

	Inventaris Wob-verzoek W17-09								
		wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	NTS2017901								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel			x					
3	Niet-technische samenvatting oud			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1 oud			x					
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2 oud			x					
6	DEC-advies				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8	Nadere vragen en antwoorden			x					
9	Bijlage beschrijving dierproeven 1 nieuw			x					
10	Bijlage beschrijving dierproeven 2 nieuw			x					
11	Niet-technische samenvatting nieuw	x							
12	Advies CCD		x						x
13	Beschikking en vergunning				x		x	x	

09 MRT 2017



Aanvraag

Projectvergunning Dierproeven

Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 32600 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>PD ALT / Intravacc</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td>[Redacted]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td></td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	PD ALT / Intravacc	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]	KvK-nummer										
Naam instelling of organisatie	PD ALT / Intravacc																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]																
KvK-nummer																	
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>	<table><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Antonie van Leeuwenhoeklaan</td><td>9</td></tr><tr><td>Postbus</td><td>450</td><td></td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>3720AL</td><td>Bilthoven</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL74INGB0705003612</td><td></td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>PD ALT</td><td></td></tr></table>	Straat en huisnummer	Antonie van Leeuwenhoeklaan	9	Postbus	450		Postcode en plaats	3720AL	Bilthoven	IBAN	NL74INGB0705003612		Tenaamstelling van het rekeningnummer	PD ALT	
Straat en huisnummer	Antonie van Leeuwenhoeklaan	9															
Postbus	450																
Postcode en plaats	3720AL	Bilthoven															
IBAN	NL74INGB0705003612																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	PD ALT																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[Redacted]</td><td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>Wetenschappelijk medewerker</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	Wetenschappelijk medewerker		Afdeling	[Redacted]		Telefoonnummer	[Redacted]		E-mailadres	[Redacted]	
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.															
Functie	Wetenschappelijk medewerker																
Afdeling	[Redacted]																
Telefoonnummer	[Redacted]																
E-mailadres	[Redacted]																
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[Redacted]</td><td>☐ Dhr. ☒ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>Wetenschappelijk medewerker</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☐ Dhr. ☒ Mw.	Functie	Wetenschappelijk medewerker		Afdeling	[Redacted]		Telefoonnummer	[Redacted]		E-mailadres	[Redacted]	
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☐ Dhr. ☒ Mw.															
Functie	Wetenschappelijk medewerker																
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 0 1 _ 0 3 _ 2 0 1 7

Einddatum 3 1 _ 1 2 _ 2 0 1 8

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Ontwikkeling van microneaalen als alternatief vaccin toedieningsvorm

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

Ontwikkeling van microneaalen als alternatief vaccin toedieningsvorm

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

Naam DEC DEC ALT

Postadres Postbus 450, 3720 AL Bilthoven

E-mailadres

4 Betaalgegevens

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

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- ☒ Projectvoorstel
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☒ Melding Machtiging
- ☒ 2 x bijlage "beschrijving dierproeven"

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 1.6). 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 Bilthoven

Datum 07 - 03 - 2017

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. 32600
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Intravacc
- 1.3 Vul de titel van het project in. Ontwikkeling van micronaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- ☐ Fundamenteel onderzoek
- ☒ Translationeel of toegepast onderzoek
- ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de 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.

Momenteel worden de meeste mensen gevaccineerd via de intramusculaire route, waarbij het vaccin met behulp van spuit en naald geïnjecteerd wordt in spierweefsel van arm of been. Hoewel deze methode van injecteren effectief is, en voor medisch personeel makkelijk uitvoerbaar is, kent het ook nadelen. Ten eerste kan een injectie met spuit en naald stress en ongemak veroorzaken bij de personen die gevaccineerd moeten worden. Dit is met name het geval bij kinderen en mensen met een fobie voor naalden. Uit een recent onderzoek onder Nederlandse ouders is gebleken dat het gebruik van spuit en naald een reden kan zijn om kinderen niet of minder vaak te laten vaccineren.

(Kaaijk et al.; Parents' attitude toward multiple vaccinations at a single visit with alternative delivery methods; Human Vaccines and Immunotherapeutics, 2014). Ten tweede levert het gebruik van naalden gevaarlijk scherp medisch afval op. Dit is met name in ontwikkelingslanden een probleem, omdat hier de afvoer van scherp medisch afval meestal niet of minder goed geregeld is, waardoor de kans op ongewenste prikincidenten hoog is. Daarnaast worden, om kosten te kunnen besparen, vaak meerdere personen met één en dezelfde spuit en naald gevaccineerd. Dit kan leiden tot een verhoogd risico op overdracht van besmettelijke ziekten. De Wereldgezondheidsorganisatie schat in dat jaarlijks meer dan twee miljoen mensen besmet worden met ziektes zoals HIV, hepatitis B en hepatitis C door onveilig handelen met spuit en naald afkomstig van vaccinaties (http://www.who.int/injection_safety/global-campaign/en/). Bovengenoemde nadelen dragen bij aan de vraag naar ontwikkeling van alternatieve toedieningsvormen die spuit en naald kunnen vervangen. Zo heeft de Nederlands overheid, ons instituut gevraagd mee te werken aan de ontwikkeling van alternatieve toedieningsvormen voor vaccins. Om dit te kunnen bewerkstelligen, werkt ons instituut samen met bedrijven, instituten en/of universiteiten die technische kennis hebben op het gebied van de (technische) ontwikkeling van alternatieve toedieningsvormen, zodat dit gecombineerd kan worden met de expertise van ons instituut op het gebied van vaccin ontwikkeling.

Omdat het onderzoeksgebied voor alternatieve toedieningsvorm heel divers is, heeft ons instituut er voor gekozen om zich vooralsnog te beperken tot onderzoek naar technologieën die gebaseerd zijn op micro naalden, die gebruikt kunnen worden voor intradermale vaccinatie.

Micronaalden zijn naalden met een lengte van minder dan 1 millimeter die gebruikt worden om vaccins of andere medicatie intradermaal (tussen de epidermis en de dermis) toe te dienen (van der Maaden et al.; Microneedle technologies for (trans)dermal drug and vaccine delivery; Journal of Controlled Release, 2012). De penetratie van deze naalden is gering en pijnloos omdat deze beperkt blijft tot de epidermis en niet in contact komen met de in de dermis gelegen zenuwuiteinden, die voor de pijnbeleving zorgen. Tevens zorgt het kleine formaat van de micronaalden er voor dat de incidentie op prikaccidenten verkleind kan worden en er minder medisch afval gegenereerd wordt. Naast de praktische voordelen hebben micronaalden ook potentieel een immunologisch voordeel: voor sommige vaccins blijkt dat intradermale toediening meer immunogeen is dan intramusculaire toediening; hierdoor kan mogelijk een lagere dosis vaccin gebruikt worden, wat weer een positieve invloed kan hebben op de kostprijs van het vaccin. Verscheidende vaccins zijn reeds succesvol getest via een intradermale route, zoals vaccins tegen gele koorts, influenza, hepatitis B en rabies (Roukens et al.; Intradermal vaccination to protect against yellow fever and influenza; Current Topics in Microbiology and Immunology, 2012; Roukens et al.; Intradermal hepatitis B vaccination in non-responders after topical application of Imiquimod (Aldara); Vaccine, 2010; Roukens et al.; Reduced dose pre-exposure primary and booster intradermal rabies vaccination with a purified chick embryo cell vaccine (PCECV) is immunogenic and safe in adults; Vaccine, 2008). Echter geldt ook voor deze toepassing dat er gebruik gemaakt wordt van spuit en naald maar dan volgens de specifieke Mantoux techniek. Een techniek die als zeer pijnlijk wordt ervaren en waarvoor de toediening met behulp van micronaalden een pijnloos alternatief kan zijn.

Er bestaan verschillende micronaald concepten (van der Maaden et al.; Microneedle technologies for (trans) dermal drug and vaccine delivery; Journal of Controlled Release, 2012). Ons instituut heeft hiervan twee concepten geselecteerd die elk hun eigen specifieke voordelen hebben. Het micronaald project van ons instituut kent dan ook twee deelprojecten, met elk een andere externe samenwerkingspartner.

1) Het eerste deelproject omhelst de ontwikkeling van zogenaamde holle micronaalden. In feite zijn dit meerdere geminiaturiseerde normale metalen naalden van minder dan 1 mm lang, gerangschikt in een zogenaamde "micronaald-array", waarmee de vaccin vloeistof geïnjecteerd wordt. Deze manier van toediening heeft als voordeel dat bestaande vloeibare vaccins in principe ook gebruikt kunnen worden in het holle micronaalden systeem. Uitgebreide herformulering van het vaccin op basis van deze technologie is dan ook niet nodig. De injectie met deze holle micronaald-array zal worden uitgevoerd met een speciaal ontwikkelde applicator; het hele systeem wordt in deze aanvraag de "micronaald-applicator" genoemd. De micronaald-applicator wordt op de huid geplaatst waarna bij het indrukken van

een knop de micronaald-array uit de applicator komt en het vaccin geïnjecteerd wordt. Na toediening wordt de micronaald-array weer teruggetrokken in de applicator, waarna het opzet stuk met de micronaald-array, veilig weggegooid kan worden. De applicator is zo ontwikkeld dat het pijnvrij de micronaalden kan toediening; op basis van andere studies is de verwachting dat dit ook daadwerkelijk het geval is.

De micronaald-applicator is specifiek ontwikkeld voor toepassing in de mens; bestaande vloeibare vaccins zouden in principe met deze applicator toegediend kunnen worden (zoals eerder aangegeven). Hierdoor kan deze micronaald-applicator mogelijk snel op de markt gebracht worden. Het doel van dit deelproject is om aan te tonen of de micronaald-applicator daadwerkelijk geschikt is om een vaccin toe te dienen. De ontwikkeling van de applicator staat hierin centraal, en niet zozeer een specifieke combinatie van een bepaald vaccin en de micronaald-applicator. De technische ontwikkeling van de micronaald-applicator wordt uitgevoerd door een bedrijf wat zich gespecialiseerd heeft in medische instrumenten; ons instituut onderzoekt de toepasbaarheid van de micronaald-applicator voor vaccinatie.

2) In het tweede deelproject wordt er gewerkt aan de ontwikkeling van solide micronaalden. Dit zijn micronaalden gemaakt uit gedroogd vaccin gemengd met hulpstoffen, die samen de naalden in zijn geheel vormen. De naalden kunnen vervolgens aangebracht worden in de huid (door middel van een pleister; "patch"), waarna de naalden in de huid achterblijven. De naalden, inclusief vaccin, lossen langzaam op in de huid. In tegenstelling tot het eerder genoemde concept heeft deze methode nog een aantal extra voordelen: er is geen applicator nodig om de micronaalden toe te dienen omdat de micronaalden aangebracht kunnen worden door middel van een pleister. Verder zijn vaccins in gedroogde vorm vaak stabielere dan in vloeibare vorm; dit is ideaal voor gebruik in landen waar koeling (wat vaak een vereiste is voor vaccins) nog een probleem kan zijn, zoals in ontwikkelingslanden.

Voor deze technologie geldt dat de samenwerkende partij in preklinische studies heeft aangetoond dat de micronaald technologie zoals ontwikkeld effectief is voor verschillende vaccines. (Pearson et al.; Induction of CD8(+) T cell responses and protective efficacy following microneedle-mediated delivery of a live adenovirus-vectored malaria vaccine; Vaccine, 2015; Vrdojlik et al. Induction of broad immunity by thermostabilised vaccines incorporated in dissolvable microneedles using novel fabrication methods; Journal of Controlled Release, 2016). Nieuw aan de samenwerking met ons instituut is dat de micronaald technologie wordt toegepast voor poliovaccines. Het gebruik van poliovaccin is nog nooit eerder getest voor deze micronaald technologie en er wordt hierbij onderscheidt gemaakt tussen een formulering met 1 type poliovirus (monovalent) en een formulering met 3 typen poliovirussen (trivalent). De reden voor deze aanpak is dat het formuleren van een monovalent type 1 vaccin eenvoudiger is dan het formuleren van een poliovaccin met 3 verschillende types. Dit kan invloed hebben op de immunogeniciteit. Uiteindelijk moet de micronaald technologie voor een trivalent vaccin toepasbaar zijn omdat alleen dit poliovaccin volledige bescherming biedt in mensen.

Kort samengevat: Binnen het project wordt er gewerkt aan de ontwikkeling van alternatieve toedieningsvormen, gebaseerd op micronaalden. In het geval van deelproject 1 gaat het om de ontwikkeling en verfijning van de toedieningstechniek; zodra dit gereed is, kan de micronaald-applicator relatief snel getest worden in combinatie met vaccins die geschikt zijn voor intradermale toediening. Deelproject 2 omhelst juist de ontwikkeling van een specifieke combinatie van de micronaaldpatch en een poliovaccin. Om solide micronaalden te maken is een vaccinformulering nodig die specifiek voor het poliovaccin is ontwikkeld. Deelproject 2 is dus een combinatie van vaccin- en micronaald-ontwikkeling. In beide deelprojecten zijn proefdierexperimenten nodig om de micronaaldconcepten verder te kunnen ontwikkelen.

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?

Het project is onderverdeeld in twee deelprojecten, met elk een afzonderlijke doelstelling.

