zal bij verergering overgaan in verlamming (parese en paralyse)).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Verschijnselen worden veroorzaakt door infectie met het influenza virus en vervolgens replicatie in de luchtwegen (respiratoire verschijnselen) of de hersenen (neurologische verschijnselen).

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

De inschatting is dat de dieren binnen de studie geen pijn zullen ondervinden (zie ook H). Daarnaast is het zo dat analgetica in het algemeen naast pijnstillende ook een ontstekingsremmende werking hebben en kunnen dus interfereren in de studie. Daarom is per definitie het gebruik van analgetica niet mogelijk in

deze experimenten tijdens de infectie fase. Indien de conditie van een dier dusdanig is dat het niet meer zelfstandig kan eten, zal er naast voer en water via de normale weg ook (bevochtigd) voer aangeboden worden op de bodem van de bak op een geschikte ondergrond (bv. petrischaal).

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.

De dieren zullen dagelijks geobserveerd worden en klinische scores (zoals beschreven in de publicatie van Voeten et al.) worden genoteerd. Bij licht (MDVs) of matig (positieve controle) ongerief (zie hieronder de inschaling van de ongerief klassen) zal het betreffende dier uit de studie worden genomen. Deze klinische ongerief klassificaties zijn:

Licht: 2 algemene symptomen*

Matig: 3 algemene symptomen of neurologische verschijnselen*

Ernstig: gewichtsverlies van >15%

* algemene symptomen: opgezette vacht, gebogen postuur en verminderd actief

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

Op basis van gepubliceerde data is de verwachting dat 50% van de dieren licht en 50% van de dieren matig ongerief zal ondervinden door infectie met de positieve controle. Ernstig ongerief door het vertonen van gewichtsverlies van >15% wordt niet verwacht vanwege de korte tijdsduur van het experiment (5 dagen) en dit is tevens gebaseerd op eigen ervaringen met influenza virus in muizen.

Voor de dieren die geïnfecteerd worden met de test preparaten: voor deze preparaten is de verwachting dat ze niet kunnen repliceren in de hersenen/respiratoir weefsel en dus ook geen klinische verschijnselen vertonen (zoals ook beschreven door Voeten et al), dus de kans dat de dieren licht ongerief hebben is <5%.

K. Classificatie van ongerief

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

Het cumulatieve ongerief voor de positieve controle groep wordt ingeschaald op "matig" en van de overige test groepen op "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.

Om te zien of het virus neurovirulent is zullen de hersenen moeten worden verwijderd en zullen de virus titers worden bepaald. Daarnaast fungeren de virale titers na infectie met de positieve controle in het respiratoir weefsel als gate-keeper voor infectie. Dergelijke bemonsteringen zijn niet mogelijk uit een intact dier.

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

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

☒ Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	90500	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	BioXpert	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
	<i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	3	Veiligheid van influenza vaccin: Bevestiging van verzwakte fenotype in de longen van fretten

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Naast het bepalen van de neurovirulentie van de master donor viruses (MDVs) zoals omschreven in volgnummers 1 en 2, is een tweede vereiste om te bepalen of de MDVs daadwerkelijk levend verzwakt zijn. Deze vereiste is voorgeschreven door de WHO en weergegeven in "WHO Expert Committee on Biological Standardization". Aangezien de MDVs als basis zullen dienen voor de productie van levend verzwakte influenza virus vaccins (LAIV: life attenuated influenza vaccines), dient het verzwakte vermogen aangetoond te worden in het fretten model. Hiertoe zullen fretten intranasaal geïnfecteerd worden met de MDVs en als controle zullen corresponderende wild-type virussen meegenomen worden. In deze experimenten zullen fretten gebruikt worden vanwege de gevoeligheid van deze diersoort voor niet geadapteerde virussen (i.t.t. de muis). Deze diersoort is derhalve een gevoelig model voor het bepalen van de afwezigheid van replicatie in de longen. De primaire uitleesparameter in deze experimenten zal derhalve ook zijn de afwezigheid van virale replicatie in de longen van fretten na toediening van de MDVs in tegenstelling tot de meegenomen positieve controle waarbij de testen om dit aan te tonen een kwalitatief karakter hebben. Positieve controle in deze experimenten zullen de wild-type virussen zijn, die wel degelijk kunnen repliceren in de luchtwegen van fretten.

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 opzet van dit soort experimenten inclusief de groepsgrootten is bepaald in de richtlijnen welke omschreven zijn in "WHO Expert Committee on Biological Standardization" en verder in <http://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/influenza/Annex%205%20human%20pandemic%20influenza.pdf>.

Na binnenkomst (minimaal 3 weken voor start van het experiment), vervolgens wekelijks en na infectie dagelijks, zullen de dieren gewogen worden om de algemene gezondheidsstatus te volgen. Een acclimatisatieperiode van minimaal 7 dagen zal worden aangehouden. Minimaal 14 dagen voor de start van het experiment zal een zgn. nul-bloedmonster voor referentie in analyses afgenomen worden onder sedatie via de vena jugularis waarna een temperatuurlogger ingebracht zal worden. Dit zal gebeuren door middel van een operatie waarbij de buikwand geopend zal worden en de temperatuurlogger via de linea alba in de peritoneale holte geplaatst zal worden waarna de wond gehecht wordt. Deze temperatuurlogger meet de lichaamstemperatuur van het dier gedurende de looptijd van de studie (klinische parameter). Peri- en postoperatief zullen de dieren topicale pijnbestrijding krijgen om het genezingsproces te bevorderen en na afloop van de operatie zal de werking van de anesthesie geantagoneerd worden. Op dag -1 zullen alle dieren bemonsterd (neus en keel) worden en op dag 0 via de intranasale route geïnoculeerd worden met een volume van 300ul van de verschillende preparaten. Het nul-monster wordt een dag voor de daadwerkelijke inoculatie uitgevoerd om geen interferentie te hebben met de inoculatie zelf. Na infectie zal de anesthesie geantagoneerd worden en zullen de dieren dagelijks of om de dag bemonsterd worden uit de bovenste luchtwegen (keel en neus) en op gezette tijdstippen (dag 3 en dag 14 na infectie) zal een aantal dieren geëuthanaseerd worden voor het verzamelen van relevant weefsel. Daarnaast zullen de dieren dagelijks tot het einde van de proef geobserveerd worden om te bepalen of er klinische verschijnselen te zien zijn.

