

	Inventaris Web-verzoek W17-09								
		wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2017816								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1 en 2				x		x	x	
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x	x	
8	Bijlage beschrijving dierproeven 2 nieuw				x		x	x	
9	Advies CCD		x						x
10	Beschikking en vergunning				x		x	x	

09 FEB 2017



Centrale Commissie Dierproeven

AVD401002017 816

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? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 40100 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Stichting Wageningen Research
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	908104
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Akkermaalsbos 12
		Postbus	59
		Postcode en plaats	6700AW Wageningen
		IBAN	NL10RABO0397066465
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Wageningen UR
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 <i>Melding Machtiging</i> 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 <i>wijziging</i> 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 <i>melding</i> 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	2 - 1 - 2017
	Einddatum	31 - 12 - 2019
3.2 Wat is de titel van het project?	Efficacy of RVFV-4s vaccine	
3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?	Werkzaamheid van het RVFV-4s vaccin	
3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?	Naam DEC	DEC-WUR
	Postadres	Droevendaalsesteeg 4, 6708 PB Wageningen
	E-mailadres	DEC@wur.nl

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1287 Lege
☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
☐ Via een eenmalige incasso
☒ Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- ☒ Projectvoorstel + 2 bijlagen
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☐ Melding Machtiging
- ☒ Bestelorder WUR1034075

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam	[Redacted]
Functie	[Redacted]
Plaats	Wageningen
Datum	8 - 2 - 2
Handtekening	[Redacted]

Form Project proposal

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

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	40100
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Wageningen Research
1.3	Provide the title of the project.	Efficacy of RVFV-4s vaccine

2 Categories

2.1	Please tick each of the following boxes that applies to your project.	☐ Basic Research ☒ Translational or applied research ☐ Regulatory use of routine production ☐ Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare dier ☐ Research aimed at preserving the species subjected to procedures
-----	---	---

☐ Higher education or training
☐ Forensic enquiries
☐ Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Rift Valley fever (RVF) is a vector borne disease caused by the Rift Valley fever virus (RVFV). The genome of the virus consists of 3 negative-sense RNA molecules. The small (S) segment encodes for the nucleocapsid protein and the interferon antagonist NSs. The medium (M) segment encodes for the structural glycoproteins Gn and Gc. The large (L) segment encodes for the viral polymerase.

Sheep are [REDACTED] to severe disease. Infection of adult sheep usually results in about 20% mortality whereas the mortality rate in newborns can reach 100%. An important feature of RVF outbreaks are the so-called "abortion storms" in which almost all pregnant ewes abort. Clinical symptoms in other ruminants (goats, cattle) are usually less severe, although abortions and death also occurs in herds of these animals. The most important clinical symptoms in adult animals are fever, drop in milk yield, diarrhea and anorexia.

RVF is a zoonosis (a disease which also affects humans) with potential serious consequences. Human infections usually manifests as a transient, flu-like febrile illness with symptoms including fever, headache, muscle pains, nausea and general weakness. In a small percentage of cases, **additional** complications develop. The most common complication is temporary or permanent blindness as a result from retinal damage. In rare occasions, patients develop meningitis or haemorrhagic fever. About 1-2 % of infected humans does not survive the infection.

RVFV is currently endemic to Africa, the Arabian Peninsula and several islands located off the coast of Southern Africa, including Madagascar. The largest epidemics generally occur in East-Africa. Eradication of RVFV is difficult because the virus circulates between wild- and domesticated ruminants and several species of mosquito vectors. RVFV can be introduced into Europe via infected mosquitoes or, less likely, by introduction of an infected animal. It is therefore important that vaccines become available that can be used to prevent or control potential future outbreaks in Europe.

[REDACTED] The inactivated vaccine can be applied safely during all physiological stages **of an animal**, but requires repeated vaccinations for optimal efficacy. This vaccine is therefore not optimally suited for controlling outbreak situations. One live-attenuated vaccine is based on the Smithburn virus, which contains attenuating mutations across its genome, and another live attenuated vaccine is based on the Clone 13 virus, which lacks 70% of the NSs gene (the most important virulence factor of the virus).

[REDACTED]

3.2 Purpose

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

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

The overall goal of this project is to develop a RVFV-4s based vaccine that is effective in sheep lambs, goat lambs, calves and pregnant ewes and that can be produced on [REDACTED] In addition, we want to test whether vaccination also prevents transmission by mosquitoes.

3.3 Relevance

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

At this moment there are no RVF vaccines registered for use in Europe. A RVFV incursion in Europe will cause tremendous **problems** to the agricultural community due **to animal welfare problems as well as major production losses**. Moreover, a RVFV epidemic in animals will form a major threat to public health due to the zoonotic character of the virus. This project intends to develop a RVFV vaccine that is effective in several major target species thereby enabling efficient control of RVF outbreaks in the future.

3.4 Research Strategy

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

To assess the efficacy of RVFV-4s vaccines in primary target species, vaccination/challenge experiments will be performed with sheep lambs, goat lambs, calves and pregnant ewes. The animals will be vaccinated either once or twice (prime-boost) via intramuscular route before being challenged with wild-type virus. Clinical signs and body temperatures will be determined daily during the entire course of the experiment. Wild-type virus infection generally induces fever for several days.