Het doel van deelproject 1 is om te onderzoeken of de micronaald-applicator in staat om een vaccin intradermaal toe te dienen. De micronaald-applicator is op technisch niveau ook nog in ontwikkeling.

Samen met de kennis van ons instituut op gebied van vaccins en alternatieve toedieningsvormen achten wij de haalbaarheid van dit deelproject hoog.

Het doel van deelproject 2 is om een combinatie van solide microneaalden en een poliovaccin te ontwikkelen. De technische kennis over het maken van solide microneaaldpatches wordt gecombineerd met de uitgebreide vaccin formuleringservaring van ons instituut. Hierdoor achten wij de haalbaarheid van dit deelproject ook hoog.

3.3 Belang

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

De verwachting is dat dit project leidt tot twee nieuwe alternatieve toedieningsvormen voor vaccins, die beide vrijwel pijnloos een vaccin intradermaal kunnen toedienen. Het belang hiervan is dat: a) Het pijnloos toedienen de acceptatie voor vaccinatie kan bevorderen wat uiteindelijk zal leiden tot een hogere vaccinatiegraad. b) Intradermale toediening van vaccins kan leiden tot dose-sparing, waardoor er minder vaccin per toediening nodig is, dit zal leiden tot gereduceerde vaccin kosten en een verhoogde beschikbaarheid van vaccins. c) Daarnaast zijn deze toedieningsvormen goed toepasbaar voor gebruik in vaccinatiecampagnes in ontwikkelingslanden waarbij het risico op prikincidenten aanzienlijk verlaagd worden en zo het overdragen van besmettelijke ziekten ingeperkt wordt.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Deelproject 1 (holle microneaald-applicator):

Om te bepalen of de microneaald-applicator geschikt is voor intradermale toediening van vaccins, zullen er meerdere studies worden uitgevoerd. Er zal door middel van een dierproef bepaald worden of vaccins die door de microneaald-applicator toegediend worden nog in staat zijn om een immuunrespons op te wekken. Als modelvaccin zal er een influenzavaccin worden gebruikt. In deze immunisatiestudie zal er een vergelijking worden gemaakt tussen influenzavaccin dat intradermaal is toegediend met de microneaald-applicator en influenzavaccin dat intramusculair is toegediend met spuit en naald.

Naast de dierproef worden de prikeigenschappen van de microneaalden ook getest op humane huidbiopten (afkomstig van bijv. buikwandcorrecties en na goedkeuring van de patiënt aan de hand van een getekend informed consent). De data van de dierproef en de humane huidstudie zal gebruikt worden voor de verdere ontwikkeling van de microneaald applicator. Uiteindelijk zal er een fase I klinische studie worden uitgevoerd in vrijwilligers waarin de veiligheid en acceptatie van de microneaald-applicator zal vergeleken worden met een intramusculaire injectie met naald en spuit en een met intradermale toediening volgens de Mantoux-methode. Voor de aanvraag van deze fase I klinische studie is het van belang dat we de microneaald-applicator met succes hebben getest in een diermodel. Zodra al deze onderzoeken met succes zijn afgerond, is het uiteindelijke doel om de microneaald-applicator met een specifiek vaccin te testen in een fase I/IIa klinische studie.

Deelproject 2 (solide microneaaldpatch):

Voor de solide microneaalden geldt dat de werking van het vaccin afhangt van de formulering die gebruikt wordt voor het maken van de microneaalden. Een optimale formulering kan geselecteerd worden op basis van een in vitro enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Hierbij wordt aangetoond of de conformatie van vaccin antigenen ("epitopen") na formuleren nog in tact zijn. Als modelvaccin zal er gebruik worden gemaakt van een geïnactiveerd polio vaccin. De selectie van een optimaal polio vaccin formulering zal plaatsvinden m.b.v. van een D-antigeen ELISA (Ten Have et al.; Development of a fast ELISA for quantifying polio D-antigen in in-process samples; Biologicals, 2012). Na selectie van de juiste formulering wordt deze verder getest in een dierstudie waarbij de werkzaamheid van het vaccin getest wordt. Hierbij wordt het intradermaal toedienen van de microneaaldjes vergeleken met een conventionele (spuit en naald) immunisatiemethode waarbij de inductie van antigeen specifieke immuun responsen de belangrijkste parameter is.

In deze studie wordt er gefocust op de ontwikkeling van een nieuwe toedieningsvorm voor poliovaccin door middel van solide microneaalden.

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

Deelproject 1: Voor de holle microneaalden zal er een immunogeniciteitsproef worden uitgevoerd in dieren. (Immunologische evaluatie van vaccin toegediend met holle microneaalden). De microneaald-applicator is ontwikkeld voor toepassing in de mens, en is daarom voor veel kleine proefdieren relatief (te) groot. Om deze reden is er voor een groter proefdier, de cavia, gekozen. Een ander belangrijke factor is dat de huid van cavia's in meerdere opzichten gelijk is aan mensenhuid, wat van belang kan zijn voor het prikken van de microneaalden.

Deelproject 2: Voor de solide microneaalden zal er een immunogeniciteitsproef worden uitgevoerd in ratten waarbij de dieren gevaccineerd worden door middel van een prime-boost strategie om zo de beoogde poliovirus specifieke immuun responsen te kunnen induceren (Van Steenis et al.; Potency testing of killed polio vaccine in rats; Developments in Biological Standardization, 1981). De methode om poliovaccins te testen op werkzaamheid is gestandaardiseerd; deze test wordt in ratten uitgevoerd. Om deze reden is er gekozen voor de rat als diermodel om de microneaald-polio vaccin combinatie uit te kunnen testen.

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.

Deelproject 1: Voor de holle microneaalden zal eerst bepaald worden of de microneaald-applicator in staat is om vaccins daadwerkelijk intradermaal toe te dienen in proefdieren. Indien dit niet het geval is, zal de microneaald-applicator aangepast worden. Dit geldt als het go/no go moment voordat de immunisatiestudie zal worden uitgevoerd. Nadat deze proef succesvol is verlopen, zal er een immunisatiestudie uitgevoerd worden waarin er een vergelijking zal worden gemaakt tussen influenzavaccin dat intradermaal is toegediend met de microneaald-applicator en influenzavaccin dat intramusculair is toegediend met spuit en naald.

Deelproject 2: Voor de solide microneaalden zal op basis van een D-antigen ELISA een optimale formulering geselecteerd worden voor zowel een monovalent vaccin als een trivalent vaccin, dat uit respectievelijk 1 of 3 typen poliovirus bestaat. Het monovalente vaccin zal als eerste getest worden in een immunisatie studie in ratten. Hierbij wordt het toedienen van monovalent poliovaccin intradermaal door microneaalden vergeleken met het intramusculaire toediening van poliovaccin met spuit en naald. Indien blijkt dat de intradermaal toediening van het monovalent poliovaccin het gewenste immuun respons induceert zal de proef herhaald worden met het trivalent vaccin.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Immunologische evaluatie van een vaccin toegediend met holle microneaalden
2	Immunologische evaluatie van polio vaccin toegediend met een pleister (patch) van oplosbare solide microneaalden
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project Ontwikkeling van micronealden als alternatief vaccin toedieningsvorm
- 1.2 Looptijd van het project 3 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) Alternatieve toedieningsvormen, micronealden, vaccin

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- ☐ Fundamenteel onderzoek
- ☒ Translationeel of toegepast onderzoek
- ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
- ☐ 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 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- De meest gebruikte route om vaccins toe te dienen is in het spierweefsel (intramusculaire route). Hiervoor worden spuiten en naalden gebruikt. Het gebruik van naalden heeft echter enkele grote nadelen: 1) Het kan stress en ongemak veroorzaken bij de gevaccineerde persoon (met name in kinderen). Dit kan de gewilligheid en acceptatie van vaccinaties verkleinen. 2) Het levert gevaarlijk scherp medisch afval op, wat met name in ontwikkelingslanden kan leiden tot prikincidenten en bijkomend besmettingsgevaar met ziektes zoals hepatitis en HIV. Er wordt daarom veel onderzoek gedaan naar alternatieve toedieningsvormen, die deze nadelen niet hebben.
- Een groep van veelbelovende alternatieve toedieningsvormen die momenteel in ontwikkeling is, zijn de micronealden. Micronealden zijn naalden met een lengte van minder dan 1 millimeter die vaccin in of door de huid kunnen toedienen. Vaccinatie met micronealden is pijnloos, doordat de naalden

minder diep in de huid prikken en daardoor geen zenuwuiteinden raken die de prikkels geven voor pijn. Tevens zorgt hun kleine formaat er voor dat de incidentie op prikaccidenten verkleind kan worden, en er minder medisch afval gegenereerd wordt. Naast de praktische voordelen hebben micronaalden ook potentieel een immunologisch voordeel: voor sommige vaccins blijkt dat toediening in de huidlaag (intradermaal) potenter is dan toediening via spierweefsel (intramusculair), waardoor er een lagere dosis vaccin gebruikt kan worden.

Het huidige project is onderverdeeld in twee deelprojecten. In elk deelproject wordt een ander micronaald concept getest. In het eerste deelproject wordt er gekeken of holle micronaalden met behulp van een applicator daadwerkelijk vaccin in de huid kunnen toedienen. In het tweede deelproject wordt een specifieke combinatie van een gedroogd vaccin gecombineerd met een micronaald, en vervolgens getest op effectiviteit.

- | | | |
|-----|---|---|
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | De verwachting is dat dit project leidt tot een nieuwe micronaald systeem die vrijwel pijnloos een vaccin intradermaal kan toedienen. Dit kan de acceptatie van vaccinatie bevorderen, waardoor er een hogere vaccinatiegraad bereikt kan worden. Tevens zouden deze micronaald vaccins gebruikt kunnen worden voor vaccinatiecampagnes in derdewereldlanden. |
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? | Er zullen cavia's (90 dieren) en ratten (300 dieren) worden gebruikt. |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | Er wordt matig ongerief verwacht door de wijze van toediening van het vaccin. Tevens kan er ongerief ondervonden worden door individuele huisvesting en langdurige anesthesie. |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? | Voor de cavia's wordt een matig ongerief verwacht, en voor de ratten matig ongerief. |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop? | De dieren worden geëuthanaseerd aan het eind van de dierproef. Het bloed van de dieren is nodig om immunologische testen mee uit te voeren, om te kunnen controleren of vaccinatie met micronaalden hetzelfde of een beter effect heeft als/dan met gewone naalden. |

4 Drie V's

- | | | |
|-----|---|--|
| 4.1 | Vervanging
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije | In het project gebruiken we zoveel mogelijk diervrije methoden om de vaccins te testen. Zo wordt voorafgaand aan de dierstudie het hulpmiddel voor toediening van het vaccin (de applicator) getest op humane huid bipten. De werkzaamheid van het vaccin wordt echter bepaald door de immunologische respons die het kan opwekken. Het opwekken van een |
|-----|---|--|

alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

immuunrespons is echter een complex proces, waar momenteel geen diervrije alternatieven voor zijn.

4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Voor de immunologische studies is het minimaal aantal dieren voor de experimenten bepaald met behulp van een biostatisticus.

4.3 Verfijning

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersoort(en) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

In het project worden verschillende vaccins getest. Voor één van de microneaald concepten wordt er een applicator gebruikt om de microneaalden toe te dienen. Deze applicator is ontwikkeld voor toepassing in de mens, en is daarom voor veel kleine proefdieren relatief groot. Om deze reden is er voor een groter proefdier, de haarloze cavia, gekozen. Een ander belangrijke factor is dat de huid van haarloze cavia's in meerdere opzichten gelijk is aan mensenhuid, wat van belang kan zijn voor het prikken van de microneaalden.

Voor het tweede microneaald concept wordt poliovaccin gebruikt. De test om poliovaccins te testen op werkzaamheid is gestandaardiseerd; deze test wordt in ratten uitgevoerd. Daarom is er gekozen om voor deze microneaald-vaccin combinatie de rat te gebruiken als diersoort.

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

Voor de haarloze cavia's geldt: dat de dieren individueel gehuisvest worden om verwondingen aan de huid te voorkomen. Ook zal de ondergrond en de temperatuur van de leefomgeving aangepast worden.

Voor de ratten geldt dat deze in groepen gehuisvest worden. Tevens zal er standaard kooiverrijking worden toegepast.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen

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.	32600				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Intravacc				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Volgnummer</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Type dierproef</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">1</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 2px;">Immunologische evaluatie van een vaccin toegediend met holle micronealden</td> </tr> </table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Immunologische evaluatie van een vaccin toegediend met holle micronealden
Volgnummer	Type dierproef					
1	Immunologische evaluatie van een vaccin toegediend met holle micronealden					

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.

Om aan te tonen dat intradermale administratie van een vaccin met de microneaaldapplicator mogelijk is, wordt de microneaald-applicator eerst getest in een dierstudie. Als modelvaccin wordt een influenza vaccin gebruikt; influenza vaccins worden al succesvol in mensen via de intradermale route toegediend. Van dit vaccin is dus al bewezen dat het beschermende immuunresponsen na intradermale toediening kan induceren.

De holle micronealden zijn ontworpen om met een applicator toegediend te worden. Deze applicator vormt een integraal onderdeel met de holle micronealden.