Ter informatie staat hieronder een voorbeeld van de setup voor een dergelijke studie waarin 2 test preparaten uitgetest zullen worden:

		Infection									
Group	No./Group	d -14	d -1	d0	d1	d3	d5	d7	d9	d14	
1	3	TS	S	Intranasal inoculation Wild type A	S	S	Sacrifice and harvest organs**				
2	3							S	S	S	S; Sacrifice
3	3						Sacrifice and harvest organs**				
4	3							S	S	S	S; Sacrifice
5	3						Sacrifice and harvest organs**				
6	3							S	S	S	S; Sacrifice
7	3						Sacrifice and harvest organs**				
8	3							S	S	S	S; Sacrifice
HOUSING		NORMAL	DM-II								

Abbreviations: MDV = master donor virus; TS = temperature sensor; S = nose- and throat swabs

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

Voor het onderzoek wordt er gewerkt volgens de standaard EMEA richtlijnen (<http://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/influenza/Annex%205%20human%20pandemic%20influenza.pdf>). Hierin is het aantal dieren per preparaat en per tijdstip vastgesteld (3 per preparaat per tijdstip).

B. De dieren

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

Diersoort: mannelijke of vrouwelijke fretten (4-8 maanden oud)

Fretten zijn gevoelig voor infectie met wild-type klinische relevante influenza virussen en derhalve worden fretten bijvoorbeeld ook regelmatig gebruikt voor het genereren van anti-sera voor het typeren van influenza virussen. Derhalve zijn fretten ook een goed model voor het bepalen van het verzwakte fenotype van de betreffende vaccins vanwege de hoge gevoeligheid. Daarnaast zijn de klinische verschijnselen geobserveerd in fretten overeenkomstig met de klinische verschijnselen in mensen. Deze experimenten kunnen uitgevoerd worden in zowel mannelijke of vrouwelijke fretten, de keuze zal bepaald worden door de beschikbaarheid van een reeds gevalideerd model dat zal dienen als positieve controle en tevens zal ook de beschikbaarheid van de verschillende geslachten meegenomen worden in de keuze.

Herkomst: geregistreerde fokker in de EU

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

Geschat aantal: 240 dieren

Er wordt verwacht om een dergelijke studie 2 keer per jaar uit te voeren voor twee test preparaten t.o.v. 2 positieve controles (in lijn met volgnummer 2), dus een totaal aantal van 2 maal x 5 jaar x 6 fretten x 4 groepen = 240 fretten.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

☒ Nee, ga door met vraag D.

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

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

☐ Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging: deze dierproef is opgezet om de veiligheid van vaccins te bestuderen tegen infectie met influenza virus. Dergelijke studies zijn niet mogelijk zonder in vivo modellen. Naast het uittesten van de mogelijk neurovirulente eigenschappen in de muis, stellen de regelgevende instanties ook dat het verzwakte fenotype bestudeerd dient te worden in het fretten model.

Vermindering: De voorgestelde aantallen zijn opgelegd door de regelgevende instanties.

Verfijning: Invasieve handelingen zullen uitgevoerd worden onder sedatie. Er zullen zoveel mogelijk handelingen tijdens hetzelfde sedatiemoment worden uitgevoerd zoals vaccinatie, bloedafname en bemonstering uit de luchtwegen. Wanneer de dieren gesedeerd zijn worden ze ook gewogen. Maximaal zullen er per dierstudie 16 sedatie momenten zijn afhankelijk van de frequentie van het afnemen van monsters uit de bovenste luchtwegen. Daarnaast zullen de dieren dagelijks geobserveerd en indien dit noodzakelijk bevonden wordt vanuit een welzijnsstandpunt gewogen 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.

Zie hierboven bij verfijning. De kans op nadelige milieueffecten zal tot een minimum beperkt worden door het feit dat dieren gehuisvest zullen worden onder minimaal een DM2 regime, handelingen uitgevoerd zullen worden in een veiligheidskabinet onder ML2 regime en afval (bedding, kadavers en andere materialen

gebruikt in de studie) aangeboden zal worden voor destructie.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

n.v.t. Alhoewel het hier experimenten betreffen die opgelegd zijn door regelgevende instanties (en dus een wettelijke vereiste zijn), zullen de test preparaten welke uitgetest zullen worden elke keer weer verschillend zijn van origine.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

Na de operatieve plaatsing van de temperatuur loggers zullen de dieren peri- en post operatief pijnbestrijding krijgen (meloxicam). Als gevolg van de infectie en vervolgens replicatie van het virus in de luchtwegen, is de inschatting dat de dieren geen pijn zullen ondervinden.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Andere verschijnselen die de dieren kunnen vertonen, maar die niet gepaard gaan met pijn zijn:

- zijn algemene verschijnselen: gewichtsverlies en verminderd actief bij stimulatie
- respiratoire verschijnselen: een verhoogde ademhalingsfrequentie (deze zal bij verergering overgaan in stokkende/schokkende ademhaling)
- neurologische verschijnselen: verstoorde locomotie zoals een instabiele gang en/of ongecontroleerde bewegingen (deze zal bij verergering overgaan in verlamming (parese en paralyse)).