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

In the first part of this project several RVFV-4s variants (max. 2), that are produced on different cell substrates, will be evaluated in a vaccination trial for their ability to protect young sheep. Protection and immune responses will be compared to those elicited by the RVFV-4s vaccine tested previously (**benchmark vaccine**). When any of the new variants are significantly less efficacious compared to the benchmark RVFV-4s vaccine, as determined by comparing virus titers, fever and mortality after challenge, this will be considered as a "no go" for continuation with this vaccine candidate.

In the second part of the project and based on the results of the first part, the most promising RVFV-4s variant will be chosen for further development. Most promising means, similar or better efficacy compared to the benchmark RVFV-4s vaccine in combination with improved growth on cell substrates that are suitable for production by industry. Experiments with the best candidate will be performed to assess the optimal vaccination regimen (single, versus prime-boost vaccination) and dose (high or low) in sheep lambs, goat lambs, calves and pregnant ewes.

[REDACTED]

[REDACTED]

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

In the first part of the project we will select the most promising RVFV-4s variant for further development. The variant should be able to induce protective immunity in [REDACTED] Since the RVFV-4s vaccine should eventually be applied in sheep, goats and cattle we will subsequently focus on the most optimal vaccination strategy for each species thereby focussing on vaccination regimen (single vaccination or prime/boost) and dose (high or low). In addition, we will evaluate whether the RVFV-4s vaccine prevents RVFV-induced abortion in the most susceptible target species; pregnant sheep. [REDACTED]

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Efficacy of RVFV-4s vaccine in young animals
2	Efficacy of RVFV-4s vaccine in pregnant ewes

Appendix Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website www.zbo-ccd.nl.
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	40100	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Wageningen Research	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 1	Type of animal procedure Efficacy of RVFV-4s vaccine in young animals

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

To assess the efficacy of RVFV-4s vaccines in primary target species, vaccination/challenge experiments will be performed with sheep lambs, goat lambs and calves. The animals will be vaccinated either once or twice (prime-boost) via intramuscular route before being challenged with wildtype virus.

In the first part of the project several RVFV-4s variants (max. 2), that differ in their *in vitro* growth (production) properties, will be evaluated in a vaccination trial for their ability to protect [REDACTED]. Protection and immune responses will be compared to the RVFV-4s vaccine tested previously [1].

In the second part of the project and based on the results of the first part [REDACTED] one RVFV-4s variant will be chosen for further development. Optimal vaccination regimen (single, versus prime-boost vaccination) and dose (high or low) will be assessed in sheep lambs, goat lambs and calves.

Finally the preferred RVFV-4s vaccine will be produced at large scale (industrial scale) and re-evaluated for its potency using the optimal dose and vaccination regimen as determined in the second part of the project.

Apart from protection from disease, a RVF vaccine should also protect against transmission via [REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

In all experiments, rectal temperatures and clinical signs will be monitored daily. Animals will be vaccinated via intramuscular route and challenged via the intravenous route. Serum blood (max. 9 ml) will be collected weekly during the entire course of the experiments and will be used to monitor antibody responses. After challenge, EDTA blood samples (max. 9 ml) will be taken [REDACTED]

[REDACTED]

Furthermore, [REDACTED]

[REDACTED]

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The most important read-out parameter to determine the efficacy of RVFV vaccines in target animals (sheep, goats and cattle) is prevention/reduction of viremia. Viremia is measured as viral RNA load in the blood (log RNA copies/ml). The number of RNA copies in the blood will be compared between vaccinated animals and the non-vaccinated control animals. The standard deviation of viremia in sheep is about 1.1 log. We want to be able to show at least an effect of 2 log reduction in viremia by the vaccination. Therefore, with a power of 90% and an alpha of 0.05, each group should contain at least 8 animals.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

We use sheep, cattle and goats because these species are primary target species of RVFV. We use relatively young animals since they are more susceptible to disease than adult animals. Sheep and goat lambs will be between 8 and 17 weeks old and calves will be between 3 and 12 weeks old.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

☐ Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

☐ No

☐ Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Replacement: Although we have various RVFV-4s variants which all potentially could be used as a vaccine we will solely test RVFV-4s variants that show optimal in vitro growth. Reduction: Experiments will be combined as much as possible to reduce the amount of positive control groups.

Refinement: Previous experiments have shown that the intramuscular vaccination route results in a more robust humoral immune response compared to the subcutaneous route. In all these studies we will only test the intramuscular vaccination route.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

HEPs are defined to reduce unnecessary suffering of animals. There will be no adverse effect on the environment because of the BSL-3 facilities/containment.

Repetition and Duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

We already performed a vaccination trial with a RVFV-4s vaccine in lambs in 2015. Unfortunately, this vaccine does not grow efficiently on cells suitable for industrial scale production. In this study we will evaluate RVFV-4s variants that do grow efficiently on cells suitable for industrial scale production and compare their efficacy to the reference vaccine developed in 2015.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☐ No

☒ Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

In the BSL3 facilities a minimum of bedding material (irradiated sawdust) is used. The reason for using a minimum of bedding is that, due to the BSL3 containment, all bedding has to be autoclaved before it can be disposed. Restricted autoclaving capacity forces us to use a minimum of bedding just enough to absorb urine and keep the stable as clean as possible.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

☒ Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

☒ No > Justify why pain relieving methods will not be used.