De studie bestaat uit twee onderdelen; in het eerste onderdeel worden de biotechnici getraind in het gebruik van de microneaald-applicator op de dieren. Tevens wordt daar de optimale injectiediepte voor de proefdieren bepaald.

Het tweede onderdeel van de studie bestaat uit de immunisatiestudie.

Deel 1: Training en optimalisatie van microneaald-applicator

Er zullen eerst enkele oefenvaccinaties uitgevoerd worden om het gebruik van de microneaald applicator te trainen. Tevens moet de bloedafname bij cavia's getraind worden door de biotechnici. Door deze training willen wij het risico op fouten tijdens de vaccinatiestudie zo klein mogelijk maken.

Tevens zal er worden gekeken of de microneaald-applicator inderdaad correct intradermaal vaccineert in de dieren. Hiervoor zullen de injecties uitgevoerd worden met een kleurstof, waarna bepaald kan worden hoe diep is geïnjecteerd. De intradermale toediening is succesvol als er geen kleurstof wordt gevonden in subdermale weefsels.

Deel 2: Immunisatiestudie

In de dierstudie zullen vier verschillende experimentele groepen getest worden: 1) Influenza vaccin intradermaal geïnjecteerd met de holle microneaalden; 2) influenza vaccin intradermaal geïnjecteerd met conventionele spuit en naald; 3) influenza vaccin intramusculair geïnjecteerd met conventionele spuit en naald en 4) zoutoplossing intradermaal geïnjecteerd met de holle microneaalden.

Centraal in de studie staat de vergelijking tussen intradermale toediening via de holle microneaalden en intradermale toediening met conventionele spuit en naald; verwacht wordt dat de holle microneaalden gelijkwaardig zijn. Als positieve controle is de intramusculaire injectie geïncubeerd; dit is de normale vaccin toedieningsroute in proefdieren. Als negatieve controle wordt er een zoutoplossing met de holle microneaalden intradermaal toegediend; deze zouden geen immuunrespons moeten opwekken.

De primaire uitkomstparameters zijn influenza-specifieke antistoftiters in het serum. Er wordt verwacht dat het vaccin toegediend met de holle microneaalden het even goed doet als de intradermale controlegroep met spuit en naald; eventuele verschillen tussen de groepen zullen met een one-way ANOVA worden aangetoond.

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 dieren zullen tijdens het experiment elk tweemaal worden gevaccineerd met de vaccins genoemd in voorgaande sectie. Er wordt twee keer gevaccineerd om te garanderen dat er meetbare immuunresponsen worden opgewerkt. Eerdere studies met influenzavaccins in cavia's laten zien dat één enkele vaccinatie soms niet immunogeen genoeg is (Bonificio et al.; Fabrication of cell culture-derived influenza vaccine dissolvable microstructures and evaluation of immunogenicity in guinea pigs; Vaccine, 2015). De vaccinaties zullen plaatsvinden op dag 0 en dag 21 onder verdoving. Deze tijdstippen zijn geselecteerd aan de hand van bestaande literatuur over influenza vaccins in cavia's (waaronder bovengenoemde referentie). Op dag 35 worden de dieren geëuthanaseerd. Op dagen 0, 14, 21 wordt er van elk dier een bloedafname gedaan. Op dag 35 worden de dieren verbleed. In het bloed van deze bloedafnames worden de influenza-specifiek antistoftiters bepaald.

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

Het aantal dieren is berekend met een poweranalyse, gebaseerd op het vergelijken van de logaritmes van antistoftiters van twee groepen door een eenzijdige t-toets. Hiermee is rekening gehouden met een significantieniveau van 0.05 en een gewenste power van 80%. De standaarddeviatie op de readout (log antistoftiters) wordt geschat op 10% (op basis van eerdere studies in de literatuur met cavia's geïmmuniseerd met influenzavaccins), en we willen een effect size van minimaal 15% aantonen. Hieruit volgt dat er ongeveer 10 dieren per groep benodigd zijn.

B. De dieren

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

In deze dierstudie zal gebruik gemaakt worden van haarloze cavia's (hairless Hartley guinea pigs) afkomstig uit geregistreerde proefdierfok in binnen- of buitenland. Door haarloze dieren te gebruiken is het makkelijker om met de holle microneaalden intradermaal te injecteren; er hoeft niet geschoren te worden. Scheren kan leiden tot irritatie van de huid, wat de lokale immuunrespons in de huid kan beïnvloeden. Verder is er bewijs dat de huid van de haarloze cavia veel overeenkomsten heeft met humane huid, met name qua dikte en structuur (Sueki et al.; Hairless guinea pig skin: anatomical basis for studies of cutaneous biology; European Journal of Dermatology, 2000).

Er zullen enkel vrouwelijke dieren gebruikt worden van 7-8 weken oud (ongeveer 400 gr.); het geslacht kan invloed hebben op de immuunrespons, waardoor de variatie in de resultaten vergroot wordt. De poweranalyse voor de berekening van de groepsgrootte is gebaseerd op data met alleen vrouwelijke proefdieren. Een studie om de optimale groepsgrootte te bepalen voor 2 geslachten zal erg veel dieren kosten. Omdat dit een eenmalige proef is, en het totaal aantal dieren vrij beperkt is, willen wij ons beperken tot enkel vrouwelijke dieren.

Het benodigde aantal dieren voor deze proef wordt geschat op 90. Er zijn 10 dieren benodigd om de applicator voorafgaande aan de immunisatieproef te testen. Voor de immunisatieproef wordt het aantal benodigde dieren geschat op 40. Er worden nog eens 40 dieren begroot voor een tweede proef indien de eerste proef herhaald moet worden. Herhaling is wellicht nodig door onverwachte uitval van de dieren (door bijvoorbeeld een onverwachte infectie in de dieren tijdens de diertest).

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.

Het minimale aantal dieren om statistische verschillen aan te tonen is berekend door middel van een poweranalyse. Zo wordt voorkomen dat er (statistische) onbruikbare data uit de dierproef komt. Omdat de nieuwe immunisatiemethode het vaccin met hoge snelheid injecteert, is er gekozen om een groter diermodel (de cavia) te verkiezen boven een kleine dier zoals de muis.

De microneaaldapplicator zal voor deze studie worden geoptimaliseerd voor intradermale toediening in dieren (zie proefopzet in deze bijlage). Tevens zullen dan de biotechnici getraind worden in het gebruik van microneaald-applicator. Hierdoor wordt er voorkomen dat er onnodige fouten worden gemaakt tijdens het uitvoeren van deze proef, wat de kans op nadelige effecten op de dieren verkleint.

Naast deze dierstudie zal de microneaald-applicator ook getest worden op humane huidbiopten. Hiermee worden de prikeigenschappen van de micronealden onderzocht en indien nodig geoptimaliseerd voor gebruik in de mens. Er kunnen echter geen immunologische responsen worden opgewekt in huidbiopten. Ook bestaat er geen ander in vitro model om de immunogeniciteit van het vaccin toegediend door de microneaald-applicator te testen.

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

De dieren worden tijdens de vaccin toediening onder anesthesie gebracht om angst bij de dieren te verminderen.

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.

Niet van toepassing.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ 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?

De huid van de dieren kan makkelijk beschadigd worden omdat ze haarloos zijn. Ook kunnen de dieren zich moeilijker warm houden. Er wordt geen pijn verwacht van de injectie met de micronaald-applicator, omdat deze intradermaal (tussen de dermis en epidermis) injecteert, waar geen zenuwen liggen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Haarloosheid van de dieren.

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

Aangezien de dieren haarloos zijn, zal er een speciale ondergrond worden toegepast. Tevens zullen de dieren individueel gehuisvest worden om verwondingen aan de huid te voorkomen. Ook zal de temperatuur van hun leefomgeving aangepast worden.

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.

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

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 cumulatief ongerief voor de dieren wordt geschat op matig. De dieren worden intradermaal of intramusculair geïnjecteerd, wat niet erg belastend is voor de dieren. Echter, doordat de dieren haarloos zijn kunnen ze ongerief ondervinden door de individuele huisvesting. We verwachten geen bijwerkingen van het influenza vaccin.

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 dieren worden aan het einde van de proef verbloed. Voor onze uitleesparameters is er zo veel mogelijk serum nodig voor verschillende analysetechnieken.

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.	32600				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Intravacc				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Volgnummer</th> <th>Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2</td> <td>Immunologische evaluatie van het intradermaal toedienen van een Polio vaccin d.m.v. een pleister (patch) met oplosbare solide micro naaldjes</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	2	Immunologische evaluatie van het intradermaal toedienen van een Polio vaccin d.m.v. een pleister (patch) met oplosbare solide micro naaldjes
Volgnummer	Type dierproef					
2	Immunologische evaluatie van het intradermaal toedienen van een Polio vaccin d.m.v. een pleister (patch) met oplosbare solide micro naaldjes					

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.

Om aan te tonen dat intradermale immunisatie met behulp van een pleister (patch) mogelijk is, wordt een pleister geformuleerd met vaccin en getest in een dierstudie. De pleister bestaat uit oplosbare micronaaldjes. Na aanbrengen van de pleister prikken de micronaaldjes in de huid en lossen langzaam op. Het toedienen van micronaalden is pijnloos, dit omdat ze klein in omvang zijn en niet diep genoeg in het weefsel kunnen prikken om zenuwuiteinden of bloedvaten te kunnen raken. Om de werkzaamheid van de pleister te onderzoeken wordt als modelvaccin een polio vaccin gebruikt. Polio vaccins worden al succesvol in mensen via de intradermale route toegediend. Van dit vaccin is dus al bewezen dat het beschermende immuun responsen na intradermale toediening kan induceren. De studie bestaat uit een immunisatie studie in ratten waarbij gekeken wordt of na toediening van de pleister neutraliserende antistoffen opgewekt kunnen worden tegen het polio virus. Om het concept te kunnen testen wordt er gekozen voor een formulering met monovalent (1 type poliovirus) en trivalent vaccin (3 typen poliovirus). Met het monovalent vaccin wordt onderzocht of het concept van intradermaal vaccineren met micronaalden polio vaccin effectief is (proef 1). Indien dit het geval is zal de proef herhaald worden voor een trivalent vaccin waarbij de robuustheid van het concept getest wordt doordat er met meerdere serotypes polio vaccin tegelijkertijd geïmmuniseerd wordt. N.B. voor optimale bescherming tegen het poliovirus is een vaccinatie met een trivalent vaccin noodzakelijk.

In de dierstudie voor het Polio vaccin zullen vier verschillende experimentele groepen getest worden:

1) polio vaccin intradermaal toegediend op het oor van het dier met een pleister. Er worden 2 verschillende pleisters geformuleerd met monovalent en trivalent vaccin. Beiden patches worden getest in 3 verschillende vaccin concentraties.

2) polio vaccin intramusculair geïnjecteerd met de conventionele spuit en naald (monovalent en trivalent, 3 vaccin concentraties). Intramusculaire injecteren is 1 van de conventionele manieren van vaccineren met poliovaccins. Deze groep is toegevoegd om een directe vergelijking te kunnen maken met de intradermale toediening via de pleister.

3) intramusculair injectie van monovalent en trivalent vaccin opgelost uit de pleisters met de hoogste vaccin concentratie. Deze groep wordt geïncubeerd om aan te kunnen tonen dat het virus niet zijn werking heeft verloren na formuleren van de pleisters. De aanwezigheid van virus antigenen worden voorafgaand aan de dierstudies in vitro getest echter de werkzaamheid, het opwekken van neutraliserende antilichamen, kan alleen in vivo in een dierproef getest worden.

4) controle groep voor de intradermale toediening, vaccineren van dieren met mock geformuleerde pleister. Deze patch bestaat uit alle oplosbare bestanddelen waarvan de micronaaldjes gemaakt zijn met uitzondering van het vaccin. Omdat deze patches geen vaccin bevatten zal er ook geen immuunrespons opwekt worden.

Samengevat:

Proef	Groep	Route toediening	Wijze toediening	Poliovaccin	Vacin dosis		
					Hoog	Middel	Laag
1	1	Intradermaal	pleister met micronaalden	sIPV monovalent	10	10	10
	2	Intradermaal	pleister met micronaalden	formuleringsbuffer (1)	10		
	3	Intramusculair	opgeloste micronaalden	sIPV monovalent	10		
	4	Intramusculair	vloeibaar vaccin	sIPV monovalent	10	10	10
2	1	Intradermaal	pleister met micronaalden	sIPV trivalent	10	10	10
	2	Intradermaal	pleister met micronaalden	formuleringsbuffer (2)	10		
	3	Intramusculair	opgeloste micronaalden	sIPV trivalent	10		
	4	Intramusculair	vloeibaar vaccin	sIPV trivalent	10	10	10

Centraal in de studie staat de vergelijking tussen intradermale toediening (i.d.) via de pleister en de intramusculair toediening (i.m.) met conventionele spuit en naald; de vraag is of het gebruik van de pleister net zo effectief of beter zal zijn in het opwekken van neutraliserende antilichamen dan de conventionele methode met spuit en naald. De intramusculaire toediening is de normale vaccin toedieningsroute voor het testen van polio vaccin in proefdieren.

De primaire uitkomstparameters zijn polio-specifieke neutraliserende antistof titers in het serum, welke in de mens correleren met bescherming.

