



Proefopzet : 

10.2.e
10.2.g

Onderzoeksplan 16

1

Proefopzet 	Auteur: 
Creatie: 14-01-2014	Laatste wijziging: 15-01-2014
Status proefopzet: Geannuleerd	Status experiment: Nog niet gestart

ALGEMEEN

Project

Projectnummer: 
Project titel: 
Projectleider(s): 
Startdatum project: 01-01-2013

Dierproef

Titel dierproef: Immunologie en efficacy van een influenza T-cel vaccin
Aard van de dierproef: 2-Onderdeel van een lopend project
Dierproef behoort tot het onderzoek van het: IntraVacc
Lab/Unit/Afd: Intravacc
Geplande inzetdatum: 31-12-2013

Diernummers: 1-168
Duur dierproef: 49 dagen
Doorlooptijd proefopzet 1 jaar of minder
Art. 9 
Art. 9 Vervanger: 
Art. 12: 
Medewerkers: 
Tijdschrijven op: 

VRAAGSTELLING**Project****Geef een beknopte samenvatting van de achtergrond van het project.**

Seizoenale influenza A infecties vormen een belangrijke oorzaak van ziekte en overlijden binnen de Nederlandse samenleving. Daarnaast is er de dreiging van een uitbraak van een pandemisch griepvirus wat geheel nieuw is voor de mens zoals in het verleden meerdere malen gebeurd is (o.a. de Spaanse griep van 1918, Mexicaanse griep van 2009). Traditionele griepvaccins bieden voornamelijk bescherming door de inductie van griep-specifieke antilichamen. Deze antilichamen zijn nauwelijks in staat tot kruisbescherming tegen nieuwe griepvarianten. Deze kruisbescherming zou verbeterd kunnen worden door de introductie van een T cel component, zowel gezien het beschermende effect van griep-specifieke T cellen in diersystemen als het feit dat de virus-epitopen die door T cellen herkend worden in hoge mate geconserveerd zijn tussen verschillende virusstammen.

In de huidige vaccins worden deze griep-specifieke T cellen bijzonder inefficiënt geïnduceerd en daarom zou een T cel-component in samenhang met klassieke vaccin-componenten bredere bescherming kunnen bieden tegen epidemieën en nieuwe pandemieën.

In dit consortium willen wij een innovatief influenza A vaccin ontwikkelen door gebruik te maken van een technologie die al is ontwikkeld door consortiumpartners. Deze technologie maakt het mogelijk om T cel responsen zichtbaar te maken, waardoor een databank van griep-specifieke T cel epitopen ontwikkeld kan worden. Deze databank wordt gebruikt voor de ontwikkeling van een volledig synthetische T cel epitopen ██████████, die moeten leiden tot een T cel gebaseerd influenza vaccin dat bescherming moet bieden tegen toekomstige pandemieën.

De specifieke T-cel epitopen die binnen het consortium ontwikkeld zijn, zijn momenteel alleen in staat een immuunrespons op te wekken in combinatie met adjuvantia die niet geschikt zijn voor menselijk gebruik (bijv. incompleet Freund's adjuvant - ██████████). Er zijn dus nieuwe formuleringen (delivery systems en adjuvantia) nodig om het ██████████ effectief en veilig toe te dienen.

Welke concrete vraag / vragen wilt u met dit project beantwoorden?

Het ontwikkelen van ██████████-gebaseerde vaccinatie strategieën ter preventie van influenza A besmetting.

Wat is het maatschappelijk belang van het project?

Ontwikkeling van een nieuw influenza A vaccin, dat een bredere bescherming biedt dan huidige vaccins.

Wat is het wetenschappelijk belang van het project?

Onderzoeken in hoeverre een T cel component kan bijdragen aan (kruis)bescherming, en welke rol een delivery systeem daarbij speelt.

Dierproef**Welke concrete vraag / vragen wilt u met deze dierproef beantwoorden?**

Wat is de meest optimale verhouding ██████████ in het vaccin, en wat is het mechanisme en effectiviteit van dit vaccin?