☐ Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

All animals will experience some discomfort and stress during rectal temperature measurement and blood sampling. Mortality in young sheep of unvaccinated animals is generally between 20-40%, of which most are euthanized when a humane end-point is reached. Disease in sheep lambs

manifests as fever, accelerated respiration, anorexia and weakness. Disease in goats and cattle is expected to be similar, but less severe without mortality. Animals may experience some discomfort from the mosquito feeding but this does not alter the classification of the overall discomfort.

Explain why these effects may emerge.

RVFV is a hepatotropic virus that severely affects the liver. Mortality among lambs is generally associated with severe liver necrosis and shock. Calves are not expected to succumb to the infection.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

To minimize severity of suffering, diseased animals will be euthanized when a humane end-point is reached. After challenge, the animals will be clinically observed two times a day to ensure that HEP's are acknowledged in time. Anti-inflammatory drugs to alleviate fever cannot be administered because they may interfere with virus replication and have an effect on body temperatures/ fever which are important read-out parameters. Humane end points are defined and discussed below.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

☐ No > Continue with question K.

☒ Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

For all animals (sheep lambs, goat lambs, calves) the humane endpoints are similar. Sheep: the humane end-point will be reached when: 1) the animal is recumbent and does not rise even after stimulation 2) the animal is unable to drink (when offered on site) 3) the animal is lethargic (listless, apathic, non-responsive to stimuli) for maximally 1 day.

Indicate the likely incidence.

From previous experiments we estimate that the likelihood of the humane endpoints being reached in the unvaccinated control animals is 20-40% in sheep lambs. From previous experiments and the literature we estimate that the likelihood of the humane endpoints being reached in goat lambs and calves is below 10%.

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe).

Rectal temperature measurements, injections (i.m. and i.v.) and blood collection are considered to comprise mild discomfort. The clinical symptoms of animals that undergo a RVFV infection are classified as moderate, because correct implementation of the HEP's will avoid severe discomfort. Feeding of mosquitoes on the animals is believed to give mild discomfort.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

☒ Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

The animals are infected with a hBSL3 agent and are not allowed to leave the premises alive. In addition, tissues will have to be collected from the animals at the end of the experiment.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

☐ No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

☒ Yes

Appendix
Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website www.zbo-ccd.nl.
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	40100	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Wageningen Research	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 2	Type of animal procedure Efficacy of RVFV-4s vaccine in pregnant ewes

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

RVFV causes abortion in pregnant sheep through placental passage of the virus and infections of the fetuses. [REDACTED]

The vaccine will be tested:

a) as single vaccination versus prime/boost vaccination b) As "small scale" and "industrial scale" produced vaccine

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

Ewes will be vaccinated during pregnancy with RVFV-4s vaccine (1 ml intramuscularly). In prime boost experiments a second vaccination (1 ml intramuscularly) will be applied. Three weeks after the final vaccination, all animals will be challenged intravenously with virulent RVFV and [REDACTED]

Rectal temperatures will be measured daily. The animals will be checked for clinical symptoms every day, with an intensification to twice a day after challenge. Special attention will be paid to signs of (imminent) abortion such as vaginal discharge or swelling of the vulva. [REDACTED]

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Sheep is the major target species for RVF vaccination and the species which is most susceptible to abortion due to RVFV infection.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

☐ Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

☐ No

☐ Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Replacement: In these experiment we will solely solely focus on one RVFV-4s variant that shows optimal in vitro growth and efficacy in young animals, as determined with the experiments performed within attachment 1. Reduction: Experiments will be combined as much as possible to reduce the amount of positive control groups. Refinement: Previous experiments have shown that the intramuscular vaccination route results in a more robust humoral immune response compared to the subcutaneous route. In all these studies we will only test the intramuscular vaccination route.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

Blood sampling is kept to a minimum to minimize the total discomfort which is caused by the blood sampling procedure.

Repetition and Duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

The RVFV-4s vaccine is a new and recently developed vaccine which has never been tested for its efficacy in pregnant ewes.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☐ No

F. Accommodation and care

☒ Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

In the BSL3 facilities a minimum of bedding material (irradiated sawdust) is used. The reason for using a minimum of bedding is that, due to the BSL3 containment, all bedding has to be autoclaved before it can be disposed. Restricted autoclaving capacity forces us to use a minimum of bedding just enough to absorb urine and keep the stable as clean as possible.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

☒ Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

☒ No > Justify why pain relieving methods will not be used.

☐ Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

Sheep will experience mild discomfort and stress during rectal temperature measurements and blood sampling. Adult sheep usually show mild clinical symptoms after infection with RVFV. These symptoms comprise high (but short) fever, dullness and decreased appetite during 2-3 days. However, pregnant sheep will almost certainly abort which is the main cause of discomfort and is classified as moderate.

Explain why these effects may emerge.

RVFV is a hepatotropic virus that causes hepatitis. In adult animals, the hepatitis is less severe than in young animals hence the lesser degree of clinical symptoms. Recovery in adult animals is usually swift after 2-3 days. However, RVFV can also pass the placenta in pregnant animals followed by infection of the fetuses in utero, causing fetal death and abortion.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

To minimize severity of discomfort, the animals will be euthanized when abortion is evident or when abortion has occurred.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

☐ No > Continue with question K.