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 dieren zullen tijdens het experiment elk tweemaal gevaccineerd worden met de vaccins genoemd in voorgaande sectie. De vaccinaties zullen plaatsvinden op dag 0 en dag 21 onder verdoving. Op dagen 0, 21 en 28 wordt er van elk dier, onder verdoving een bloedafname gedaan en gewogen. Op dag 42 worden de dieren onder verdoving gewogen en geëuthanaseerd door verbloeding.

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

Primaire doelstelling is het aantonen van seroconversie na intradermale vaccinatie met poliovaccin waarbij de neutraliserende antilichaam titers hoger of tenminste gelijk zijn aan de titers geïnduceerd na intramusculaire vaccinatie. Titers groter dan een 8x serum verdunning worden beschouwd als positief. Uit eerdere experimenten is gebleken dat met een groepsgrootte van n=10 dieren (sample size calculator(<http://www.openepi.com>)) een medisch relevant verschil, namelijk een 'effect size' van 15%, aangetoond kan worden tussen de hoogste (gekozen op basis van 100% seroconversie) en laagste vaccinverdunding met 80% kans. Deze berekening betreft het vergelijken van twee groepen door een eenzijdige t-toets op significantie niveau van 5%.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia.

In deze dierstudie zal gebruik gemaakt worden van ratten afkomstig uit geregistreerde proefdierfok in binnen- of buitenland. Er zullen enkel vrouwelijke dieren gebruikt worden van 6-8 weken oud; De poweranalyse voor de berekening van de groepsgrootte is gebaseerd op data met alleen vrouwelijke proefdieren. Een studie om de optimale groepsgrootte te bepalen voor 2 geslachten zal erg veel dieren kosten. Omdat dit een eenmalige proef is, en het totaal aantal dieren vrij beperkt is, willen wij ons beperken tot enkel vrouwelijke dieren.

Geschatte aantallen:

Groep 1: 1 vaccin in 3 concentraties getest a 10 dieren per conditie is : $1 \times 3 \times 10 = 30$ dieren

Groep 2: 1 vaccin in 3 concentraties getest a 10 dieren per conditie is: $1 \times 3 \times 10 = 30$ dieren

Groep 3: 1 vaccin in 1 concentratie getest a 10 dieren per conditie is: $1 \times 10 = 10$ dieren

Groep 4: controle groep, 1 conditie a 10 dieren $1 \times 10 = 10$ dieren

Totaal aantal dieren per proef = **80**

Totaal aantal dieren per 2 proeven (vaccinatie met monovalent en trivalent vaccin) = **160** dieren

Er worden nog eens 160 dieren begroot voor herhaling van beiden proef. Dit aantal is behoudens eventuele aanpassingen in de vaccin concentraties en/of, aantal immunisaties en/of locatie van aanbrengen (flank i.p.v. oor) van de patches waardoor het experiment herhaald moet worden.

Totaal aantal dieren voor gehele aanvraag 2 experimenten x 160 dieren per experiment = **320** dieren

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.

Het minimale aantal dieren om statistische verschillen aan te kunnen tonen is berekend door middel van een poweranalyse en bevestigd in verschillende studies. Zo wordt voorkomen dat er (statistische) onbruikbare data uit de dierproef komt. De capaciteit van een polio vaccin om neutraliserende antilichamen te induceren kan getest worden in kippen, cavia's of ratten diermodel. Binnen ons instituut is ervaring met het ratten model en alle analyse methodes zijn gebaseerd op het analyseren van ratten sera.

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

De dieren worden tijdens alle vaccin toedieningen en bloedafnames onder anesthesie gebracht om zo de angst bij de dieren te verminderen.

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.

De micronaaldjes op de pleister zijn nog niet eerder geformuleerd geweest met het polio vaccin en zal in deze hoedanigheid voor het eerst in dieren getest worden.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☒ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☐ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

☐ 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?

Geen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

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.

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

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 cumulatief ongerief voor de dieren wordt geschat op matig, omdat de dieren herhaaldelijk onder narcose worden gebracht. De dieren worden intradermaal (pleister op de huid) of intramusculair geïnjecteerd, wat niet erg belastend is voor de dieren. We verwachten geen bijwerkingen van het polio vaccin.

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 dieren worden aan het einde van de proef verbloed. Voor onze uitleesparameters is er zo veel mogelijk serum nodig voor verschillende analysetechnieken.

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

14 juli 2016

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer
 2. Titel van het project: **Ontwikkeling van micronaalden als alternatieve toedieningsvorm voor vaccins**
 3. Titel van de NTS: **Ontwikkeling van micronaalden als alternatieve toedieningsvorm voor vaccins**
 4. Type aanvraag:
 - ☐ **nieuwe aanvraag projectvergunning**
 - ☐ wijziging van vergunning met nummer
 5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: **DEC ALT**
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
 6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ☐ ontvangen door DEC: **11-01-2017**
 - ☐ aanvraag compleet
 - ☐ in vergadering besproken: **19-01-2017 en 2-2-2017**
 - ☐ anderszins behandeld
 - ☐ termijnonderbreking(en) van **24-01-2017 tot 30-01-2017**
 - ☐ besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - ☐ aanpassing aanvraag
 - ☐ advies aan CCD
 7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De IvD heeft de totstandkoming van deze projectaanvraag begeleid en stemt in met de versie waar de DEC uiteindelijk haar advies over uitbrengt.
- Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.*
8. Eventueel horen van aanvrager
 - Datum: **19-01-2017**
 - Plaats: **Bilthoven**
 - Aantal aanwezige DEC-leden: **7**
 - Aanwezige (namens) aanvrager: **Een medewerker van de verantwoordelijke onderzoeker.**
 - Gestelde vraag / vragen:

1. Zijn micronaalden al ontwikkeld en worden ze hier getest of moeten ze nog (verder) ontwikkeld worden.
2. Gevraagd wordt of de micronaalden echt pijnloos zijn.
3. Opgemerkt wordt dat zowel de toedieningsvormen met de holle als met de solide naalden uit meerdere kleine naaldjes bestaan. Gevraagd wordt of het hierdoor mogelijk is om in elk naaldje een ander type vaccin te doen, zodat meerdere vaccins tegelijk kunnen worden toegediend.
4. Gevraagd wordt of er iets bekend is over de immunogeniteit van influenza vaccins in haarloze cavia's.
5. Opgemerkt wordt dat in het project wordt aangegeven, dat deze cavia's dezelfde huidstructuur en dikte hebben als mensen. Gevraagd wordt of dit geldt voor alle huidtypen, m.n. omdat deze toedieningsvorm met micronaalden vooral ook ontwikkeld wordt voor gebruik in ontwikkelingslanden.
6. Aangegeven wordt dat in de tekst staat dat als er iets fout gaat, de test over gedaan zal moeten worden. De DEC gaat ervan uit dat er dan eerst iets aangepast wordt en dat de IvD daarop toeziet, voordat de test herhaald wordt.
7. In de tekst in bijlage 1 staat niet duidelijk aangegeven waar welke groep voor dient. Dit roept de vraag op waarom groep 2 niet als positieve controle kan dienen en groep 3 niet kan vervallen.
8. M.b.t. bijlage 2 wordt gevraagd of de tweede immunisatie op dezelfde plek wordt gedaan als de eerste.
9. Ook wordt gevraagd wat het nut is van de tweede bloedafname.
10. Gevraagd wordt waarom er twee keer wordt geïmmuniseerd, terwijl mensen maar één keer worden geïmmuniseerd met een influenzavaccin.
11. Opgemerkt wordt dat door deze opzet er geen vergelijking mogelijk is tussen de antilichaamrespons met 1 immunisatie en met 2 immunisaties.
12. Opgemerkt wordt dat influenzavaccins altijd in fretten worden getest. Gevraagd wordt waarom er dan in dit projectvoorstel voor cavia's gekozen is.
13. In de beschrijving over het onderzoek met de solide naalden staat aangegeven, dat de solide naalden worden aangebracht door middel van een pleister en oplossen in de huid. Gevraagd wordt, hoe lang de pleister moet blijven zitten en waar de pleister bij de rat geplakt zal worden.
14. Opgemerkt wordt dat er verschillende keren naar studies verwezen wordt, maar dat de verwijzingen het niet mogelijk maken om de betreffende artikelen te vinden.
15. Gevraagd wordt waarom voor de testen met de solide naalden niet ook gekozen is voor de haarloze cavia als diemodel. Waarom is het hier wel relevant dat de rat het gebruikelijke diemodel is voor experimenten met poliovaccins?
16. Opgemerkt wordt dat bij normale werkzaamheidstesten voor poliovaccins 5 mannelijke en 5 vrouwelijke dieren worden gebruikt en dat voor dit onderzoek 10 vrouwelijke dieren worden gevraagd.
17. Opgemerkt wordt dat de WHO – op basis van studies - 1/5 humane dosis heeft goedgekeurd voor intradermale toediening. Is dit onderzoek nog wel nodig?
18. Opgemerkt wordt dat in de stukken niet duidelijk wordt aangegeven wat het precieze doel is van dit project.

Geconcludeerd wordt dat ook na de ter vergadering gegeven antwoorden er nog te veel zaken onduidelijk zijn om als DEC een advies te kunnen geven over de projectaanvraag. Dit is mede het gevolg van het feit dat de uiteindelijk verantwoordelijke onderzoeker zelf verhinderd was voor deze bijeenkomst. De DEC zou graag eerst een herschreven projectaanvraag zien. De vragen en opmerkingen van de DEC zullen zoveel mogelijk op schrift worden gesteld en aan de onderzoeker worden toegestuurd. De eindverantwoordelijke onderzoeker zal worden uitgenodigd om in de volgende DEC-bijeenkomst alsnog een nadere toelichting te geven op het project. Tot die tijd zal het projectvoorstel worden aangehouden.

- Het horen van de aanvrager heeft **wel** geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: **24-01-2017**
- Gestelde vraag/vragen:
Project

1. In het project wordt dierexperimenteel onderzoek beschreven dat als doel heeft vaccintoediening met twee verschillende "devices" te onderzoeken. Uit de projectbeschrijving (en met name punt 3.4.3) wordt niet goed genoeg duidelijk waarom ze samen één project vormen. De onderdelen zouden ook onafhankelijk van elkaar uitgevoerd kunnen worden en vormen niet vanzelfsprekend één project. De DEC adviseert om duidelijk aan te geven wat het verband is tussen deze twee deelprojecten en waarom ze één project vormen.

2. De achtergrondinformatie die over de solide micronealden opgenomen is in het project is vrij beperkt (Wat is de taak/rol van degene die de naalden produceert en wat is de rol/het belang van degene die ze uittest?). Graag helder formuleren wat achtergrond van deze aanpak is en hoe daaruit de doelstelling van dit project voortvloeit. Er is kennelijk al informatie over de ontwikkeling en toepassing van solide micronealden. Wat is de stand van zaken en wat voegt dit onderzoek toe? Ook, als logische afsluiting van deze inleiding, graag aangeven wat dus de exacte doelstelling van dit project is. Gaat het hier over het verder ontwikkelen en verfijnen van de beide toedieningstechnieken? Of gaat het hier om het ontwikkelen, formuleren en testen van vaccins die geschikt zijn om met behulp van micronealden te worden toegediend? Of is het een combinatie van beide?

3. Verder worden er verschillende verwijzingen gedaan naar wetenschappelijke literatuur, maar op basis van de aangeleverde gegevens is het niet mogelijk de artikelen terug te vinden.

4. De DEC vindt de projectaanvraag op veel punten tekstueel te kort schieten (zowel grammaticaal als inhoudelijk) en onduidelijk. De DEC wil dan ook adviseren om de aanvraag door een derde persoon te laten lezen en eventueel te laten herschrijven.

5. Graag de tekst onder 3.2 herschrijven. De DEC vindt de vermelding "De haalbaarheid van het project is hoog, omdat de microneaaldconcepten al in verre ontwikkeling zijn, zoals aangegeven in 3.1." vreemd. Immers, als al in verschillende studies aangetoond is dat het microneaaldenconcept werkt, dan is het overbodig om dat nogmaals te onderzoeken in dit project.

6. Graag de tekst onder 3.3 herschrijven. De DEC adviseert om hier het project te bekijken op een hoger niveau ("helicopterview"). Er worden een aantal argumenten door elkaar heen gebruikt. De tekst in de NTS is veel duidelijker en zou als uitgangspunt gebruikt kunnen worden.

7. Onder 3.4.1 wordt aangegeven, dat "de micronealden ook getest worden in een ex vivo humaan huidmodel". Het is echter onduidelijk wat bedoeld wordt met ex vivo materiaal? Zijn dit huidbiopten of gekweekte huid? Indien het om huidbiopten gaat, is het verstandig de herkomst van het materiaal, en de toestemming voor het gebruik ervan te vermelden. Ook merkt de DEC op dat het van belang is na te gaan of het device geschikt is voor huid afkomstig van mensen met verschillende leeftijden en etnische achtergronden. In het project wordt immers beschreven dat deze devices mogelijk (en misschien zelf wel voornamelijk) in andere werelddelen toegepast zouden kunnen gaan worden.

8. Het is de DEC onduidelijk waarom het noodzakelijk is om zowel een monovalent- als een trivalent poliovaccin te onderzoeken voor deze proof-of-concept? Het onderzoeken van alleen een trivalent vaccin zou een flinke besparing van het aantal proefdieren opleveren.