Geef aan waarom deze vraag dient te worden beantwoord met behulp van een dierproef en waarom middels het voorgestelde diermodel.

In deze proef worden de immunogeniciteit en effectiviteit van een nieuw influenza T-cel vaccin bestudeerd. Momenteel zijn er geen goede in vitro modellen om alle aspecten van de immuunrespons te bestuderen. Er is gekozen voor een muismodel omdat er met dit model naast het freten de meeste kennis is over influenza infecties en vaccinaties. In het ██████████ project worden ██████████ voor humaan HLA-A2. Aangezien het ██████████ vaccin alleen gebonden kan worden door humane HLA-A2 moleculen, zijn er HLA-A2 transgene muizen nodig in dit experiment.

Geef aan hoe de vraagstelling van de dierproef gerelateerd is aan de vraagstelling van het project.

Noem hierbij eventueel aannames die nodig zijn om het verband te leggen of relevante bevindingen van voorgaande proeven onder vermelding van bijbehorend proefopzetnummer.

In voorgaande dierproef binnen dit project ██████████ is ██████████ meegenomen in het experiment. Dit leidde (onverwachts) tot hoge influenza-specifieke T-cel responsen. Aangezien dit het hoofddoel van het project is, is deze vaccin formulatie een aantrekkelijke kandidaat voor verdere ontwikkeling. Omdat in voorgaande dierproef ██████████ is gebruikt, willen we onderzoeken of ██████████ zonder de T-cel respons te beïnvloeden. Tegelijkertijd willen we de invloed van ██████████ onderzoeken. Vervolgens wordt het mechanisme van het vaccin bestudeerd met relevante controlegroepen.

PROEFOPZET

Uit de antwoorden op de hieronder geformuleerde vragen dient duidelijk te worden dat deze proef de potentie heeft om de eerder geformuleerde vraagstelling van de dierproef te beantwoorden. Om de leesbaarheid te bevorderen dienen minder algemeen gebruikte afkortingen verklaard te worden.

Beschrijf de experimentele- en controlegroep(en) en de (be)handelingen die zij ondergaan.
Zie tabblad uitvoering voor groepen en handelingen.

Geef aan hoe de resultaten statistisch worden geanalyseerd.

De groepen worden statistisch vergeleken met een one-way ANOVA gevolgd door een Kukras-Wallis post-test voor multiple comparisons. Deze methoden bleken geschikt te zijn in voorgaande experimenten [REDACTED]

Schets het 'experimental design' van de dierproef, zodat de essentie van de proefopzet duidelijk wordt.

De proefopzet bestaat uit drie afzonderlijke delen, die opeenvolgend uitgevoerd zullen worden. In deel 1 zal [REDACTED] worden vastgesteld. Verschillende verhoudingen worden getest op CD8 T-cel inductie in de muis na immunisatie. De immunresponsen van [REDACTED] zullen vervolgens met behulp van een statistische methode (Design of Experiments) vergeleken worden, waarna de finale optimale verhouding vastgesteld kan worden.

Vervolgens zal deze [REDACTED] gebruikt worden voor het vervolgdeel, deel 2. Dit deel zal meer inzicht geven in de mechanistische en immunologische werking van d [REDACTED] (subgroep A). De invloed van [REDACTED] op de T-cel respons zal worden bestudeerd (controle groepen 10 en 11). Verder zal het belang van [REDACTED] bestudeerd worden door [REDACTED] (groep 12). Verder zal bestudeerd worden of [REDACTED] concept ook toegepast kan worden voor andere niet-influenza gerelateerde ziekten, door [REDACTED] (groep 13). Als laatste worden ook [REDACTED] om te onderzoeken of [REDACTED] ook de immunrespons tegen [REDACTED] kan boosten.