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De klachten worden veroorzaakt door infectie met het influenza virus en vervolgens replicatie in de luchtwegen (respiratoire verschijnselen) of de hersenen (neurologische verschijnselen).

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

Behalve na implantatie van de temperatuur loggers, is de inschatting is dat de dieren binnen de studie geen pijn zullen ondervinden als gevolg van de infectie (zie ook H). Daarnaast is het zo dat de meest gangbare analgetica in het algemeen naast pijnstillende ook een ontstekingsremmende werking hebben en kunnen dus interfereren in de studie. Daarom is per definitie het gebruik van dergelijke analgetica niet mogelijk in deze experimenten vanwege verstoring van de primaire uitlees parameter.

J. Humane eindpunten

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

☐ Nee > Ga verder met vraag K.

☒ Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Tijdens de challenge fase kunnen infectie gerelateerde verschijnselen optreden welke leiden tot de volgende humane eindpunten. Bij het vertonen 1 van de volgende humane eindpunten (matig ongerief) zal het betreffende dier geëuthanaseerd worden:

1. Gewichtsverlies: na infectie met de positieve controle virussen of de betreffende MDVs worden de dieren dagelijks gewogen. Het humane eindpunt is gedefinieerd als het betreffende dier 10% of meer gewicht verliest (geclassificeerd als matig ongerief) t.o.v. het startgewicht op de dag van challenge (hoewel de middelen daartoe erg beperkt zijn, kan ook bekeken worden tijdens de challenge fase of een betreffend dier solitair gehuisvest kan worden).
2. Respiratie: bij verergering van de ziekte zal de ademhaling veranderen van normale naar een verhoogde ademhalingsfrequentie (licht ongerief). Bij verergering van de symptomen naar stokkende / schokkende ademhaling zal het dier geëuthanaseerd worden (matig ongerief).
3. Diarree: indien in de huisvesting te zien is dat een of meerdere dieren diarree (geclassificeerd als matig) hebben, zullen alle dieren afzonderlijk beoordeeld worden om te bepalen of er aanwijzingen zijn (vuile vacht rond de anus) welke dieren daadwerkelijk diarree vertonen.

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

4. Neurologisch: in enkele gevallen kan het virus vanuit de neus van het dier doorslaan naar de hersenen en zo een ontsteking van de hersenen induceren. De daarbij behorende verschijnselen zijn onstabiele gang en ongecontroleerde bewegingen (zoals beschreven in Bodewes et al 2015 AJP).
5. Lethargie: indien een dier lethargisch is (m.a.w. als het niet meer reageert op externe prikkels).

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

De positieve controle dieren (geïnfecteerd met wild-type influenza virus) hebben 100% kans om bovenstaande verschijnselen omschreven bij 1 t/m 3 te tonen, verschijnselen zoals beschreven bij 4 en 5 worden niet verwacht en zijn ingeschaald op <5%. Voor de dieren die behandeld worden met de verschillende MDVs is de kans zeer klein dat ze klinische symptomen zoals beschreven bij 1 t/m 5 ontwikkelen (<5%).

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.

De dieren zullen een matig ongerief ervaren van de inoculatie van de virussen, ontwikkeling van klinische symptomen en de bijkomende sedatie momenten.

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 dataloggers worden verwijderd en er zullen verschillende weefsels worden verzameld om de virale load hierin te bepalen. Dit is niet mogelijk bij in leven laten van de dieren.

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

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

☒ Ja

Format DEC-advies

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD905002016412
2. Titel van het project: Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten.
3. Titel van de NTS: Veiligheid van levend verzwakte griepvaccins in muizen en fretten.
4. Type aanvraag:
 - X nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - X ontvangen door DEC: 08-12-2015
 - X aanvraag compleet: 05-01-2016
 - X in vergadering besproken: 13-01-2016
 - X anderszins behandeld: 22-12-2015 schriftelijk in kleine commissie t.b.v. het beoordelen van het project op toetsbaarheid.
termijnonderbreking(en) van / tot
besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - X aanpassing aanvraag: 05-01-2016 en 11-02-2016
 - X advies aan CCD: 14-02-2016
7. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 23-12-2015 en 18-01-2016
 - Strekking van de vragen:
De correspondentie d.d. 23-12-2015 had betrekking op:

- Nadere toelichting en helderder beschrijving van de doelstellingen en de onderlinge afhankelijkheid van deze doelstellingen, zodat hieruit duidelijk valt op te maken dat het project als een toetsbare eenheid dient te worden opgevat, danwel verzoek om de aanvraag op te splitsen in meerdere separate aanvragen.
- Nader toelichting van het belang van het project, specifiek in het licht van de doelstellingen.
- Nadere toelichting en onderbouwing van het gebruikte diermodel.
- Onderbouwing van het gebruik van uitsluitend vrouwelijke muizen.
- Onderbouwing van de noodzaak van het elk jaar uitvoeren van deze test.
- Nadere toelichting en onderbouwing van de keuze van de tijdpunten waarop de dieren worden geëuthanaseerd voor het bepalen van de virale load in respiratoir- en hersenweefsel.
- Nadere toelichting en onderbouwing en zo mogelijk verdere aanscherping van de humane eindpunten.
- Toelichting m.b.t. de berekening van de aantallen dieren.
- Redactionele aspecten: Nader verduidelijken danwel toespitsen van diverse tekstpassages en een logische en consequente opname van tekstpassages bij de desbetreffende (sub)hoofdstukken in elk formulier. Zorgvuldig en consequent afstemmen van de tekst van de het projectvoorstel en de verschillende bijlagen onderling.