☒ Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

When abortion is evident or when abortion has occurred, this will be considered a HEP. Although we do not expect the following symptoms to occur, additional HEP's are defined when: 1) The animal is recumbent and does not rise even after stimulation 2) The animal is unable to drink (when offered on site) 3) The animal is lethargic for maximally 1 day

Indicate the likely incidence.

In the unvaccinated sheep, incidence of abortion will be almost 100%. We expect that vaccinated ewes will not abort, but this cannot be stated with any certainty. The occurrence of other clinical symptoms (slight fever, dullness, decreased appetite) are unlikely to reach the HEP stage.

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe).

Due to rectal temperature measurement, blood sampling and injections (i.m. and i.v.) the discomfort of the ewes in the vaccinated group is classified as mild. Because of the possibility of mild clinical symptoms and the almost certain occurrence of abortion, the discomfort of the unvaccinated control ewes is classified as moderate.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

☒ Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

The animals are infected with RVFV which is a zoonotic, mosquito-transmitted virus that is currently not present in the Netherlands. The animals cannot be kept alive because they would pose a potential threat to humans or livestock. In addition, we will need to collect tissue samples from the ewes and fetuses to measure the RVFV titers in the organs or demonstrate absence of RVFV.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

☐ No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

☒ Yes



Postbus 65 | 8200 AB Lelystad

Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Geachte CCD,

Onderstaand het advies dat de DEC-WUR heeft gegeven aangaande het project
"Efficacy of RVFV-4S vaccine"

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD401002017816
2. Titel van het project: Efficacy of RVFV-4S vaccine
3. Titel van de NTS: Werkzaamheid van het RVFV-4S vaccin
4. Type aanvraag: nieuwe aanvraag
5. Contactgegevens DEC:
DEC-WUR
[redacted]
Secretaris: dec@wur.nl
6. Adviestraject
Ontvangen door DEC: 07-02-2017
Aanvraag compleet: 07-02-2017
In vergadering besproken: 20-02-2017
Termijnonderbreking(en) van / tot: 20-02-2017 tot 28-02-2017
Aanpassing aanvraag: 28-02-2017
Advies aan CCD: zie datum brief
7. De Instantie voor Dierenwelzijn heeft een positief oordeel over de kwaliteit van de aanvraag uitgebracht en de DEC heeft dit in haar overweging betrokken.
8. Correspondentie met de aanvrager
Datum vragen: 22-02-2017
Gestelde vragen en antwoorden:
 - *M.b.t. het projectvoorstel:* De DEC wil dat de onderzoeker een prioritering aangeeft in de volgorde van categorieën van dieren die onderzocht worden en de go/no go's die gehanteerd worden om te besluiten een volgende diercategorie in het onderzoek te betrekken. Met name wanneer blijkt dat alleen kalveren of geitenlammeren beschermd zijn wil de DEC beschreven zien wat het vervolgtraject is. *We hebben in het gewijzigde projectplan onder outline nog duidelijker aangegeven wanneer een volgende diercategorie wordt betrokken bij het onderzoek.*
Dat het vaccin alleen in kalveren of geitenlammeren zou werken is niet aan de orde aangezien in deel 1 van het project de beoogde vaccins al in schapenlammeren worden getest. Indien er in schapenlammeren

Wageningen
University & Research

DATUM
13 maart 2017

ONDERWERP
aanvraag projectvergunning
AVD401002017816

ONS KENMERK
AVD401002017816

POSTADRES
[redacted]

BEZOEKAADRES
[redacted]

INTERNET
www.wur.nl

KvK NUMMER
09098104

CONTACTPERSOON
[redacted]

TELEFOON
[redacted]