Tegelijkertijd zal er ook gekeken worden in hoeverre ons [REDACTED] bescherming geeft tegen een heterologe influenza A infectie na vaccinatie (subgroep B & C). Groep 9, [REDACTED] is daarin het nieuwe vaccin. Groepen 8, 11 en 16 zijn negatieve controles. Groep 15, [REDACTED] is de positieve controle die in principe 100% bescherming geeft. Groep 14, [REDACTED] is geïncludeerd om te onderzoeken of [REDACTED] ook bescherming tegen influenza infectie kunnen bewerkstelligen. Groep 16 wordt geïnfecteerd met [REDACTED]

Vervolgens wordt deze groep gechallenged met [REDACTED]

Deze groep is geïncludeerd als controle [REDACTED] te onderzoeken. Dit is relevant aangezien [REDACTED]

[REDACTED] Verder is het nuttig om te weten of [REDACTED] al dan niet gebruikt kan worden voor een eventueel T-cel vaccin.

De dieren van subgroep A worden immunologisch geanalyseerd met behulp van FACS of CD8 T-cellen en antilichamen. De dieren onder subgroep B worden geanalyseerd voor virustiters in de longen. De dieren onder subgroep C worden geanalyseerd aan de hand van lichaamsgewicht

Is voor de opzet van de proef overleg gepleegd met een statisticus? Zo ja, met wie? Zo nee, waarom niet?

Welke randomisatie maatregelen zijn er genomen t.a.v. groepsindeling en volgorde van experimentele handelingen? Indien geen maatregelen zijn genomen, geef aan waarom.

De dieren worden random over de groepen verdeeld. Alle groepen zullen naarmate mogelijk gelijk behandeld worden.

Zijn er nevenfactoren, zoals verschil in huisvesting of verschil in behandelingstijdstippen tussen experimentele- en controle groep(en), die de behandelingseffecten ongewild zouden kunnen verstoren?
Nee.

Welke maatregelen zijn genomen om de aanwezigheid van nevenfactoren te voorkomen? Indien geen maatregelen zijn genomen, geef aan waarom.

Zoveel mogelijk gelijke behandeling en gelijke huisvesting.

Geef een motivatie voor het aantal dieren (bv. met behulp van een power-analyse).

Voor deel 1 en 2A: Poweranalyse geeft 6 dieren per groep ($\alpha=0.05$ and $\text{power}=0.90$; geanticipeerde variatie $\text{coefficient}=10$ (Student's t-test), met een effectgrootte van 25%). Resultaten van vorige experimenten

[REDACTED] die dezelfde readouts (antilichaamtiters en T-cel responsen) gebruikten, liet zien dat er significante verschillen aan te tonen waren met deze groepsgrootte.

Deel 2B: Poweranalyse geeft 6 dieren per groep ($\alpha=0.05$ and $\text{power}=0.90$; geanticipeerde variatie coefficient=10 (Student's t-test), met een effectgrootte van 25) voor de analyse van virustiters in de longen. Voor de analyse van gewichtsdata geeft poweranalyse 8 dieren per groep ($\alpha=0.05$ and $\text{power}=0.90$; geanticipeerde variatie coefficient=10 (Student's t-test), met een effectgrootte van 15%).

Vat samen hoe u de vraagstelling van de dierproef denkt te kunnen beantwoorden met de voorgestelde proefomschrijving. Speculeer daarbij over mogelijke uitkomsten (bijvoorbeeld verhogend dan wel verlagend effect van de behandeling) en hoe elk van deze mogelijke uitkomsten antwoord geeft op de vraagstelling(en) van de dierproef.

Deel 1 van de proef behandelt de vraag wat [REDACTED] Momenteel is er al bekend dat [REDACTED] er al een zeer sterke CD8+ T-cel respons kan worden opgewekt. Aangezien [REDACTED] is het een streven om [REDACTED] voor de ontwikkeling van een commercieel vaccin. Tegelijkertijd kan o [REDACTED] wat wellicht [REDACTED] compenseerd.