Bijlage 1

9. Titel: Wordt "Immunologische evaluatie van een vaccin" bedoeld of van "vaccins"?
10. De argumentatie voor het gebruik van alleen vrouwen is onvoldoende. Graag aangeven waarom alleen vrouwelijke dieren geschikt zijn. Zou het gebruik van 2 geslachten leiden tot grotere groepen? Zijn er historische data om dat te onderbouwen? Indien er historische data zijn, graag duidelijk vermelden of een figuur opnemen.
11. In het algemeen worden fretten als model gebruikt voor influenzaonderzoek. Het is de DEC onvoldoende duidelijk waarom in dit project gekozen is voor cavia's als diemodel. Het argument dat de huid van de naakte cavia's goed vergelijkbaar is met die van de mens is voor de DEC niet doorslaggevend. Kennelijk is het voor u ook niet doorslaggevend, want in bijlage 2 gebruikt u geen cavia's maar ratten, omdat de rat de gebruikelijke diersoort is voor het testen van de immunogeniteit van poliovaccins. Is het niet mogelijk om het device op fretten te testen? In hoeverre is de cavia een goed en relevant model voor influenza onderzoek? Is er literatuur waarin dit beschreven wordt? Indien het device op fretten zou worden uitgetest kunnen de resultaten beter geïnterpreteerd worden tegen de achtergrond van het gebruikelijke influenzaonderzoek.
12. Het is onvoldoende duidelijk wat de toegevoegde waarde van het device is, dat in deze bijlage wordt onderzocht. Gaat een injectie met dit device daadwerkelijk niet gepaard met pijn? Uit welk onderzoek blijkt dat de acceptatie van dit device hoger ligt dan conventionele toedieningsvormen? Waarom kan dit device niet eerst getest worden in de mens (met fysiologisch zout) voordat overgegaan wordt tot proefdierkundig onderzoek met vaccins?
13. De DEC mist onder D / Vervanging de humane huidbiopten. Graag opnemen.
14. Onder onderdeel E. moet niet van toepassing ingevuld worden. Onder H adviseert de DEC om niet een specifieke techniek voor narcose op te nemen, maar het algemener te houden. Ook vraagt de DEC zich af of het noodzakelijk is de dieren onder narcose te brengen als ze alleen een injectie krijgen?

Bijlage 2

15. Zie opmerking 7.
16. Zoals eerder opgemerkt is het de DEC onduidelijk waarom gekozen is voor alleen vrouwelijke dieren. Ook zijn de verschillende groepen onduidelijk geformuleerd en is de niet duidelijk waarom gekozen is voor deze groepsgroottes. Er valt niet te verwachten dat de spreiding in resultaten als gevolg van een i.m. vaccinatie anders is dan in een conventionele potency bepaling en het is dan ook onduidelijk waarom voor deze groep niet gebruik kan worden gemaakt van 2 geslachten. Wordt verwacht dat de spreiding in de data als gevolg van vaccinatie met de solide micronealden groter is? Graag ook aangeven waarom er hier gekozen is voor het testen van 3 concentraties van het vaccin i.p.v. 5 concentraties, zoals dat gebeurt in de conventionele potency bepaling. Ook adviseert de DEC om een biostatisticus te raadplegen.
17. Aangegeven is dat de pleister waar de solide micronealden op zitten, vier uur moet blijven zitten om effectief te zijn. De DEC vraagt zich af of dit praktisch haalbaar is, immers de ratten zouden de pleister eraf kunnen krabben. Om dit te voorkomen, zouden de dieren langdurig onder anesthesie moeten blijven. Dit is echter niet wenselijk vanuit een dierenwelzijnsoogpunt. Een andere optie, waarmee ervaring is binnen het ARC, is de pleister op de rug aan te brengen en de dieren te verbinden. De mate van ongerief staat nu op licht, maar dient afhankelijk van de uiteindelijk gekozen methode mogelijk nog aangepast te worden.
18. De 3V's worden in beide bijlages onvoldoende beschreven. Graag alsnog doen. Hiervoor zou de tekst in de NTS als uitgangspunt gebruikt kunnen worden.

NTS

19. Punt 3.4. De DEC vraagt zich af of de negatieve gevolgen "van het vaccin" zijn of "door toediening van het vaccin". Zie formulering. Ook is de DEC van mening dat de individuele huisvesting en het mogelijk langdurig onder anesthesie houden van de dieren ook ongerief veroorzaakt.

20. Graag de veranderingen die in het projectvoorstel en de bijlages worden aangebracht ook in de NTS doorvoeren.

- Datum antwoord: **30-1-2017**

- Verstrekt(e) antwoord(en):

Ad 1. We hebben de twee onderdelen onderverdeeld in twee deelprojecten. Het is correct dat de twee concepten onderling van elkaar verschillen; ze vallen echter beide onder het micronaald onderzoek van Intravacc.

Ad 2. De achtergrondinformatie is aangevuld. Ook is er een afsluitende paragraaf geïncorporeerd.

Ad 3. Dit is gecorrigeerd.

Ad 4. De tekst is gedeeltelijk herschreven. Hopelijk is de projectaanvraag nu duidelijker.

Ad 5. Dit deel is herschreven aan de hand van de opmerkingen.

Ad 6. Dit deel is herschreven met als basis de NTS tekst.

Ad 7. De tekst onder 3.4.1 is gedeeltelijk herschreven om een en ander te verduidelijken. De geschiktheid van de micronaaldapplicator voor verschillende etnische achtergronden en leeftijden moet inderdaad nog onderzocht worden. Tijdens de (technische) ontwikkeling van de applicator kan daar rekening mee worden gehouden. Vooralsnog zijn er bij andere micronaaldconcepten in de literatuur nog geen problemen gesignaleerd met incompatibiliteit met een specifieke etnische achtergrond/huidtype.

Ad 8. Het onderzoeken van een monovalent vaccin alleen is niet voldoende, omdat bescherming alleen beoogd wordt met een trivalent vaccin (zie ook de uitleg in projectvoorstel). Echter is er wel besloten dat het testen van micronaalden met monovalent en trivalent vaccin uitgevoerd gaat worden in 2 stappen. Mochten de resultaten van de micronaalden met monovalent vaccin niet de gewenste resultaten opleveren dan wordt het trivalent vaccin niet getest. Wel is het noodzakelijk dat voor beide studies een controle groep meegenomen wordt die alleen de formuleringsbuffer krijgt toegediend. Dit betekent dat voor de proeven 1 + 2 niet 150 maar 2x 80 dieren nodig zijn. Mocht het echter niet komen tot het testen van trivalent vaccin dan is hier sprake van een besparing van 80 dieren. Deze wijziging is doorgevoerd in bijlage 2.

Ad 9. Dit is aangepast.

Ad 10. Er zijn helaas geen historische data te vinden in de literatuur die immunogeniciteit van influenza vaccins vergelijkt tussen de 2 geslachten. Er bestaat dus een kans dat het includeren van 2 geslachten kan leiden tot een grote spreiding van de primaire uitkomstparameter, waardoor er geen significante verschillen meer gedetecteerd kunnen worden met de huidige groepsgrootte. De poweranalyse voor de berekening van het aantal dieren is ook gebaseerd op het gebruik van alleen vrouwelijke dieren. Om het verschil uit te sluiten, zou er eerst een directe vergelijking gemaakt moeten worden tussen de influenza-specifieke immuunrespons in mannelijke en vrouwelijke cavia's. Dit zal een aanzienlijk extra aantal dieren kosten bovenop de benodigde dieren voor de evaluatie van de micronaaldapplicator.

Ad 11. De DEC geeft aan dat in het algemeen fretten gebruikt worden voor influenzaonderzoek. Dit is inderdaad ten dele waar; de fret is hét diersoort om de symptomen en transmissie van een influenza infectie te onderzoeken (Belser et al.; The ferret as a model organism to study influenza A virus infection; Disease Models & Mechanisms, 2011). Het doel van deze proef is echter om te kijken of influenzavaccin dat intradermaal toegediend met behulp van de micronaaldapplicator nog steeds immunogeen is. Dit wordt uitgelezen door middel

van influenza-specifieke antilichamen in het bloed. Hiervoor is geen infectiestudie nodig. Hiervoor kunnen dus ook andere diersmodellen gebruikt worden, zoals muizen en cavia's. Er zijn vele studies in de literatuur te vinden die muizen of cavia's gebruiken voor de ontwikkeling van influenzavaccins; cavia's zijn zelfs geschikt gebleken om infectiestudies mee te doen (Lowen et al.; The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses; PNAS, 2006). Fretten zijn dus voor ons studiedoel niet automatisch het beste diersmodel.

De keuze om cavia's te gebruiken in plaats van bijvoorbeeld muizen rust op meerdere factoren. Ten eerste moet het diersmodel groot genoeg zijn op de microneedlearray (ongeveer 1 cm²) te plaatsen. Bij muizen zal dit aanzienlijk moeilijker zijn dan cavia's. Ten tweede bestaan er, zoals aangegeven, naakte cavia's, die een huidstructuur hebben die gelijkend is aan de mens (Sueki et al.; Hairless guinea pig skin: anatomical basis for studies of cutaneous biology; European Journal of Dermatology, 2000). Dit maakt ze zeer geschikt voor het testen van de microneedleapplicator, en is dus doorslaggevend voor deze studie. De vergelijking met de bijlage 2 is onterecht; cavia's zijn voor poliovaccins niet het geschikte diersmodel (Wilton et al.; Methods for the Quality Control of Inactivated Poliovirus Vaccines; Methods Molecular Biology, 2016). Alhoewel het mogelijk is om polio-specifieke antistoftiters op te wekken in cavia's, is de test niet gevoelig genoeg en correleert de antistofdata niet met de humane immuunrespons. De rat is daarentegen wel een goede predictor voor de humane immuunrespons. De redenatie is dus dat alhoewel de cavia een beter diersmodel is voor microneedles in het algemeen (zelfde huiddikte als mens), dit niet toepasbaar is voor poliovaccins door de beperkingen in analytiek.

Ad 12. Deze vragen worden beantwoord in het herschreven deel van de projectomschrijving.

Ad 13. De huidbiopten zijn opgenomen onder dit punt.

Ad 14. Onderdeel E is aangepast.

We zullen geen specifieke narcose noemen. De toediening met de microneedleapplicator vereist dat het huidoppervlak tijdens de injectie niet beweegt. Wij verwachten dat anesthesie hiervoor nodig is.

Ad 15. De technologie voor solide microneedles is nog in een vroeg stadium van ontwikkeling waarbij de samenwerkingspartner in eerste instantie gebruik heeft gemaakt van varkenshuid Vrdojak et al., Journal of Controlled Release, 2016). Dit heeft als voordeel dat het relatief makkelijk te verkrijgen is en de structuur van varkenshuid veel verwantschap vertoont met de humane huid (Summerfield et al., Molecular Immunology 2015) De opmerking m.b.t het gebruik van huidbiopten van mensen met verschillende etnische achtergronden en leeftijden zal in acht genomen worden zodra het testen van huidbiopten aan de orde is.

Ad 16. De omschrijving voor de keuze van de verschillende groepen wordt in bijlage 2 aangepast. De berekening voor het aantal dieren op basis van poweranalyse is beoordeeld door een statisticus. De diersproef betreft een immunogeniciteitsstudie waarbij een vergelijking gemaakt wordt tussen het intradermaal en intramusculair vaccineren van dieren met het poliovaccin. Hierbij is het toedienen van 3 concentraties met toepassing van een Anova als statistische toets voldoende. De conventionele potency bepaling daarentegen heeft als doel de werkzaamheid aan te tonen van een polio vaccin na inactivatie. Het betreft hier een ander onderzoeksdoel namelijk het vrijgeven van een vaccin voor humane toepassing waarbij de opzet van de methode meerdere verdunningen behoeft. M.a.w in dit project gaat het om een vergelijking tussen twee vaccinatie routes en niet om mate van werkzaamheid van het poliovaccin en dus kunnen we met 3 verdunningen voldoende informatie uit te proef halen. Er is nauwelijks data beschikbaar in de literatuur, waarbij onderzoek gedaan is naar het effect van geslachtsverschillen tussen mannelijke en vrouwelijke ratten en de inductie van immuunresponsen na poliovaccinatie. Het artikel van Shirato et. Vaccine 2014 suggereert dat er mogelijk een verschil bestaat tussen geslachten m.b.t. de inductie van neutraliserende antilichamen na poliovaccinatie.

Echter zijn de diergroepen klein waardoor er geen grondige conclusies getrokken kunnen worden. In conclusie, er bestaat een risico dat het includeren van 2 geslachten kan leiden tot een grote spreiding van de primaire uitkomstparameter, waardoor er geen significante verschillen meer gedetecteerd kunnen worden met de huidige groepsgrootte. De poweranalyse voor de berekening van het aantal dieren is ook gebaseerd op het gebruik van alleen vrouwelijke dieren. Om het verschil uit te kunnen sluiten, zou er eerst een directe vergelijking gemaakt moeten worden tussen de polio-specifieke immuunrespons in mannelijke en vrouwelijke ratten. Dit zal het aantal extra dieren dat nodig is voor de evaluatie van het concept voor de solide micronaalden concept aanzienlijk verhogen.

Ad 17. worden.