De correspondentie d.d. 18-01-2016 had betrekking op:

- Redactionele aspecten: Zorgvuldig en consequent afstemmen van de tekst van het projectvoorstel en de verschillende bijlagen onderling, m.n. met betrekking tot de inschatting van de welzijnsaantasting en de keuze voor het geslacht van de dieren.
- Datum antwoord: 04-01-2016 en 11-02-2016
 - Strekking van de antwoorden: De vragen en opmerkingen zijn voldoende 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:

X uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord

X wettelijk vereist

2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling.

Jaarlijks circulerende seizoensgriepvirussen treffen jaarlijks tussen de 5 - 10% van de volwassenen en 20 - 30% van alle kinderen. Ontwikkeling van griep kan met name in de zogenaamde risicogroepen (baby's, jonge kinderen, bejaarden en chronisch zieken) leiden tot hospitalisatie en sterfte. Naar schatting leiden de jaarlijkse epidemieën wereldwijd tot 3 - 5 miljoen ernstig zieken en 250.000 - 500.000 sterfgevallen. Daarnaast kan ernstige ziekte optreden als er sprake is van infectie met zogenaamde 'pandemische' griepvirussen, welke relatief nieuw zijn en waartegen mensen nog geen bescherming hebben opgebouwd door vaccinatie of eerdere infectie. Infecties als gevolg van deze beide typen griepvirussen hebben daarom wereldwijd grote gevolgen voor de volksgezondheid, en zijn tevens verantwoordelijk voor aanzienlijke economische en maatschappelijke gevolgen.

Seizoensvaccins tegen griep moeten elk jaar worden afgestemd op de dan circulerende griepvirussen. Vaccinproducenten werken daarom constant aan de ontwikkeling van vaccins tegen beide typen griepvirussen. Een belangrijke ontwikkeling op dit gebied zijn de zogenaamde 'levend verzwakte' griepvaccins. Deze vaccins kunnen door hun specifieke eigenschappen bescherming bieden tegen een breed scala aan griepvirussen. Door de regelgevende instanties zijn echter voorwaarden opgelegd om de veiligheid van dit soort vaccins te waarborgen.

Doel van dit project is het (in opdracht van derden) uittesten van de veiligheid van levend verzwakte griepvaccins. De veiligheid wordt getest door aan te tonen dat het vaccinvirus na toediening niet repliceert in de ontvanger van het vaccin. De resultaten uit deze studie leveren een bijdrage aan de kennis over de veiligheid van nieuwe generatie verzwakte griepvaccins. Kortom, 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. De commissie schat het belang van de studie derhalve in als een substantieel belang.

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 bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. Voor deze studie worden muizen en fretten gebruikt. Dit zijn de meest geëigende (en tevens kleinst mogelijke) diermodellen om respectievelijk replicatie van het vaccinvirus in de hersenen danwel de longen te bepalen.
6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Als gevolg van de toediening van de verschillende preparaten kunnen de dieren last krijgen van luchtwegverschijnselen en neurologische verschijnselen. Voor de muizen betekent dit dat er voor 60% van de dieren een lichte en 40% van de dieren sprake zal zijn van een matige aantasting van het welzijn. Van de fretten zal 100% van de dieren een matige aantasting van het welzijn ondergaan.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. De voorgestelde studies zijn alleen mogelijk in diermodellen met een intact afweersysteem. Waar mogelijk zal in het voortraject van de studie zo veel mogelijk proefdiervrij onderzoek worden uitgevoerd (bijv. door middel van celkweek technieken).
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 is grotendeels bepaald door regelgevende instanties. Indien mogelijk zullen de resultaten van eerdere studies gebruikt worden om de groepsgrootte te bevestigen en zo nodig aan te passen. Bovendien worden de experimenten gefaseerd opgezet om een onnodig gebruik van dieren te voorkomen.

De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Invasieve handelingen worden uitgevoerd onder sedatie en de dieren worden intensief gecontroleerd. Er zijn humane eindpunten opgesteld om te voorkomen dat de dieren met een hogere mate van welzijnsaantasting worden geconfronteerd dan ingeschat. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

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

Infecties als gevolg van jaarlijks circulerende seizoensgriepvirussen en zgn. pandemische influenzavirussen hebben wereldwijd grote gevolgen voor de volksgezondheid, en zijn bovendien verantwoordelijk voor aanzienlijke economische en maatschappelijke gevolgen. Vaccinproducenten werken constant aan de ontwikkeling van vaccins tegen beide typen griepvirussen. Regelgevende instanties leggen daarbij voorwaarden op om de veiligheid van dit soort vaccins te waarborgen. Doel van dit project is het (in opdracht van derden) uittesten van de veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins. 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.

De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling. Naar het oordeel van de DEC dient het project dan ook een substantieel belang. Tegenover dit substantiële belang staat het feit dat alle dieren in deze experimenten een aantasting van het welzijn zullen ervaren. Voor de muizen betekent dit dat 60% van de dieren een lichte en 40% van de dieren een matige aantasting van het welzijn. Voor de fretten betekent dit voor 100% van de dieren een matige aantasting van het welzijn. De commissie is er van

overtuigd dat bij de dierproeven adequaat invulling is gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en/of verfijning van dierproeven. Het gebruik van de dieren en de daarbij optredende welzijnsaantasting is onvermijdelijk, wil men de doelstellingen kunnen realiseren.