In deel 2 (subgroep A) zullen we [REDACTED] gebruiken om mechanistisch onderzoek te doen naar dit nieuwe vaccin. Het gebruik van [REDACTED] als adjuvant/delivery system voor [REDACTED] is nog nooit onderzocht, dus zullen de controlegroepen in dit deel [REDACTED] veel inzicht geven in het werkingsmechanisme van dit vaccin. Tevens zal onderzocht worden of [REDACTED] eventueel voor andere [REDACTED] die niet aan influenza gerelateerd zijn, gebruikt kan worden.

Verder zal de beschermingsefficiency van de [REDACTED] [REDACTED] onderzocht worden, door middel van een challenge experiment (subgroep B/C). Hieruit zal blijken of de inductie van hoge T-cel responsen voordelig is na [REDACTED]

Geef tot slot een beknopte samenvatting van het doel van het project en de concrete vraag die met de dierproef beantwoord moet worden (maximaal 5 regels). Deze samenvatting wordt opgenomen in het DEC advies en in de jaarlijkse reportage van de DEC aan de Inspectie.

Binnen het [REDACTED] project willen wij een innovatief influenza A vaccin ontwikkelen dat naast de klassieke vaccin-componenten ook een T cel component bevat. In de voorgaande studie is gebleken dat [REDACTED] de [REDACTED] significant verhogen [REDACTED]). In deze dierproef willen wij [REDACTED] om tot een optimale dosis te komen, en tevens te onderzoeken of dit concept vaccin in staat is om bescherming op te wekken tegen een influenza infectie.

Bijzonderheden t.b.v. de wetenschappelijke toetsingscommissie (WTC)

Bijzonderheden t.b.v. de dierexperimentencommissie (DEC)

UITVOERING

Geef een overzicht van de experimentele handelingen ten behoeve van de uitvoering van de dierproef door biotechnici.

Deel 1: Titratie

Groep	# muizen	Diemrs.	Vaccinatie
1	6	1-6	██████████
2	6	7-12	██████████
3	6	13-18	██████████
4	6	19-24	██████████
5	6	25-30	██████████
6	6	31-36	██████████
7	6	37-42	██████████
Totaal	42		

Experimentele procedure:

Dag 0: Alle dieren worden individueel gemarkeerd. Alle muizen worden s.c. gevaccineerd met 100 μ l (0.1 ml) van bovenstaande vaccin formulaties in de rechterflank.

Dag 21: Van alle muizen wordt onder complete anesthesie met O₂ en isofluraan bloed afgenomen door middel van een orbitapunctie, bloed wordt opgevangen in een stolbuis (100-150 μ l). Tevens worden de dieren nogmaals s.c. gevaccineerd met 100 μ l (0.1 ml) boostervaccin in de linkerflank.

Dag 35:

De dieren worden opgeofferd onder isofluraan anesthesie door middel van verbloeding. Het bloed wordt opgevangen in stolbuizen. De milt en de inguinale lymfeknopen worden van elke muis geïsoleerd, opgenomen in medium en bewaard op ijs.

Deel 2: Mechanisme & challenge

Groep	Subgroep	# muizen	Diemrs.	Vaccinatie
8	A	6	43-48	██████████
	B	6	49-54	██████████
	C	8	55-62	██████████
9	A	6	63-68	██████████
	B	6	69-74	██████████
	C	8	75-82	██████████
10	A	6	83-88	██████████
11	A	6	89-94	██████████
	B	6	95-100	██████████
	C	8	101-109	██████████
12	A	6	109-114	██████████
13	A	6	115-120	██████████
14	A	6	121-126	██████████
	B	6	127-132	██████████
	C	8	133-140	██████████
15	B	6	141-146	██████████
	C	8	147-154	██████████

16	B	6	155-160	██████████
	C	8	161-168	
Totaal		126		

Experimentele procedure:

Dag 0 (A, B, C): Alle dieren worden individueel gemarkeerd. Alle muizen worden s.c. gevaccineerd met 100 µl (0.1 ml) van bovenstaande vaccin formulaties in de rechterflank.