Op basis van deze opmerking is er overleg geweest met de samenwerkende partij. Deze adviseert de pleister op het oor toe te passen omdat dit vooralsnog de beste methode is om de pleisters met micronaalden te testen. Het hoofd wordt verbonden om zo de pleister overnacht te kunnen laten zitten. Hun ervaring is dat dit nodig is om vooralsnog een maximaal beoogd resultaat te krijgen.

Ad 18. De 3V's zijn aangepast.

Ad 19. Dit is aangepast.

Ad 20. De NTS is hierop aangepast.

- De antwoorden hebben **wel/niet** geleid tot aanpassing van de aanvraag

8b. **2^{de} maal horen** van aanvrager

- Datum: **02-02-2017**
- Plaats: **Bilthoven**
- Aantal aanwezige DEC-leden: **3***
- Aanwezige (namens) aanvrager: **De verantwoordelijke onderzoeker en een medewerker**
- Gestelde vraag / vragen:
De schriftelijk gestelde vragen en de aangepaste documenten en schriftelijke antwoorden op de vragen van de DEC worden met de onderzoekers doorgenomen. De nog overgebleven onduidelijkheden worden besproken en verder opgehelderd. Hieronder wordt dat weergegeven.
 1. De DEC merkt op dat het om 2 aparte deelprojecten gaat met een gezamenlijke paraplu. De DEC ziet de samenhang meer in het feit dat het in beide gevallen om intradermale toediening gaat met als eerste stap de ontwikkeling van het device en als tweede stap het testen van het vaccin. De onderzoeker beaamt dit.
 2. Nog onduidelijk is waarom een monovalent en een trivalent vaccin getest wordt. Onderzoeker geeft aan dat een monovalent vaccin beter stabiel te houden is en dus geschikter voor een proof-of-principle. Het trivalente vaccin is nodig i.v.m. de productontwikkeling.
 3. Gevraagd wordt waarom er een groep is opgenomen, waarin de solide micronaalden in opgeloste vorm intramusculair worden toegediend. Onderzoeker geeft aan dat als geen immuunrespons wordt gezien, men wil weten of het aan de pleister (dus de toedieningsvorm) ligt of aan het vaccin dat in de micronaalden is verwerkt.
 4. Er wordt toelichting gevraagd op de keuze voor het geslacht. Onderzoeker geeft aan dat in de literatuur alleen vrouwelijke dieren worden gebruikt. Om te kijken of het ook in twee geslachten kan, zou eerst een pilot gedaan moeten worden en omdat het om een eenmalig experiment gaat, loont dat niet. Dit zou slechts meer dieren kosten.
 5. Gevraagd wordt of het noodzakelijk is dat de dieren narcose krijgen voor het toedienen van het device. Staat wel vast dat de dieren niet rustig genoeg zullen zijn? Onderzoeker geeft aan deze vraag meegenomen kan worden in de training, maar dat het ook gedaan is, omdat de dieren toch al onder anesthesie gaan voor de bloedafname.

6. Opgemerkt wordt dat het verwarrend is dat onder 3.4 gesproken wordt over "project", terwijl daar het grote project wordt bedoeld waar dit project onderdeel van is. Wordt aangepast.

7. Waarom is er een dierproef noodzakelijk? Kan beter omschreven worden. De kans dat een fase 1 klinische studie wordt geaccepteerd, is veel groter als er eerst een dierstudie is gedaan waarin de haalbaarheid van het concept is aangetoond.

8. Aangegeven staat dat het hoofd van het dier verbonden zal worden. Is dat een gangbare methode en geeft dit meer ongerief? Kan de IvD hierop toezien? Onderzoeker geeft aan dit getoetst is en dat het vaker op deze manier wordt gedaan. Er komt iemand met ervaring om het te demonstreren en er kan eerst op dode dieren worden geoefend.

9. Er worden extra dieren gevraagd voor eventuele herhaling. Wat kan de reden zijn om het experiment te herhalen? Deze graag opnemen in de tekst. De onderzoeker denkt aan onvoorspelbare redenen, bijvoorbeeld een virus in de dierfaciliteit of de microbiologische status die achteraf niet goed blijkt te zijn.

9b. N.a.v. de 2^{de} hoor-sessie wordt afgesproken dat de onderzoeker de documenten aanscherpt aan de hand van bovengenoemde vragen. De DEC beschikt over voldoende informatie om een ethische afweging te maken.

*Het aangepaste projectvoorstel en het concept DEC-advies zijn op 1 maart 2017 schriftelijk aan de DEC-leden voorgelegd met de mededeling dat tijdens de laatste DEC-vergadering onvoldoende quorum was en het verzoek om zowel de documenten als het advies kritisch te bekijken.

Op 6 maart 2017 hebben 4 DEC-leden schriftelijk aangegeven in te kunnen stemmen met de aanpassingen in het projectvoorstel en het DEC-advies.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek
- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Advies expert

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. Er is geen betrokkenheid van DEC-leden bij deze projectaanvraag, waardoor onafhankelijkheid en onpartijdigheid zijn gewaarborgd.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Deze aanvraag heeft een helder omschreven doelstelling en het is duidelijk hoe de verschillende onderdelen binnen het project met elkaar samenhangen; in beide onderdelen wordt gestreefd naar de ontwikkeling van intradermale toedieningsmethoden voor vaccins die een aantal duidelijke, gemeenschappelijk voordelen ten opzicht van bestaande met naald en spuit toe te dienen vaccins. Het is duidelijk hoe deze onderdelen van het project passen binnen de doelstelling van het

project. De opzet komt goed overeen met voorbeeld 4B uit de handreiking 'Invulling definitie project' van de CCD. Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Hierdoor is ook duidelijk welk ongerief individuele dieren zullen ondergaan.

2. Voor zover de DEC-ALT weet is er geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proeven beschreven in dit projectvoorstel in de weg zou kunnen staan.
3. De in het projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) (Translationeel of toegepast onderzoek) sluit aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Het directe doel van het project is het ontwikkelen van intradermale toedieningsmethoden voor vaccins, waarbij gebruikt gemaakt wordt van micronaalden. Vaccinatie gebeurt normaal gesproken door middel van intramusculaire of subcutane injectie van een vloeibaar vaccin met een naald. De laatste jaren is de acceptatie van vaccinaties verminderd, mede omdat deze conventionele manier van toedienen pijnlijk kan zijn. Daarnaast levert deze conventionele methode scherp medisch afval op, wat met name in ontwikkelingslanden de kans op ongewenste prikcidenten met zich meebrengt en de kans op verspreiding van infectieziektes verhoogt. Met het ontwikkelen van alternatieve intradermale toedieningsmethoden voor vaccins wordt getracht een bijdrage te leveren aan de veiligheid en acceptatie van vaccinatie. Bijkomend voordeel van intradermale vaccinaties zou daarnaast kunnen zijn dat er een sterkere reactie van het immuunsysteem wordt opgewekt, waardoor de vaccinatie effectiever is en/of met een lagere dosis kan worden volstaan ("dose sparing"). Uiteindelijk dragen een bredere acceptatie van vaccinaties, minder scherp afval en "dose sparing" alle bij aan het waarborgen en bevorderen van de volksgezondheid. De DEC is van mening dat er een heldere relatie is tussen het directe en uiteindelijke doel en dat het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.
5. De belangrijkste belanghebbenden binnen dit onderzoek zijn de proefdieren, de bevolking, de onderzoekers en de bedrijven die intradermale toedieningsmethoden op basis van micronaalden ontwikkelen. De integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en de dieren zullen ongerief ondervinden als gevolg van de vaccinaties. Mogelijk ondervinden de haarloze cavia's ongerief van hun kaalheid doordat ze sneller afkoelen of verwondingen oplopen. Na verloop van tijd zullen de dieren worden gedood voor het verkrijgen van bloed voor verder onderzoek. Voor de onderzoekers is het van belang kennis te vergaren en van economisch belang om samen te werken met de ontwikkelaar van de intradermale toedieningsmethoden. Voor het bedrijf dat deze methoden ontwikkelt is het van economische belang om de methoden verder te ontwikkelen en zo de implementatie van deze methoden te bevorderen. Wetenschappelijk aanzien en economische voordelen mogen door de onderzoekers en bedrijven zelf van belang geacht worden, maar voor de DEC legt dit bij de afweging over de ethische toelaatbaarheid van deze experimenten geen gewicht in de schaal. Voor de bevolking is het van belang dat er pijnloze en veilige vaccintoedieningsmethoden beschikbaar komen. Dit verhoogt de acceptatie (en daarmee de vaccinatiegraad) en maakt vaccinatie effectiever en veiliger. Uiteindelijk draagt dit bij aan het verminderen of zelfs uitroeien van infectieziekten.
6. Er is geen sprake van substantiële milieueffecten.

Proefopzet en haalbaarheid

7. De kennis en kunde van dit instituut en de betrokkenen bedrijven zijn voldoende gewaarborgd. De aanvragers hebben jarenlange ervaring met het ontwikkelen en formuleren van vaccins, zoals blijkt uit de publicaties van dit instituut. De betrokken bedrijven hebben de toedieningsmethoden ontwikkeld en hebben ervaring met deze methoden in andere onderzoeksvelden. De DEC is dan ook van mening dat de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende is om te kunnen voldoen aan alle zorgvuldigheidseisen omtrent het verrichten van de dierproeven.
8. De doelstelling van het project is helder uiteengezet en de voorgestelde experimenten sluiten hier goed bij aan. De DEC is van mening dat het project goed is opgezet en dat jarenlange ervaring voldoende garandeert dat deze experimentele aanpak zal 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 huisvesting en verzorging van de dieren zijn conform de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU.
11. De aanvragers hebben het cumulatief ongerief voor zowel de haarloze cavia's als de ratten geschat op matig. Het ongerief dat de cavia's ondervinden wordt veroorzaakt door de intradermale of intramusculair injectie en de noodzaak tot individuele huisvesting. De ratten ondervinden ongerief van de intradermale (pleister op de huid) of intramusculaire injectie. De ratten die het poliovaccin toegediend krijgen middels een pleister moeten verbonden worden om ervoor te zorgen dat de pleister blijft zitten. Het verbinden zal ongerief met zich meebrengen. Ook is het nodig de ratten herhaaldelijke onder narcose te brengen. Naar mening van de DEC is het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven, matig voor alle dieren, juist ingeschat en geclassificeerd.
12. De integriteit van zowel de cavia's als de ratten wordt aangetast door de beperking van vrijheid en natuurlijk gedrag. Ook zijn de haarloze cavia's gevoelig voor temperatuurwisselingen en kunnen ze makkelijk beschadigingen oplopen. Op dat punt is hun integriteit aangetast. Bij de huisvesting wordt hier rekening mee gehouden.
13. Op basis van ervaring, voorzien de aanvragers dat er zich geen omstandigheden voor zullen doen, doen waarbij het toepassen van humane eindpunten noodzakelijk is. De DEC is van mening dat dit een juiste inschatting is.

3V's

14. Alhoewel er binnen dit project veel vooronderzoek gedaan wordt met in vitro methoden (met huidbiopten worden o.a. de prikeigenschappen van de micronaalden onderzocht), kunnen volledige immunologische responsen alleen in een diermodel bepaald worden. De DEC is van mening dat de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen alternatieven voorhanden zijn.
15. Het maximaal aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat op basis van een poweranalyse en literatuur en is proportioneel ten opzichte van de opzet en de doorlooptijd van het project.

16. Het project is in overeenstemming met de vereisten van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Op basis van de literatuur en ervaring valt niet te verwachten dat de dieren ongerief ondervinden van de vaccinaties. Echter zullen de dieren wel ongerief ondervinden van de individuele huisvesting (cavia's), de narcose (ratten) en het verbinden (ratten). De DEC is dan ook van mening dat de beschreven experimentele opzet de meest verfijnde is en dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
17. Het gaat hier om translationeel of toegepast onderzoek. Deze vraag is dus niet van toepassing.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. De aanvrager zal voor bijlage 1 alléén gebruik maken van vrouwelijke dieren. De aanvrager geeft hiervoor de volgende onderbouwing: "het geslacht kan invloed hebben op de immuunrespons, waardoor de variatie in de resultaten vergroot wordt. De poweranalyse voor de berekening van de groepsgrootte is gebaseerd op data met alleen vrouwelijke proefdieren". Dit zou kunnen worden opgelost door de verschillen tussen de geslachten eerst te onderzoeken in een apart experiment en dan de op basis van de resultaten de groepsgrootte voor een experiment met dieren van beide geslachten te bepalen. Dit zou relatief veel dieren en moeite vergen voor een experiment dat in deze vorm waarschijnlijk slechts één maal gedaan wordt. De aanvrager zal voor bijlage 2 alleen gebruik maken van vrouwelijke dieren. De aanvrager geeft hiervoor de volgende onderbouwing: "De poweranalyse voor de berekening van de groepsgrootte is gebaseerd op data met alleen vrouwelijke proefdieren." Verder is er een duidelijk verschil tussen dit experiment, waarin men op zoek is naar subtiele verschillen in immuunresponsen tussen twee toedieningsmethoden en de standaard "potency testen" waarin wel gebruik gemaakt wordt van groepen van gemengd geslacht. Ook dit zou kunnen worden opgelost door de verschillen tussen de geslachten eerst te onderzoeken in een apart experiment en dan de op basis van de resultaten de groepsgrootte voor een experiment met dieren van beide geslachten te bepalen. Dit zou relatief veel dieren en moeite vergen voor een experiment dat in deze vorm waarschijnlijk slechts één maal gedaan wordt. De DEC is van mening dat de aanvrager in beide gevallen in voldoende mate onderbouwt waarom gekozen is voor het gebruik van één geslacht.
19. De dieren zullen worden gedood met een dodingsmethode die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Doding is noodzakelijk voor het isoleren van bloed. Daarmee kunnen de verschillende analyses uitgevoerd worden en kan er zoveel mogelijk informatie uit de dierproef gehaald worden.
20. Er worden in deze projectaanvraag geen niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren gedood om niet-wetenschappelijke redenen.
- NTS*
21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en is begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. Rechtvaardigt het belang van het ontwikkelen van nieuwe intradermale toedieningsmethoden voor vaccins (directe doel) en het waarborgen de volksgezondheid (uiteindelijke doel) het ongerief dat de dieren zullen ondervinden en de integriteits-

aantasting van de dieren?