E-MAIL
DEC@wur.nl

- onvoldoende bescherming wordt gevonden zal deel 2, waarin experimenten met kalveren en geitenlammeren worden beoogd, niet worden uitgevoerd.*
- *M.b.t. de bijlagen:* De onderzoeker moet de HEP's verduidelijken. De tijdsduur van de klinische verschijnselen moet opgenomen worden. Ook wil de DEC weten of de HEP's eerder gesteld kunnen worden. Opgemerkt wordt dat het cumulatieve ongerief maximaal "matig" is. De HEP's moeten zodanig gehanteerd worden dat het ongerief dat het dier ondervindt niet hoger wordt dan "matig".
We hebben de HEP's in beide bijlages nog verder geconcretiseerd zodat duidelijker te interpreteren valt dat het cumulatieve ongerief maximaal "matig" is. Alle dieren worden tweemaal per dag klinisch beoordeeld om te bepalen of een HEP is bereikt. Het eerder stellen van de HEP's is vooralsnog niet mogelijk omdat er voorafgaand aan een HEP doorgaans geen voorspellende andere klinische verschijnselen waar te nemen zijn.
 - *M.b.t. de bijlagen:* De onderzoeker moet de passage over vervanging aanpassen: nu wordt gesproken over een ander vaccin terwijl dit zou moeten gaan over het vervangen door bijv. proefdiervrije technieken.
We hebben de passage over vervangen nu aangepast naar onderstaande: We want to measure the protective effect of vaccination against a RVFV challenge. There is no in vitro substitute for these kind of experiments.
 - *M.b.t. de bijlagen:* Verfijning: De tekst die de onderzoeker heeft geschreven heeft niet met verfijning te maken. De DEC verzoekt de onderzoeker dit aan te passen en in te gaan op de mogelijkheden van verfijning.
*We hebben onder verfijning nu de volgende tekst toegevoegd:
The amount of blood sampling in the second week post challenge is reduced compared to previous experiments because peak viremia is almost always observed in the first week post challenge.*
 - *M.b.t. alle documenten:* In de NTS wordt informatie gegeven die elders in de projectaanvraag niet of niet duidelijk vermeld staat. Bijv. dat het vaccin enkel voor de Europese markt ontwikkeld wordt.
We hebben niet duidelijk naar voren laten komen dat het vaccin ook voor endemische gebieden wordt ontwikkeld. We hebben de beoogde markten nu beter beschreven onder "Relevance"
 - Ook worden in de bijlage niet de 108 foetussen genoemd.
Deze zijn wel genoemd alleen zijn ze opgesplitst naar beoogd ongerief categorie.
 - De DEC adviseert de onderzoeker om de NTS nogmaals na te lopen en te vergelijken met de projectbeschrijving/bijlagen.
We hebben de NTS nogmaals doorgelopen en het één en ander aangepast conform de projectomschrijving/bijlages.
 - De DEC is van mening dat het onderzoek alleen meerwaarde heeft als de informatie die het onderzoek oplevert breed beschikbaar is (het mag niet "op de plank blijven liggen") en stelt als voorwaarde voor een positief dat de onderzoeker de resultaten van het onderzoek breed publiceert zodat men ook buiten Europa de resultaten kan gebruiken voor het ontwikkelen van effectieve vaccins.
Het project waarbinnen dit onderzoek plaatsvindt stimuleert publicatie van de onderzoeksresultaten. We hebben nu in het projectvoorstel en de NTS onder doel aangegeven dat de resultaten van de experimenten zullen worden gepubliceerd.
*Geïsignaleerd dilemma: Uit het project valt op te maken dat het te ontwikkelen vaccin enkel voor een uitbraak in Europa gereserveerd zal worden. In Afrika is RVFV momenteel een actueel probleem. De DEC vindt het moreel niet juist dat het nu te ontwikkelen vaccin niet voor Afrika beschikbaar zal komen. Het nut van het gebruik van proefdieren zou groter zijn wanneer het vaccin ook buiten Europa vermarkt zou worden. De DEC concludeert dat men, zonder de kosten van een registratietraject, een vaccin beschikbaar wil hebben dat in geval van uitbraak, met een ontheffing voor een experimenteel vaccin, ingezet kan worden in Europa.
Wellicht niet goed naar voren gekomen uit de aanvraag maar het is zeker de bedoeling dat het te ontwikkelen vaccin ook in Afrika gebruikt*

gaat worden. We hebben het tweeledige gebruik van het te ontwikkelen vaccin nu beter uiteengezet onder "Relevance".

De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. De DEC heeft vastgesteld dat het project vergunningplichtig is (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag is een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om over de aanvraag te adviseren vanuit het oogpunt van onafhankelijkheid, onpartijdigheid en beschikbare expertises.

C. Beoordeling (inhoud)

1. De DEC heeft vastgesteld dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft.
2. De DEC heeft geen tegenstrijdige wetgeving, gericht op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort, gesignaleerd die het uitvoeren van de proef in de weg kan staan.
3. De DEC heeft vastgesteld dat de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie in overeenstemming is met de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van de aanvraag is het onderzoeken van de effectiviteit van een RVFV-vaccin
Het uiteindelijke doel van de aanvraag is dat dieren worden beschermd tegen RVFV waarbij een uitbraak gecontroleerd kan worden en voorkomen kan worden dat mensen besmet worden.
De DEC heeft vastgesteld dat er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen en dat het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.
5. De belanghebbenden en hun morele waarden in het project zijn:
 - Proefdieren: aantasting van welzijn en integriteit
 - Doeldieren: bescherming tegen RVFV
 - Veehouder: economisch belang
 - Onderzoeker/CRO: economisch belang
 - Farmaceutische industrie: economische belang
 - Maatschappij: economisch belang door het voorkomen van een RVFV-uitbraak
6. Voor zover de DEC dat kan inschatten is er geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De DEC heeft vastgesteld dat de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven, afgaande op het geschreven voorstel en het oordeel van de IvD, voldoende gewaarborgd zijn.
8. De DEC heeft vastgesteld dat het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstelling. De gekozen strategie en experimentele aanpak kan in de ogen van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.

Welzijn dieren

9. Er is geen sprake van bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren.
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen om bijlage III van richtlijn 2010/63/EU.
11. De DEC stelt vast dat een cumulatieve inschatting van ongerief als "matig" realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Ongerief in de experimenten zal bestaan uit: temperaturen, toedienen van vaccin en challengevirus, bloedafname en verschijnselen RVFV-infectie. De DEC verwacht dat wanneer de dieren beschermd zijn dat dit ongerief niet gehaald wordt en dat men uitgaat van een "worst case scenario".
12. Naast ongerief is er sprake van aantasting van integriteit van de oöien door het optreden van abortus.