De DEC is van oordeel dat het hierboven geschetste belang de onvermijdelijke nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren rechtvaardigt.

Op termijn kan het project voordelen opleveren voor de mens.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

☒ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

Nistelrooise Baan 3
5347 RE SCHAIJK


**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD905002016412

Bijlagen

2

Datum 2 maart 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 2 maart 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD905002016412. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

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

Factuur

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 90500
Naam instelling of organisatie: BioXpert BV
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 54838134
Straat en huisnummer: Nistelrooise Baan 3
Postcode en plaats: 5347 RE SCHAIJK
IBAN: NL72RABO0183605888

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

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

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 1 maart 2016
Geplande einddatum: 28 februari 2021
Titel project: Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten
Titel niet-technische samenvatting: Veiligheid van levend verzwakte griepvaccins in muizen en fretten.
Naam DEC: [REDACTED]
E-mailadres DEC: [REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.441,-
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:

[Redacted]

Functie:

[Redacted]

Plaats:

Schaijk

Datum:

25 februari 2016



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV



Nistelrooise Baan 3

5347 RE SCHAIJK



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD905002016412

Bijlagen

2

Datum 2 maart 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 2 maart 2016

Vervaldatum: 1 april 2016

Factuurnummer: 16700412

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD905002016412	€ 1.441,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert B.V.

[REDACTED]
Nistelrooise Baan 3
5374RE Schaijk
[Barcode]

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD905002016412

Datum 22 maart 2016

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen

1

Geachte [REDACTED]

Op 2 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project 'Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten.' met aanvraagnummer AVD905002016412. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Onduidelijkheden

U beschrijft in de tweede bijlage beschrijving dierproeven (Veiligheid van influenza vaccin: Neurovirulentie in muizen) het gebruik van alleen vrouwelijke muizen. De CCD hecht er aan dat het aantal dieren in voorraad gedood terug te dringen. Aangezien de richtlijn het gebruik van beide geslachten niet beperkt en het feit dat meer wetenschappelijke artikelen op dit gebied ontbreken, zou het wetenschappelijk nuttig zijn om de neurovirulentie in beide geslachten te testen. Is er een wetenschappelijke reden om te verwachten dat de resultaten gevonden in vrouwelijke muizen uit eerder onderzoek anders zouden zijn in mannelijke muizen?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

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

Opsturen binnen veertien dagen

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

vergadering te kunnen bespreken verzoeken we u vriendelijk om uiterlijk donderdag, 24 maart 2016, uw antwoord aan ons te sturen.

Datum

22 maart 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD905002016412

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- | | | | |
|----------------|--|------------|--|
| Naam aanvrager | | | |
| Postcode | | Huisnummer | |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?
Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.
- | | | | |
|----------------|--|--|--|
| Aanvraagnummer | | | |
|----------------|--|--|--|

2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- | | |
|--------------------------|--|
| ☐ | |
| ☐ | |
| ☐ | |

3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
- | | | | |
|--------------|---|---|----|
| Naam | | | |
| Datum | - | - | 20 |
| Handtekening | | | |

BioXpert B.V.

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

info@bioxpert.nl
www.bioxpert.nl

To: CCD
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Date: 25 maart 2016

RE: Aanvullende vraag voor projectvergunning dierproeven AVD905002016412, afgegeven d.d. 22 maart 2016.

Cc: [REDACTED]

Geachte leden van de Centrale Commissie Dierproeven,

Op 22 maart 2016 ontvingen we uw aanvullende vraag op projectaanvraag AVD905002016412, getiteld 'Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten'. In uw brief stelt u de volgende vraag:

"U beschrijft in de tweede bijlage beschrijving dierproeven (Veiligheid van influenza vaccin: Neurovirulentie in muizen) het gebruik van alleen vrouwelijke muizen. De CCD hecht er aan dat het aantal dieren in voorraad gedood terug te dringen. Aangezien de richtlijn het gebruik van beide geslachten niet beperkt en het feit dat meer wetenschappelijke artikelen op dit gebied ontbreken, zou het wetenschappelijk nuttig zijn om de neurovirulentie in beide geslachten te testen. Is er een wetenschappelijke reden om te verwachten dat de resultaten gevonden in vrouwelijke muizen uit eerder onderzoek anders zouden zijn in mannelijke muizen? Wij vragen u deze informatie te verduidelijken."

Wij zijn ons ervan bewust dat de CCD waarde hecht aan het terugdringen van het doden van (surplus) dieren in voorraad, wij hebben hetzelfde streven en deze visie is meegenomen in de project aanvragen die tot nu toe ingediend zijn. Bij iedere aanvraag wordt de afweging gemaakt voor het gebruikt van een bepaald geslacht of indien van toepassing beide geslachten. Factoren die hierin meegenomen worden zijn:

- Beschikbaarheid van dieren van een bepaald geslacht en een eventueel overschot van het andere geslacht bij de leverancier
- Reeds bekende resultaten al dan niet gepubliceerd
- Richtlijnen die opgelegd worden door regelgevende instanties (zoals de FDA of de EMA)

Binnen deze project aanvraag in bijlage 1 en 2 is bewust gekozen voor het vrouwelijke geslacht. Deze keuze is niet expliciet opgelegd door de regelgevende instanties (zoals uzelf ook al noemt in uw opmerking), maar vanwege de (helaas beperkte) publiekelijke informatie van het model. Deze regelgevende instanties gebruiken de aangehaalde publicatie van Voeten *et al* als richtlijn voor de uit te voeren experimenten en in deze publicatie is exclusief gebruik gemaakt van vrouwelijke dieren.