2. De integriteit en het welzijn van de dieren worden in dit project respectievelijk in geringe mate en matig aangetast (zie C9 tot C20). Daar staat tegenover dat dit project bijdraagt aan het ontwikkelen van nieuwe toedieningsmethoden voor vaccins en daarmee een bijdrage kunnen leveren aan een breder geaccepteerde en veiligere vaccinatiestrategie. Uiteindelijk draagt dit bij aan het waarborgen van de volksgezondheid. Dit dient zowel een groot economisch belang als een groot volksgezondheidsbelang. De DEC kent daar veel gewicht aan toe.

3. De DEC is overtuigd van het belang van het ontwikkelen van nieuwe intradermale toedieningsmethoden voor vaccins (directe doel) en het waarborgen de volksgezondheid (uiteindelijke doel), en vindt dat de kennis en kunde van de aanvragers het aannemelijk maken dat de directe doelstellingen behaald worden binnen de looptijd van het project. De DEC is tevens van mening dat de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen alternatieven voorhanden zijn, dat het aantal dieren realistisch is ingeschat en dat het project in overeenstemming is met de vereisten voor verfijning van dierproeven. Alles afgewogen mag geconcludeerd worden dat het belang van de doelstellingen en de haalbaarheid van het project, het matige ongerief dat de dieren ondervinden als gevolg van de vaccinaties en de geringe aantasting van de integriteit van deze dieren, kunnen rechtvaardigen. Aan de eis, dat het belang van de experimenten op dient te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, is voldaan.

E. Advies

1. De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies is unaniem tot stand gekomen.
3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

PD Alt / Intravacc

Postbus 450

3720 AL BILTHOVEN



**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
AVD326002017901

Bijlagen

2

Datum 9 maart 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 9 maart 2017. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van micronaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD326002017901. 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).

Datum:

9 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD326002017901

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
9 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD326002017901

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 32600
Naam instelling of organisatie: PD ALt / Intravacc
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 52511170
Straat en huisnummer: Antonie van Leeuwenhoeklaan 9
Postbus: 450
Postcode en plaats: 3720 AL BILTHOVEN
IBAN: NL741NGB0705003612
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: PD ALt

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Datum:
9 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD326002017901

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]
Naam: [REDACTED]
Postbus: 450
Postcode en plaats: 3720 AL BILTHOVEN

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Ja

Wat mag de gemachtigde doen?

- ☐ Een projectvergunning aanvragen
- ☐ Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- ☐ Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- ☐ Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- ☒ Alle bovenstaande opties

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u?

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

Over uw project

Geplande startdatum: 1 maart 2017
Geplande einddatum: 31 december 2018
Titel project: Ontwikkeling van microneaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van microneaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm
Naam DEC: DEC ALT
Postadres DEC: Postbus 450, 3720 AL Bilthoven
E-mailadres DEC:

Datum:

9 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD326002017901

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.187,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: [x] Projectvoorstel
[x] Beschrijving Dierproeven
[x] Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: [x] Melding Machtiging
[x] DEC-advies

Ondertekening

Naam:
Functie:
Plaats: Bilthoven
Datum: 9 maart 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

PD Alt / Intravacc



Postbus 450

3720 AL BILTHOVEN



**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
AVD326002017901

Bijlagen

2

Datum 9 maart 2017

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 9 maart 2017

Vervaldatum: 8 april 2017

Factuurnummer: 170901

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD326002017901	€ 1.187,00

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.

Project 32600 2017 901

Vragen CCD + antwoorden/reactie onderzoeker:

-De 3V's zijn vrij summier beschreven. In bijlage 3.4.4.2 heeft u bovendien niet aangegeven waarom het niet mogelijk is de doelstellingen te behalen zonder het gebruik van dieren. U wordt verzocht deze informatie alsnog aan te leveren.

De extra informatie is toegevoegd aan de bijlage.

-Het aantal dieren in de NTS komt niet overeen met het in de aanvraag beschreven aantal dieren. U wordt verzocht aan te geven wat correct is en de NTS en aanvraag met elkaar in overeenstemming te brengen.

Het aantal dieren is gecorrigeerd in de NTS.

-De aangevraagde looptijd van de vergunning komt niet overeen met de looptijd van het project in de NTS. U wordt verzocht aan te geven wat correct is en de NTS en aanvraag met elkaar in overeenstemming te brengen.

De looptijd van de vergunning is aangepast in de NTS.

Uit uw aanvraag blijkt niet of u mannelijke en vrouwelijke dieren gaat gebruiken. U wordt verzocht dit alsnog aan te geven. Mocht u of alleen vrouwelijke of alleen mannelijke dieren gebruiken, wordt u verzocht toe te lichten waarom dat voor het behalen van uw doelstelling noodzakelijk is.

In de beschrijving van de dierproeven staat voor beide dierproeven onder kopje B (De Dieren) reeds aangegeven welk geslacht dier er per dierproef wordt gebruikt en de toelichting daarbij.

De aangepaste NTS, bijlage/dierproef 1 en bijlage/dierproef 2 zijn aangepast.

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.	32600	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Intravacc	
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	Immunologische evaluatie van een vaccin toegediend met holle micronealden

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Om aan te tonen dat intradermale administratie van een vaccin met de microneaaldapplicator mogelijk is, wordt de microneaald-applicator eerst getest in een dierstudie. Als modelvaccin wordt een influenza vaccin gebruikt; influenza vaccins worden al succesvol in mensen via de intradermale route toegediend. Van dit vaccin is dus al bewezen dat het beschermende immuunresponsen na intradermale toediening kan induceren.

De holle micronealden zijn ontworpen om met een applicator toegediend te worden. Deze applicator vormt een integraal onderdeel met de holle micronealden.

De studie bestaat uit twee onderdelen; in het eerste onderdeel worden de biotechnici getraind in het gebruik van de microneaald-applicator op de dieren. Tevens wordt daar de optimale injectiediepte voor de proefdieren bepaald.

Het tweede onderdeel van de studie bestaat uit de immunisatiestudie.

Deel 1: Training en optimalisatie van microneaald-applicator

Er zullen eerst enkele oefenvaccinaties uitgevoerd worden om het gebruik van de microneaald applicator te trainen. Tevens moet de bloedafname bij cavia's getraind worden door de biotechnici. Door deze training willen wij het risico op fouten tijdens de vaccinatiestudie zo klein mogelijk maken.

Tevens zal er worden gekeken of de microneaald-applicator inderdaad correct intradermaal vaccineert in de dieren. Hiervoor zullen de injecties uitgevoerd worden met een kleurstof, waarna bepaald kan worden hoe diep is geïnjecteerd. De intradermale toediening is succesvol als er geen kleurstof wordt gevonden in subdermale weefsels.

Deel 2: Immunisatiestudie

In de dierstudie zullen vier verschillende experimentele groepen getest worden: 1) Influenza vaccin intradermaal geïnjecteerd met de holle micronealden; 2) influenza vaccin intradermaal geïnjecteerd met conventionele spuit en naald; 3) influenza vaccin intramusculair geïnjecteerd met conventionele spuit en naald en 4) zoutoplossing intradermaal geïnjecteerd met de holle micronealden.

Centraal in de studie staat de vergelijking tussen intradermale toediening via de holle micronealden en intradermale toediening met conventionele spuit en naald; verwacht wordt dat de holle micronealden gelijkwaardig zijn. Als positieve controle is de intramusculaire injectie geïncubeerd; dit is de normale vaccin toedieningsroute in proefdieren. Als negatieve controle wordt er een zoutoplossing met de holle micronealden intradermaal toegediend; deze zouden geen immuunrespons moeten opwekken.

De primaire uitkomstparameters zijn influenza-specifieke antistoftiters in het serum. Er wordt verwacht dat het vaccin toegediend met de holle micronealden het even goed doet als de intradermale controlegroep met spuit en naald; eventuele verschillen tussen de groepen zullen met een one-way ANOVA worden aangetoond.

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 dieren zullen tijdens het experiment elk tweemaal worden gevaccineerd met de vaccins genoemd in voorgaande sectie. Er wordt twee keer gevaccineerd om te garanderen dat er meetbare immuunresponsen worden opgewerkt. Eerdere studies met influenzavaccins in cavia's laten zien dat één enkele vaccinatie soms niet immunogeen genoeg is (Bonificio et al.; Fabrication of cell culture-derived influenza vaccine dissolvable microstructures and evaluation of immunogenicity in guinea pigs; Vaccine, 2015). De vaccinaties zullen plaatsvinden op dag 0 en dag 21 onder verdoving. Deze tijdstippen zijn geselecteerd aan de hand van bestaande literatuur over influenza vaccins in cavia's (waaronder bovengenoemde referentie). Op dag 35 worden de dieren geëuthanaseerd. Op dagen 0, 14, 21 wordt er van elk dier een bloedafname gedaan. Op dag 35 worden de dieren verbloed. In het bloed van deze bloedafnames worden de influenza-specifiek antistoftiters bepaald.

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

Het aantal dieren is berekend met een poweranalyse, gebaseerd op het vergelijken van de logaritmes van antistoftiters van twee groepen door een eenzijdige t-toets. Hiermee is rekening gehouden met een significantieniveau van 0.05 en een gewenste power van 80%. De standaarddeviatie op de readout (log antistoftiters) wordt geschat op 10% (op basis van eerdere studies in de literatuur met cavia's geïmmuniseerd met influenzavaccins), en we willen een effect size van minimaal 15% aantonen. Hieruit volgt dat er ongeveer 10 dieren per groep benodigd zijn.

B. De dieren

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

In deze dierstudie zal gebruik gemaakt worden van haarloze cavia's (hairless Hartley guinea pigs) afkomstig uit geregistreerde proefdierfok in binnen- of buitenland. Door haarloze dieren te gebruiken is het makkelijker om met de holle micronealden intradermaal te injecteren; er hoeft niet geschoren te worden. Scheren kan leiden tot irritatie van de huid, wat de lokale immuunrespons in de huid kan beïnvloeden. Verder is er bewijs dat de huid van de haarloze cavia veel overeenkomsten heeft met humane huid, met name qua dikte en structuur (Sueki et al.; Hairless guinea pig skin: anatomical basis for studies of cutaneous biology; European Journal of Dermatology, 2000).

Er zullen enkel vrouwelijke dieren gebruikt worden van 7-8 weken oud (ongeveer 400 gr.); het geslacht kan invloed hebben op de immuunrespons, waardoor de variatie in de resultaten vergroot wordt. De poweranalyse voor de berekening van de groepsgrootte is gebaseerd op data met alleen vrouwelijke proefdieren. Een studie om de optimale groepsgrootte te bepalen voor 2 geslachten zal erg veel dieren kosten. Omdat dit een eenmalige proef is, en het totaal aantal dieren vrij beperkt is, willen wij ons beperken tot enkel vrouwelijke dieren.

Het benodigde aantal dieren voor deze proef wordt geschat op 90. Er zijn 10 dieren benodigd om de applicator voorafgaande aan de immunisatieproef te testen. Voor de immunisatieproef wordt het aantal benodigde dieren geschat op 40. Er worden nog eens 40 dieren begroot voor een tweede proef indien de eerste proef herhaald moet worden. Herhaling is wellicht nodig door onverwachte uitval van de dieren (door bijvoorbeeld een onverwachte infectie in de dieren tijdens de dierproef).

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.

Naast deze dierstudie zal de microneald-applicator ook getest worden op humane huidbiopten. Hiermee worden de prikeigenschappen van de micronealden onderzocht en indien nodig geoptimaliseerd voor gebruik in de mens. Er kunnen echter geen immunologische responsen worden opgewekt in huidbiopten. Ook bestaat er geen ander in vitro model om de immunogeniciteit van het vaccin toegediend door de microneald-applicator te testen.

Het minimale aantal dieren om statistische verschillen aan te tonen is berekend door middel van een poweranalyse. Zo wordt voorkomen dat er (statistische) onbruikbare data uit de dierproef komt. Omdat de nieuwe immunisatiemethode het vaccin met hoge snelheid injecteert, is er gekozen om een groter diermodel (de haarloze cavia) te verkiezen boven een kleine dier zoals de muis. Een ander belangrijke factor is dat de huid van haarloze cavia's in meerdere opzichten gelijk is aan mensenhuid, wat van belang kan zijn voor het prikken van de micronealden.