DATUM

13 maart 2017

ONS KENMERK

AVD401002017816

PAGINA

3 van 5

13. De DEC heeft vastgesteld dat, na aanpassing n.a.v. vragen van de DEC, de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en dat goed is ingeschat welk percentage van de dieren een humaan eindpunt zal bereiken.

3 V's

14. De DEC heeft vastgesteld dat de onderzoeker voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen alternatieven zijn om de doelstelling van het project te realiseren.
15. De DEC heeft vastgesteld dat de onderzoeker voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er optimaal tegemoet gekomen wordt aan de vereiste van vermindering van dierproeven. De onderzoeker heeft extra dieren aangevraagd om in geval van onvoorziene omstandigheden nog voldoende dieren beschikbaar te hebben voor herhaling van (een deel van) het onderzoek. De DEC gaat hiermee akkoord. De IvD zal per experiment moeten bepalen of het aantal dieren noodzakelijk is voor het behalen van het doel van het experiment.
16. De DEC heeft vastgesteld dat het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven. De DEC ziet geen extra mogelijkheden voor verfijning, anders dan die de onderzoeker nu toepast.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Met uitzondering van de experimenten met drachtige ooien worden beide seksen in gelijke mate ingezet. De keuze voor drachtige ooien is onderbouwd en valide. Omdat het hier dieren afkomstig uit de gangbare praktijk betreft heeft dit geen surplusdieren tot gevolg.
19. De dieren worden gedood in het kader van het project. De dieren zijn besmet met RVFV en een andere bestemming of hergebruik is derhalve niet mogelijk. De dieren worden gedood volgens een passende methode die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU.

NTS

21. De NTS is naar het oordeel van de DEC een evenwichtige weergave van het project, begrijpelijk geformuleerd en voldoet aan de vereisten in de herziene Wod Art. 10.a.1.7.

D. Ethische afweging

1. De centrale morele vraag van het project is of de beschikbaarheid van een effectief RVFV vaccin het gebruik van proefdieren met matig ongerief kan rechtvaardigen.
2. In de beoordeling heeft de DEC geconstateerd dat het hier gaat om een aanvraag met voldoende samenhang. In de afweging is meegewogen dat er nu geen acuut gezondheidsprobleem is. Daarmee is het belang voor de meeste partijen in de huidige context gering. Tegelijk herkent de DEC de mogelijke dreiging van een uitbraak en ziet de meerwaarde van het ontwikkelen van een vaccin. Als het project zijn doel bereikt en er sprake is van een reële verwachting van een uitbraak in Europa schat de DEC de bescherming tegen RVFV voor de doeldieren als een substantieel doel. Daarnaast kan in dat geval ook het commerciële belang voor de farmaceutische industrie als substantieel worden beoordeeld. Ook voor de diersector is het belang in potentie zeer groot wanneer er sprake is van een uitbraak en dit het stopzetten van export tot gevolg heeft. Het gaat dan om economische belangen. Voor de mens is het belang minder groot. Er is sprake van een beperkt gezondheidsbelang, omdat de ziekte bij mensen in het algemeen gepaard gaat met griepachtige verschijnselen en slechts in een klein aantal gevallen complicaties geeft. Tot slot kunnen de resultaten van dit onderzoek relevant zijn voor onderzoekers in Afrika of die zich richten op de gezondheidsproblemen met RVFV in Afrika. De DEC acht dit –gezien de actuele dreiging op dat continent – een substantieel belang.

3. Op basis hiervan is de DEC van mening dat in het ongerief voor deze proefdieren te verdedigen is en dat er in dit stadium geen mogelijkheden zijn op het terrein van vermindering van het aantal dieren en verfijning van de aanvraag. De DEC heeft echter bij dit oordeel een voorwaarde geformuleerd. Zij is van mening dat het onderzoek alleen meerwaarde heeft als de informatie die het onderzoek oplevert breed beschikbaar is (het mag niet "op de plank blijven liggen") en stelt als voorwaarde bij een positief advies, dat de onderzoeker de resultaten van het onderzoek breed publiceert zodat men ook buiten Europa de resultaten kan gebruiken voor het ontwikkelen van effectieve vaccins. Met inachtneming van bovengenoemde voorwaard kan de centrale morele vraag met "ja" beantwoord worden.

DATUM

13 maart 2017

ONS KENMERK

AVD401002017816

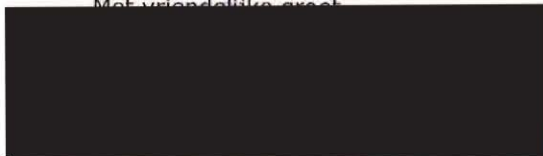
PAGINA

5 van 5

E. Advies

1. Advies aan de CCD:
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Onderstaande knelpunten/dilemma's zijn naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag:
 - Uit het project valt op te maken dat het te ontwikkelen vaccin enkel voor een uitbraak in Europa gereserveerd zal worden. In Afrika is RVFV momenteel een actueel probleem. De DEC vindt het moreel niet juist dat het nu te ontwikkelen vaccin niet voor Afrika beschikbaar zal komen. Het nut van het gebruik van proefdieren zou groter zijn wanneer het vaccin ook buiten Europa vermarkt zou worden. De DEC concludeert dat men, zonder de kosten van een registratietraject, een vaccin beschikbaar wil hebben dat in geval van uitbraak, met een ontheffing voor een experimenteel vaccin, ingezet kan worden in Europa. Antwoord van de onderzoeker maakt duidelijk dat dit dilemma niet speelt en dat het vaccin ook voor de Afrikaanse markt beschikbaar komt.