Daarnaast is de verwachting dat de spreiding van de resultaten bij gebruik van beide geslachten groter zal zijn. Dat zal betekenen dat in de dierstudies zoals omschreven in bijlage 1 en 2 mogelijk meer dieren gebruikt zullen worden en vanuit het oogpunt van vermindering van proefdiergebruik is dit niet wenselijk.

Wij hopen dat de hierboven genoemde motivatie voor u voldoende is om toestemming te verlenen tot het gebruik van vrouwelijke dieren binnen AVD905002016412 voor wat betreft het gebruik van muizen binnen dit project (bijlage 1 en 2).

Met vriendelijke groet

A large black rectangular redaction box covers the signature and name of the sender. It consists of a main rectangular block with a smaller rectangular extension to the right, suggesting a signature or a name that has been completely obscured.

Van: Info-zbo
Verzonden: dinsdag 5 april 2016 15:24
Aan: [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: AVD905002016412: voorgenomen besluit

Geachte [REDACTED]

Wij hebben een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven van u in behandeling. Het gaat om het project 'Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten' met aanvraagnummer AVD905002016412.

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

Voorgenomen voorwaarde:

De vergunning wordt afgegeven onder de voorwaarde dat de neurovirulentie proeven (3.4.4.1 en 3.4.4.2) in beide geslachten uitgevoerd worden. Indien gedurende het project blijkt dat er overige geslachts-specifieke effecten zijn, kunt u deze informatie als wijziging rapporteren aan de CCD. Deze informatie kan voor de CCD aanleiding zijn om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten te wijzigen of in te trekken. Indien voorafgaand aan de proeven al informatie in de literatuur beschikbaar is waaruit blijkt dat een model of proces geslachtsafhankelijk zou zijn, is het ook mogelijk om deze informatie te gebruiken om wetenschappelijk te onderbouwen dat het gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren niet zou leiden tot het behalen van de doelstelling en dit aan ons te rapporteren.

Onderbouwing:

Deze voorwaarde is gesteld omdat in uw aanvraag en in uw reactie op onze vraag geeft u aan alleen vrouwelijke muizen in uw onderzoek te willen gebruiken. U onderbouwt uw keuze door naar de voor uw onderzoek relevante regelgevende instanties (FDA en EMEA) te verwijzen. U geeft zelf aan dat deze instanties niet duidelijk het gebruik van slechts één geslacht vereisen, maar dat ze alleen het enige gepubliceerd relevante artikel benoemen. Naar onze mening, sluit dit niet uit dat ook mannelijke dieren gebruikt kunnen worden en dat de resultaten van het onderzoek met mannelijke dieren niet wetenschappelijk en mogelijk ook wettelijk nuttig zouden zijn.

Indien u een bewijs van de relevante instanties aan ons kunt laten zien waarin ze verklaren dat ze het onderzoek met beide geslachten (dus ook met mannelijke dieren) niet accepteren, ontvangen we dat graag. Indien u deze verklaring van de regelgevende instantie heeft, dan kan de bovengenoemde voorwaarde komen te vervallen.

Aangezien bovengenoemde voorwaarde mogelijk de uitvoering van uw project kan beïnvloeden, wil de CCD u nog in de gelegenheid stellen te reageren op deze voorwaarde alvorens zij een definitief besluit neemt. Daarnaast willen wij de DEC vragen de CCD aanvullend te adviseren over deze voorwaarde. 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 mogelijk 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.

Indien u gebruik wilt maken van de mogelijkheid te reageren op de voorgenomen voorwaarde, verzoeken wij u in te stemmen met het opschorten van de behandeltermijn en ons hiervan uiterlijk **7 april 2016** op de hoogte te stellen.

Indien u gebruik maakt van bovenstaande mogelijkheid, wordt u verzocht uiterlijk **13 april 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 voorwaarde.

Mocht u geen gebruik willen maken van de mogelijkheid te reageren of instemmen met de voorgenomen voorwaarde, verzoeken wij u ons dat ook uiterlijk **7 april 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 om aanvullende informatie te verstrekken.

Wij wachten uw reactie af.

Met vriendelijke groet,


Uitvoeringsexpert

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

Geachte leden van de CCD,

Onderstaande e-mail (blauwe tekst) stuurde u op 5 april naar de aanvrager van AVD905002016412. Eerder, op 22 maart heeft u [REDACTED] op de hoogte gesteld van het feit dat u de aanvrager een vraag heeft voorgelegd over deze kwestie (gebruik van beide geslachten). Uit onderstaande e-mail leidt [REDACTED] af dat u graag advies wilt van de DEC over uw voornemen om als voorwaarde te stellen dat de neurovirulentieproeven in beide geslachten dienen te worden uitgevoerd. Hieronder volgt dit advies.

Advies

De DEC wil allereerst opmerken dat zij de onderbouwing van de voorwaarde, zoals die hieronder in de mail is opgenomen, warrig en slecht geformuleerd vindt.