De micronealdapplicator zal voor deze studie worden geoptimaliseerd voor intradermale toediening in dieren (zie proefopzet in deze bijlage). Tevens zullen dan de biotechnici getraind worden in het gebruik van microneald-applicator. Hierdoor wordt er voorkomen dat er onnodige fouten worden gemaakt tijdens het uitvoeren van deze proef, wat de kans op nadelige effecten op de dieren verkleint.

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

De dieren worden tijdens de vaccin toediening onder anesthesie gebracht om angst bij de dieren te verminderen.

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.

Niet van toepassing.

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.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De huid van de dieren kan makkelijk beschadigd worden omdat ze haarloos zijn. Ook kunnen de dieren zich moeilijker warm houden. Er wordt geen pijn verwacht van de injectie met de micronaald-applicator, omdat deze intradermaal (tussen de dermis en epidermis) injecteert, waar geen zenuwen liggen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Haarloosheid van de dieren.

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

Aangezien de dieren haarloos zijn, zal er een speciale ondergrond worden toegepast. Tevens zullen de dieren individueel gehuisvest worden om verwondingen aan de huid te voorkomen. Ook zal de temperatuur van hun leefomgeving aangepast worden.

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.

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

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 cumulatief ongerief voor de dieren wordt geschat op matig. De dieren worden intradermaal of intramusculair geïnjecteerd, wat niet erg belastend is voor de dieren. Echter, doordat de dieren haarloos zijn kunnen ze ongerief ondervinden door de individuele huisvesting. We verwachten geen bijwerkingen van het influenza vaccin.

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 dieren worden aan het einde van de proef verbloed. Voor onze uitleesparameters is er zo veel mogelijk serum nodig voor verschillende analysetechnieken.

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.	32600	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Intravacc	
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>	2	Immunologische evaluatie van het intradermaal toedienen van een Polio vaccin d.m.v. een pleister (patch) met oplosbare solide micro naaldjes

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Om aan te tonen dat intradermale immunisatie met behulp van een pleister (patch) mogelijk is, wordt een pleister geformuleerd met vaccin en getest in een dierstudie. De pleister bestaat uit oplosbare micronaaldjes. Na aanbrengen van de pleister prikken de micronaaldjes in de huid en lossen langzaam op. Het toedienen van micronaalden is pijnloos, dit omdat ze klein in omvang zijn en niet diep genoeg in het weefsel kunnen prikken om zenuwuiteinden of bloedvaten te kunnen raken. Om de werkzaamheid van de pleister te onderzoeken wordt als modelvaccin een polio vaccin gebruikt. Polio vaccins worden al succesvol in mensen via de intradermale route toegediend. Van dit vaccin is dus al bewezen dat het beschermende immuun responsen na intradermale toediening kan induceren. De studie bestaat uit een immunisatie studie in ratten waarbij gekeken wordt of na toediening van de pleister neutraliserende antistoffen opgewekt kunnen worden tegen het polio virus. Om het concept te kunnen testen wordt er gekozen voor een formulering met monovalent (1 type poliovirus) en trivalent vaccin (3 typen poliovirus). Met het monovalent vaccin wordt onderzocht of het concept van intradermaal vaccineren met micronaalden polio vaccin effectief is (proef 1). Indien dit het geval is zal de proef herhaald worden voor een trivalent vaccin waarbij de robuustheid van het concept getest wordt doordat er met meerdere serotypes polio vaccin tegelijkertijd geïmmuniseerd wordt. N.B. voor optimale bescherming tegen het poliovirus is een vaccinatie met een trivalent vaccin noodzakelijk.

In de dierstudie voor het Polio vaccin zullen vier verschillende experimentele groepen getest worden:

1) polio vaccin intradermaal toegediend op het oor van het dier met een pleister. Er worden 2 verschillende pleisters geformuleerd met monovalent en trivalent vaccin. Beiden patches worden getest in 3 verschillende vaccin concentraties.

- 2) polio vaccin intramusculair geïnjecteerd met de conventionele spuit en naald (monovalent en trivalent, 3 vaccin concentraties). Intramusculaire injecteren is 1 van de conventionele manieren van vaccineren met poliovaccins. Deze groep is toegevoegd om een directe vergelijking te kunnen maken met de intradermale toediening via de pleister.
- 3) intramusculair injectie van monovalent en trivalent vaccin opgelost uit de pleisters met de hoogste vaccin concentratie. Deze groep wordt geïncubeerd om aan te kunnen tonen dat het virus niet zijn werking heeft verloren na formuleren van de pleisters. De aanwezigheid van virus antigenen worden voorafgaand aan de dierstudies in vitro getest echter de werkzaamheid, het opwekken van neutraliserende antilichamen, kan alleen in vivo in een dierproef getest worden.
- 4) controle groep voor de intradermale toediening, vaccineren van dieren met mock geformuleerde pleister. Deze patch bestaat uit alle oplosbare bestanddelen waarvan de micronaaldjes gemaakt zijn met uitzondering van het vaccin. Omdat deze patches geen vaccin bevatten zal er ook geen immuunrespons opwekt worden.

Samengevat:

Proef	Groep	Route toediening	Wijze toediening	Poliovaccin	Vaccin dosis		
					Hoog	Middel	Laag
1							
	1	Intradermaal	pleister met micronaalden	sIPV monovalent	10	10	10
	2	Intradermaal	pleister met micronaalden	formuleringsbuffer (1)	10		
	3	Intramusculair	opgeloste micronaalden	sIPV monovalent	10		
	4	Intramusculair	vloeibaar vaccin	sIPV monovalent	10	10	10
2							
	1	Intradermaal	pleister met micronaalden	sIPV trivalent	10	10	10
	2	Intradermaal	pleister met micronaalden	formuleringsbuffer (2)	10		
	3	Intramusculair	opgeloste micronaalden	sIPV trivalent	10		
	4	Intramusculair	vloeibaar vaccin	sIPV trivalent	10	10	10

Centraal in de studie staat de vergelijking tussen intradermale toediening (i.d.) via de pleister en de intramusculair toediening (i.m.) met conventionele spuit en naald; de vraag is of het gebruik van de pleister net zo effectief of beter zal zijn in het opwekken van neutraliserende antilichamen dan de conventionele methode met spuit en naald. De intramusculaire toediening is de normale vaccin toedieningsroute voor het testen van polio vaccin in proefdieren.

De primaire uitkomstparameters zijn polio-specifieke neutraliserende antistof titers in het serum, welke in de mens correleren met bescherming.

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 dieren zullen tijdens het experiment elk tweemaal gevaccineerd worden met de vaccins genoemd in voorgaande sectie. De vaccinaties zullen plaatsvinden op dag 0 en dag 21 onder verdoving. Op dagen 0, 21 en 28 wordt er van elk dier, onder verdoving een bloedafname gedaan en gewogen. Op dag 42 worden de dieren onder verdoving gewogen en geëuthanaseerd door verbloeding.

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

Primaire doelstelling is het aantonen van seroconversie na intradermale vaccinatie met poliovaccin waarbij de neutraliserende antilichaam titers hoger of tenminste gelijk zijn aan de titers geïnduceerd na intramusculaire vaccinatie. Titers groter dan een 8x serum verdunning worden beschouwd als positief. Uit eerdere experimenten is gebleken dat met een groepsgrootte van $n=10$ dieren (sample size calculator(<http://www.openepi.com>)) een medisch relevant verschil, namelijk een 'effect size' van 15%, aangetoond kan worden tussen de hoogste (gekozen op basis van 100% seroconversie) en laagste vaccinverdunning met 80% kans. Deze berekening betreft het vergelijken van twee groepen door een eenzijdige t-toets op significantie niveau van 5%.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia.

In deze dierstudie zal gebruik gemaakt worden van ratten afkomstig uit geregistreerde proefdierfok in binnen- of buitenland. Er zullen enkel vrouwelijke dieren gebruikt worden van 6-8 weken oud; De poweranalyse voor de berekening van de groeps grootte is gebaseerd op data met alleen vrouwelijke proefdieren. Een studie om de optimale groeps grootte te bepalen voor 2 geslachten zal erg veel dieren kosten. Omdat dit een eenmalige proef is, en het totaal aantal dieren vrij beperkt is, willen wij ons beperken tot enkel vrouwelijke dieren.

Geschatte aantallen:

Groep 1: 1 vaccin in 3 concentraties getest a 10 dieren per conditie is : $1 \times 3 \times 10 = 30$ dieren

Groep 2: 1 vaccin in 3 concentraties getest a 10 dieren per conditie is: $1 \times 3 \times 10 = 30$ dieren

Groep 3: 1 vaccin in 1 concentratie getest a 10 dieren per conditie is: $1 \times 10 = 10$ dieren

Groep 4: controle groep, 1 conditie a 10 dieren $1 \times 10 = 10$ dieren

Totaal aantal dieren per proef = **80**

Totaal aantal dieren per 2 proeven (vaccinatie met monovalent en trivalent vaccin) = **160** dieren

Er worden nog eens 160 dieren begroot voor herhaling van beiden proef. Dit aantal is behoudens eventuele aanpassingen in de vaccin concentraties en/of, aantal immunisaties en/of locatie van aanbrengen (flank i.p.v. oor) van de patches waardoor het experiment herhaald moet worden.

Totaal aantal dieren voor gehele aanvraag 2 experimenten x 160 dieren per experiment = **320** dieren

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.

Stimulatie van de productie van neutraliserende antilichamen is een wereldwijd geaccepteerde maat voor de effectiviteit van vaccins. Bij de productie van neutraliserende antilichamen zijn verschillende soorten immuuncellen betrokken. Op dit moment kan deze immuunrespons niet in vitro nagebootst worden, waardoor het noodzakelijk is om de productie van neutraliserende antilichamen met een dierproef te onderzoeken.

Het minimale aantal dieren om statistische verschillen aan te kunnen tonen is berekend door middel van een poweranalyse en bevestigd in verschillende studies. Zo wordt voorkomen dat er (statistische) onbruikbare data uit de dierproef komt. De capaciteit van een polio vaccin om neutraliserende antilichamen te induceren kan getest worden in kippen, cavia's of ratten diermodel. Binnen ons instituut is ervaring met het ratten model en alle analyse methodes zijn gebaseerd op het analyseren van ratten sera.

De test om poliovaccins te testen op werkzaamheid is gestandaardiseerd; deze test wordt in ratten uitgevoerd. Daarom is er gekozen om voor deze micronaald-vaccin combinatie de rat te gebruiken als diermodel.

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

De dieren worden tijdens alle vaccin toedieningen en bloedafnames onder anesthesie gebracht om zo de angst bij de dieren te verminderen.

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.

De micronaaldjes op de pleister zijn nog niet eerder geformuleerd geweest met het polio vaccin en zal in deze hoedanigheid voor het eerst in dieren getest worden.

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.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

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.

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

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 cumulatief ongerief voor de dieren wordt geschat op matig, omdat de dieren herhaaldelijk onder narcose worden gebracht. De dieren worden intradermaal (pleister op de huid) of intramusculair geïnjecteerd, wat niet erg belastend is voor de dieren. We verwachten geen bijwerkingen van het polio vaccin.

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 dieren worden aan het einde van de proef verbloed. Voor onze uitleesparameters is er zo veel mogelijk serum nodig voor verschillende analysetechnieken.

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



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

PD Alt / Intravacc

Postbus 450

3720 AL BILTHOVEN

**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

AVD326002017901

Bijlagen

1

Datum 20 april 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 9 maart 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van micronaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm" met aanvraagnummer AVD326002017901. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 6 april 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op 31 maart 2017 hebben wij vragen gesteld over de 3V's, het ongerief dat de dieren ondergaan en de aangevraagde looptijd van de vergunning. Wij kunnen ons vinden in uw toelichting.

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.

Met het oog op artikel 10a, lid 1, zijn er algemene voorwaarden gesteld.

U kunt met uw project "Ontwikkeling van micronaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm" starten. De vergunning wordt afgegeven van 20 april 2017 tot en met 31 december 2019.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Alt gevoegd. Dit advies is opgesteld op 9 maart 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. 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:
20 april 2017
Aanvraagnummer:
AVD326002017901

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: PD ALT / Intravacc

Adres: Postbus 450

Postcode en plaats: 3720 AL BILTHOVEN

Deelnemersnummer: 32600

deze projectvergunning voor het tijdvak 20 april 2017 tot en met 31 december 2019, voor het project "Ontwikkeling van micronaalden als alternatief vaccin toedieningsvorm" met aanvraagnummer AVD326002017901, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC ALT. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Wetenschappelijk medewerker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 9 maart 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 6 april 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 6 april 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 9 maart 2017, ontvangen op 9 maart 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 6 april 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1. Immunologische evaluatie van een vaccin toegediend met holle micronaalden				
	Cavia's (Cavia porcellus) /	90	100% Matig	
3.4.4.2. Immunologische evaluatie van het intradermaal toedienen van een Polio vaccin d.m.v. een pleister (patch) met oplosbare solide micro naaldjes				
	Ratten (Rattus norvegicus) /	320	100% Matig	

Voorwaarden

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

Aanvraagnummer:
AVD326002017901

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:
AVD326002017901

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:

AVD326002017901

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.