Met vriendelijke groet



secretaris DEC WUR



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Wageningen Research

Postbus 59

6700 AW WAGENINGEN



**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
AVD401002017816

Bijlagen

2

Datum 9 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 8 februari 2017. Het gaat om uw project "Efficacy of RVFV-4s vaccine". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD401002017816. 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

Datum:

9 februari 2017

Aanvraagnummer:

AVD401002017816

Datum:
9 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD401002017816

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 40100
Naam instelling of organisatie: Stichting Wageningen Research
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: 
KvK-nummer: 908104
Straat en huisnummer: Akkermaalsbos 12
Postbus: 59
Postcode en plaats: 6700 AW WAGENINGEN
IBAN: NL10RABO0397066465
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Wageningen UR

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 
Functie: 
Afdeling: 
Telefoonnummer: 
E-mailadres: 

Datum:
9 februari 2017
Aanvraagnummer:
AVD401002017816

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Over uw aanvraag

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

Over uw project

Geplande startdatum: 2 januari 2017
Geplande einddatum: 31 december 2019
Titel project: Efficacy of RVFV-4s vaccine
Titel niet-technische samenvatting: Werkzaamheid van het RVFV-4s vaccin
Naam DEC: DEC-WUR
Postadres DEC: Droevendaalsesteeg 4, 6708 PB Wageningen
E-mailadres DEC: dec@wur.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.287,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: [REDACTED]
Plaats: Wageningen
Datum: 8 februari 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen University & Research Concernstaf+
t.a.v. Crediteurenadministratie
Droevendaalsesteeg 4
6708 PB WAGENINGEN
|||||

**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
AVD401002017816
Bijlagen
2

Datum 9 februari 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 9 februari 2017
Vervaldatum: 11 maart 2017
Factuurnummer: 170816
Ordernummer: WUR103-4075

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD401002017816	€ 1.287,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 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

Stichting Wageningen Research

Postbus 59

6700 AW WAGENINGEN



**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
AVD401002017816

Datum 31 maart 2017

Betreft aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 8 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Efficacy of RVFV-4s vaccine" met aanvraagnummer AVD401002017816. 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

In bijlage 3.4.4.2 van uw aanvraag beschrijft u 108 foetussen. Bij vraag K beschrijft u echter alleen het ongerief voor de schapen. Kunt u vraag K aanvullen met een ongeriefsinschatting voor de foetussen? Is dit matig voor de foetussen van de controledieren en licht voor de foetussen van de gevaccineerde dieren (is dit wat u bedoelt onder de kolom "origin" bij vraag B)?

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.

Wanneer een beslissing

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

Datum:

31 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD401002017816

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

Appendix Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website www.zbo-ccd.nl.
- Or contact us by phone. (0900-2800028).

1 General information

1.1	Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.	40100	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	WR	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 2	Type of animal procedure Efficacy of RVFV-4s vaccine in pregnant ewes

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

RVFV causes abortion in pregnant sheep through placental passage of the virus and infections of the fetuses. [REDACTED]

The vaccine will be tested:

a) as single vaccination versus prime/boost vaccination b) As "small scale" and "industrial scale" produced vaccine

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

Ewes will be vaccinated during pregnancy with RVFV-4s vaccine (1 ml intramuscularly). In prime boost experiments a second vaccination (1 ml intramuscularly) will be applied. Three weeks after the final vaccination, all animals will be challenged intravenously with virulent RVFV and [REDACTED]

Rectal temperatures will be measured daily. The animals will be checked for clinical symptoms every day, with an intensification to twice a day after challenge. Special attention will be paid to signs of (imminent) abortion such as vaginal discharge or swelling of the vulva. [REDACTED]

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

B. The animals

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

Sheep is the major target species for RVF vaccination and the species which is most susceptible to abortion due to RVFV infection.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

C. Re-use

Will the animals be re-used?

☒ No, continue with question D.

☐ Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

☐ No

☐ Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Replacement: We want to measure the protective effect of vaccination against a RVFV challenge. There is no in vitro substitute for these kind of experiments. Reduction: Experiments will be combined as much as possible to reduce the amount of positive control groups. Refinement: The amount of blood sampling in the second week post challenge is reduced compared to previous experiments because peak viremia is almost always observed in the first week post challenge.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

HEPs are defined to reduce unnecessary suffering of animals. There will be no adverse effect on the environment because of the BSL-3 facilities/containment.

Repetition and Duplication

E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

The RVFV-4s vaccine is a new and recently developed vaccine which has never been tested for its efficacy in pregnant ewes.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

☐ No

☒ Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

In the BSL3 facilities a minimum of bedding material (irradiated sawdust) is used. The reason for using a minimum of bedding is that, due to the BSL3 containment, all bedding has to be autoclaved before it can be disposed. Restricted autoclaving capacity forces us to use a minimum of bedding just enough to absorb urine and keep the stable as clean as possible.