Dag 21 (A, B, C): Van alle muizen wordt onder complete anesthesie met O₂ en isofluraan bloed afgenomen door middel van een orbitapunctie, bloed wordt opgevangen in een stolbuis (100-150 µl). Tevens worden de dieren nogmaals s.c. gevaccineerd met 100 µl (0.1 ml) boostervaccin in de linkerflank.

Dag 35 (A):

De dieren worden opgeofferd onder isofluraan anesthesie door middel van verbloeding. Het bloed wordt opgevangen in stolbuizen. De milt en de inguinale lymfeknopen worden van elke muis geïsoleerd, opgenomen in medium en bewaard op ijs.

Dag 35 (B, C):

De dieren worden intranasaal gechallenged met 50 µl ██████████ ██████████ onder anesthesie met O₂ en isofluraan.

Vanaf dit moment (dag 35) worden alle muizen van subgroep B dagelijks gewogen en 2x per dag gescored ('s ochtends en 's middags) op klinische kenmerken en deze gegevens worden op standaard scoringslijsten vastgelegd.

Muizen met score 3 worden extra goed in de gaten gehouden. Het humane eindpunt van de proef voor een muis is score 4 d.w.z. opstaande vacht, inactief dier, meer dan 20% gewichtsverlies, voelt koud aan. Gelieve voordat overgegaan wordt tot euthanasie contact op te nemen met de verantwoordelijk onderzoeker ██████████. Indien geen contact mogelijk blijkt, mag de verzorger bij bovengenoemde symptomen tot euthanasie van het dier besluiten.

Zieke dieren worden verbloed onder algehele anesthesie. Bloed wordt opgevangen in stolbuis.

Ziektescore:

Score	Ziekteverschijnselen
0	Geen aanwijzingen voor ziekte
1	Opstaande vacht
2	Opstaande vacht, inactief dier
3	Opstaande vacht, inactief dier, gewichtsverlies
4	Opstaande vacht, inactief dier, meer dan 20% gewichtsverlies, voelt koud aan
5	Dood

Dag 40 (B):

De dieren van de subgroep B worden opgeofferd onder isofluraan anesthesie door middel van verbloeding. Het bloed wordt opgevangen in stolbuizen. De milt wordt geïsoleerd, opgenomen in medium en bewaard op ijs. De longen worden geïsoleerd, waarvan de linker long wordt opgespoten met formaline en opgevangen in formaline, en de rechter long op ijs.

Dag 49 (C):

De dieren van subgroep C worden opgeofferd onder isofluraan anesthesie door middel van verbloeding. Het bloed wordt opgevangen in stolbuizen.

Activiteiten per dag (deel 2)

Dag	Handeling, dieraantal
0	Immunisatie A, B, C (126 dieren)
21	Immunisatie A, B, C - bloed (126 dieren)
35	Opoffering A - milt, LNs, bloed (42 dieren), challenge B, C (84)
40	Opoffering B - milt, longen, bloed (36 dieren)
49	Opoffering C - bloed (48 dieren)

WTC (Wetenschappelijke Toetsing Commissie)

Discussie wetenschappelijke toetsing:

DIEREN

Diersoort: muis-genetisch gemodificeerd

Stam	HLA-A2/B6			
Genotype	+/-			
GGO vergunning nummer	██████████			
Inperkings niveau volgens regelingen besluit GGO	D-I			
Verantwoordelijk Medewerker GGO vergunning	██████████			
Geslacht	Vrouwelijk			
Aantal	168			
Fokoverschot	anders, nl			
nl. (aantal dieren)	378			
Leeftijdswaarde (weken)	6-10 weken			
Gewichtswaarde (grammen)				
Microb. status	spf			
Herkomst	██████████			
Locatie	███			
Kooitype	filtertop, macrolon II			

Geslacht

Wanneer u voor één geslacht kiest, graag motiveren waarom voor dit geslacht is gekozen?