De DEC constateert dat de regelgevende instanties niet stellen dat de neurovirulentieproeven dienen te worden uitgevoerd met dieren van één geslacht. De DEC heeft geen data en onderzoeksresultaten gezien die aanleiding geven te denken dat door het gebruiken van beide geslachten veel meer dieren nodig zouden zijn of het behalen van de doelstellingen van de experimenten in gevaar zou komen. De DEC zou het overigens ethisch onaanvaardbaar vinden, en ook in strijd met de Wet op de dierproeven, als de experimenten met beide geslachten uitgevoerd zouden worden, terwijl al gebleken is dat dit een substantieel aantal extra dieren vergt. Het uitvoeren van de experimenten met dieren van slechts één geslacht is in dat geval een verplicht verminderingsalternatief. Er zijn immers geen wetenschappelijke of regulatoire redenen om beide geslachten te gebruiken. Dat klemmt des te meer, omdat het om belastende experimenten gaat. [REDACTED] adviseert daarom dringend om in een zo vroeg mogelijk stadium te evalueren of het gebruik van beide geslachten niet zal leiden tot het gebruik van meer dieren of het mislukken van de experimenten.

In uw onderbouwing lijkt u verder te suggereren (de betreffende zin is grammaticaal helaas onjuist, waardoor dit niet helemaal duidelijk is) dat het wetenschappelijk gezien nuttig zou kunnen zijn om te onderzoeken of voor deze proeven ook mannelijke dieren (of beide geslachten) gebruikt kunnen worden. Mogelijk is dat zo, maar de argumentatie daarvoor ontbreekt.

Uw aanname is dat het gebruik van alleen vrouwelijke dieren tot een fokoverschot van mannelijke dieren leidt dat ongebruikt zal blijven, hetgeen u ongewenst acht. De DEC heeft geen gegevens gezien die uw aanname, dat het (vermeende) fokoverschot van de mannelijke dieren ongebruikt zal blijven, ondersteunen. De DEC meent dat er redenen zijn om aan te nemen dat die aanname niet juist is, maar het hier vermelden van die redenen zou te ver voeren, nu de aanvrager al heeft aangegeven in te stemmen met de voorwaarde.

De DEC constateert tenslotte dat de aanvrager u laat weten schoorvoetend in te stemmen met de voorwaarde, omdat hij zich geen verder tijdverlies kan permitteren. De DEC ziet op dit moment geen reden om anders te adviseren, maar benadrukt nogmaals dat zij het om hierboven reeds genoemde redenen van groot belang vindt om in een zo vroeg mogelijk stadium te evalueren of het gebruik van beide geslachten niet zal leiden tot het gebruik van meer dieren of het mislukken van de experimenten. Het belang van het voorkomen van een (vooralsnog vermeend) fokoverschot weegt niet op tegen het gebruik van een substantieel aantal extra dieren en/of onnodig ongerief voor dieren wanneer de proeven niet tot bruikbare resultaten blijken te leiden.

Met vriendelijke groet,
namens de DEC van [REDACTED],

[REDACTED]
[REDACTED]

From: Info-zbo [<mailto:info@zbo-ccd.nl>]
Sent: dinsdag 5 april 2016 15:24
To: [REDACTED]
Cc: [REDACTED]
Subject: AVD905002016412: voorgenomen besluit

Geachte [REDACTED]

Wij hebben een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven van u in behandeling. Het gaat om het project 'Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten' met aanvraagnummer AVD905002016412.

De CCD heeft uw aanvraag besproken en is voornemens deze goed te keuren. De CCD wil echter een

aantal voorwaarden toevoegen aan de vergunning waaronder één die mogelijk consequenties zou kunnen hebben voor de uitvoering van uw project. Deze voorwaarde en de argumentatie hiervoor vindt u hieronder.

Voorgenomen voorwaarde:

De vergunning wordt afgegeven onder de voorwaarde dat de neurovirulentie proeven (3.4.4.1 en 3.4.4.2) in beide geslachten uitgevoerd worden. Indien gedurende het project blijkt dat er overige geslachts-specifieke effecten zijn, kunt u deze informatie als wijziging rapporteren aan de CCD. Deze informatie kan voor de CCD aanleiding zijn om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten te wijzigen of in te trekken. Indien voorafgaand aan de proeven al informatie in de literatuur beschikbaar is waaruit blijkt dat een model of proces geslachtsafhankelijk zou zijn, is het ook mogelijk om deze informatie te gebruiken om wetenschappelijk te onderbouwen dat het gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren niet zou leiden tot het behalen van de doelstelling en dit aan ons te rapporteren.

Onderbouwing:

Deze voorwaarde is gesteld omdat in uw aanvraag en in uw reactie op onze vraag geeft u aan alleen vrouwelijke muizen in uw onderzoek te willen gebruiken. U onderbouwt uw keuze door naar de voor uw onderzoek relevante regelgevende instanties (FDA en EMEA) te verwijzen. U geeft zelf aan dat deze instanties niet duidelijk het gebruik van slechts één geslacht vereisen, maar dat ze alleen het enige gepubliceerd relevante artikel benoemen. Naar onze mening, sluit dit niet uit dat ook mannelijke dieren gebruikt kunnen worden en dat de resultaten van het onderzoek met mannelijke dieren niet wetenschappelijk en mogelijk ook wettelijk nuttig zouden zijn.

Indien u een bewijs van de relevante instanties aan ons kunt laten zien waarin ze verklaren dat ze het onderzoek met beide geslachten (dus ook met mannelijke dieren) niet accepteren, ontvangen we dat graag. Indien u deze verklaring van de regelgevende instantie heeft, dan kan de bovengenoemde voorwaarde komen te vervallen.