G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

☒ No > Continue with question H.

☐ Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

☐ No > Continue with question I.

☒ Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

☒ No > Justify why pain relieving methods will not be used.

The animals will experience some pain during the injections and blood sampling but this cannot be avoided or relieved. Anti-inflammatory drugs to alleviate fever will not be administered because this may interfere with virus replication and body temperature/fever. In addition, any medication may have an influence on the fetuses in utero.

☐ Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

Sheep will experience mild discomfort and stress during rectal temperature measurements and blood sampling. Adult sheep usually show mild clinical symptoms after infection with RVFV. These symptoms comprise high (but short) fever, dullness and decreased appetite during 2-3 days. However, pregnant sheep will almost certainly abort which is the main cause of discomfort and is classified as moderate.

Explain why these effects may emerge.

RVFV is a hepatotropic virus that causes hepatitis. In adult animals, the hepatitis is less severe than in young animals hence the lesser degree of clinical symptoms. Recovery in adult animals is usually swift after 2-3 days. However, RVFV can also pass the placenta in pregnant animals followed by infection of the fetuses in utero, causing fetal death and abortion.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

To minimize severity of discomfort, the animals will be euthanized when abortion is evident or when abortion has occurred.

J. Humane endpoints

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

☐ No > Continue with question K.

☒ Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

When abortion is evident or when abortion has occurred, this will be considered a HEP. Although we do not expect the following symptoms to occur, additional HEP's are defined when: 1) the animal is recumbent and does not rise even after stimulation for one observation 2) the animal is unable to drink (when offered on site) for one observation 3) the animal is lethargic (listless, apathic, non-responsive to stimuli) for one observation Of note: post challenge animals will be clinically examined twice a day.

Indicate the likely incidence.

In the unvaccinated sheep, incidence of abortion will be almost 100%. We expect that vaccinated ewes will not abort, but this cannot be stated with any certainty. The occurrence of other clinical symptoms (slight fever, dullness, decreased appetite) are unlikely to reach the HEP stage.

K. Classification of severity of procedures

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe).

Due to rectal temperature measurement, blood sampling and injections (i.m. and i.v.) the discomfort of the ewes in the vaccinated group is classified as mild. Because of the possibility of mild clinical symptoms and the almost certain occurrence of abortion, the discomfort of the unvaccinated control ewes is classified as moderate. The discomfort of the fetuses from the unvaccinated ewes is classified as moderate and the discomfort of the fetuses of the vaccinated animals is classified as minor.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

☐ No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

☒ Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

The animals are infected with RVFV which is a zoonotic, mosquito-transmitted virus that is currently not present in the Netherlands. The animals cannot be kept alive because they would pose a potential threat to humans or livestock. In addition, we will need to collect tissue samples from the ewes and foetuses to measure the RVFV titers in the organs or demonstrate absence of RVFV.

| Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

| ☐ No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

| ☒ Yes



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Wageningen Research

Postbus 59

6700 AW WAGENINGEN



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

AVD401002017816

Bijlagen

1

Datum 10 april 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 8 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Efficacy of RVFV-4s vaccine" met aanvraagnummer AVD401002017816. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 5 april 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. De ongeriefsclassificatie voor de foetussen is op ons verzoek toegevoegd aan de bijlage.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

De algemene voorwaarde(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

U kunt met uw project "Efficacy of RVFV-4s vaccine" starten. De vergunning wordt afgegeven van 10 april 2017 tot en met 31 december 2019.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie DEC-WUR. Dit advies is opgesteld op 13 maart 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet. Wij hebben de DEC om aanvullende informatie gevraagd. Op 20 maart en 29 maart 2017 heeft de DEC gereageerd op onze vragen. Op 20 maart heeft de DEC een nieuwe versie van de projectaanvraag toegezonden. Op 29 maart heeft de

DEC haar advies aangevuld en gesteld dat zij de onderbouwing voor het niet toepassen van pijnbestrijding afdoende vindt.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

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

Datum:
10 april 2017
Aanvraagnummer:
AVD401002017816

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:



Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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

Datum:
10 april 2017
Aanvraagnummer:
AVD401002017816



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Stichting Wageningen Research

Adres: Postbus 59

Postcode en plaats: 6700 AW WAGENINGEN

Deelnemersnummer: 40100

deze projectvergunning voor het tijdvak 10 april 2017 tot en met 31 december 2019, voor het project "Efficacy of RVFV-4s vaccine" met aanvraagnummer AVD401002017816, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-WUR. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker. De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 8 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 5 april 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 14 maart 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 13 maart 2017, ontvangen op 14 maart 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 5 april 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Efficacy of RVFV-4s vaccine in young animals				
	Schapen (Ovis aries) /	144	100% Matig	
	Geiten (Capra aegagrus hircus) /	112	100% Matig	
	Runderen (Bos taurus) /	112	100% Matig	
3.4.4.2 Efficacy of RVFV-4s vaccine in pregnant ewes				
	Schapen (Ovis aries) / 54 zwangere schapen, 108 foetussen	162	56% Matig 44% Licht	

Aanvraagnummer:
AVD401002017816

Voorwaarden

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

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

In artikel 10, lid 1 sub a 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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:
AVD401002017816

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

Aanvraagnummer:
AVD401002017816

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

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

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

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

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

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