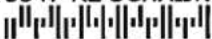
Aangezien bovengenoemde voorwaarde mogelijk de uitvoering van uw project kanbeïnvloeden, wil de CCD u nog in de gelegenheid stellen te reageren op deze voorwaarde alvorens zij een definitief besluit neemt. Daarnaast willen wij de DEC vragen de CCD aanvullend te adviseren over deze voorwaarde. Indien 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 mogelijk 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.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

BioXpert BV

Nistelrooise Baan 3
5347 RE SCHAIJK


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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD905002016412
Bijlagen
1

Datum 14 april 2016
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Op 2 maart 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten" met aanvraagnummer AVD905002016412. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 29 maart 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. U heeft gereageerd op het verzoek van de CCD om het gebruik van alleen vrouwelijke dieren wetenschappelijk te onderbouwen.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. In uw aanvraag geeft u aan in dierproef 3.4.4.1 mannelijke en vrouwelijke muizen te kunnen gebruiken, maar in dierproef 3.4.4.2 alleen vrouwelijke dieren. Hiervoor is er door de CCD naar nadere onderbouwing gevraagd. In uw reactie van 29 maart 2016 op dit verzoek schrijft u dat 'binnen deze project aanvraag in bijlage 1 en 2 is bewust gekozen voor het vrouwelijke geslacht'. U geeft ook aan dat de regelgevende instanties niet expliciet naar studies met slechts een geslacht vragen, en dat er maar één wetenschappelijke publicatie met hetzelfde model bekend is, waarin vrouwelijke muizen zijn gebruikt. De CCD is van mening dat uw motivering van het gebruik van alleen vrouwelijke muizen onvoldoende wetenschappelijke basis heeft. In het kader van vermindering van de dieren in voorraad gedood stelt de CCD de specifieke voorwaarde over het gebruik van muizen van beide geslachten in de dierproeven 3.4.4.1. en 3.4.4.2. Bovendien kunnen de resultaten uit uw onderzoek met beide geslachten toegevoegde wetenschappelijke

waarde hebben.

Van 5 april 2016 tot en met 13 april 2016 hebben wij u in de gelegenheid gesteld te reageren op ons voorgenomen voorwaarde. U heeft tot op heden echter niet inhoudelijk gereageerd op het voorgenomen voorwaarde en geen aanvullende informatie verstrekt. [REDACTED] heeft op 11 april 2016 haar advies over deze voorwaarde naar de CCD gestuurd. Hierin laat de DEC de CCD weten dat u met deze voorwaarde instemt.

Omdat voorafgaand aan de start van dit project niet alle criteria waarop het wordt gekozen om wel dan niet verder te gaan met het experiment in detail bekend zijn, stelt de CCD vast dat u deze criteria en de keuze om wel of niet verder te gaan met uw onderzoek moet met de IvD worden afgestemd.

De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten" starten. De vergunning wordt afgegeven van 14 april 2016 tot en met 28 februari 2021. De looptijd van de vergunning wijkt af omdat de startdatum in de aanvraag in het verleden ligt.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie [REDACTED] gevoegd. Dit advies is opgesteld op 14 februari 2016.

Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Op 11 april 2016 heeft de DEC haar advies aangevuld met haar mening over de specifieke voorwaarde verbonden aan uw vergunning over het gebruik van muizen van beide geslachten in de dierproeven 3.4.4.1 en 3.4.4.2. In dezelfde brief laat de DEC de CCD weten dat u met deze voorwaarde instemt. Het advies van de commissie, nemen wij gedeeltelijk over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering, met uitzondering van de afwijkingen zoals hierboven gemotiveerd. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

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

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

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

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

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



Ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: BioXpert BV
Adres: Nistelrooise Baan 3
Postcode en plaats: 5347 RE SCHAIJK
Deelnemersnummer: 90500

deze projectvergunning voor het tijdvak 14 april 2016 tot en met 28 februari 2021, voor het project "Uittesten van veiligheid van levend verzwakte influenza vaccins in muizen en fretten" met aanvraagnummer AVD905002016412, gedeeltelijk volgens advies van Dierexperimentencommissie

Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat er een specifieke voorwaarde is gesteld.

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

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 2 maart 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 maart 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 2 maart 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 14 februari 2016, ontvangen op 2 maart 2016 en aangevuld op 11 april 2016;
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 29 maart 2016.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Dosis bepaling/bevestiging van bewezen neurovirulent influenza virus in muizen (3.4.4.1)	Muizen (Mus musculus)	110	100,00 % Matig	
Veiligheid van influenza vaccin: Neurovirulentie in muizen(3.4.4.2)	Muizen (Mus musculus)	120	33,30% Matig 66,70% Licht	
Veiligheid van influenza vaccin: Bevestiging van verzwakte fenotype in de longen van fretten(3.4.4.3)	Fretten (Mustela putorius furo)	240	100,00% Matig	

Voorwaarden

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

Specifieke voorwaarde:

De vergunning wordt afgegeven onder de voorwaarde dat de neurovirulentie proeven (3.4.4.1 en 3.4.4.2) in beide geslachten uitgevoerd worden. Indien gedurende het project blijkt dat er overige geslachts-specifieke effecten zijn, kunt u deze informatie als wijziging rapporteren aan de CCD. Deze informatie kan voor de CCD aanleiding zijn om bovenstaande voorwaarde van gelijk gebruik van beide geslachten te wijzigen of in te trekken. Indien voorafgaand aan de proeven al informatie in de literatuur beschikbaar is waaruit blijkt dat een model of proces geslachtsafhankelijk zou zijn, is het ook mogelijk om deze informatie te gebruiken om wetenschappelijk te onderbouwen dat het gebruik van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren niet zou leiden tot het behalen van de doelstelling en dit aan ons te rapporteren.

Algemene voorwaarden:

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

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

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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

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