Meerdere mannelijke muizen in een kooi resulteert meestal in vechten wat verwondingen bij de dieren kan opleveren. Vrouwelijke muizen kunnen met meerdere in een kooi, wat praktisch beter uitvoerbaar is.

Genetisch gemodificeerde dieren:

Indien

(a) gewerkt wordt met een in Nederland vervaardigde genetisch gemodificeerde stam en

(b) deze stam voor de eerste maal op het intravacc voor onderzoek gebruikt wordt, dan wordt u verzocht het volgende aan te geven:

1. De plaats van herkomst van de genetisch gemodificeerde stam.

2. Hebben de genetisch gemodificeerde dieren afwijkingen die het welzijn van de dieren aantasten? Zo ja, welke afwijkingen?

Daarnaast dient u kopieën van relevante aspecten uit het welzijnsdagboek of de betreffende database naar de art 14 functionaris van het Intravacc toe te zenden.

Speciale wensen t.a.v. de proefdieren:

MKB (Microbiologisch kwaliteitsbeheer)**Herkomst:**

Zijn de dieren herkomstig uit een ander dierproef?: Nee

Verplaatsing:

Worden de dieren tijdens de dierproef verplaatst naar een andere locatie?: Nee

Micro-organismen:

Worden in het kader van de dierproef micro-organismen ingebracht?: Ja

Volledige naam micro-organisme?: Influenza A ██████████

Levend of gedood micro-organisme?: Levend

Klasse biologische agentia volgens ARBO besluit 2005: Klasse 2

Is er sprake van een Genetisch Gemodificeerd Micro-Organisme ? : Nee

Biologisch materiaal:

Wordt er in het kader van de dierproef biologisch materiaal ingebracht?: Nee

Bijzonderheden t.b.v.MKB:**AGENTIA**

Stofnaam	Chemisch/Biologisch materiaal?	Klassificatie
██████████	██████████	██████████
Influenza ██████████	██████████	██████████

1. Welke maatregelen zijn er te nemen ter bescherming persoon en omgeving?

De challenge met influenza dient in een Biosafety cabinet uitgevoerd te worden.

2. Vindt er uitscheiding plaats via urine, faeces, longen, bloed of haar? Ja

Zo ja, via wat en hoelang?(dagen) Virus wordt gedurende vijf tot zeven dagen via de longen uitgescheiden.

3. Welke maatregelen moeten er genomen worden bij besmetting huid, ogen of prikaccident?

Medewerkers moeten gevaccineerd zijn met de griepvaccinatie. Bij een mogelijke blootstelling (besmetting huid, oog of prikincident), direct contact opnemen met de bedrijfsarts en het incident melden bij hoofd ARC en de BVF.

4. Welke maatregelen moeten er genomen worden bij morsen op kleding, vloer, tafel, etc. ?

Desinfecteren met 70% alcohol en vervolgens autoclaveren indien mogelijk.

5. Hoe moet de stof zelf, gecontamineerde bedding en kadavers afgevoerd worden?

Autoclaveren en afvoeren.

WELZIJN**Beschrijf en kwantificeer de aard van het ongerief**

Wanneer men het ongerief niet goed kan inschatten, raadpleeg de proefdierdeskundige

Ongerief per (bio)technische handeling incl. de gevolgen daar van				
Handeling	Aard van het ongerief	Mate ongerief	Duur ongerief	Kans ongerief
Vaccinatie	Injectie	Gering	< 1 min.	100%
Orbitapunctie	Bloedafname	Gering/matig	<2 min.	100%
Intranasale challenge met influenza XXXXXXXXXX	Infectie kan leiden tot verminderd eten/drinken en ernstig gewichtsverlies.	Groep 8, 9, 11, 14, 15 & 16 (subgroep B): matig/ernstig	< 10 dagen	100%
Wegen	Oppakken proefdier	Groep 8, 9, 11, 14, 15 & 16 (subgroep B): Gering	<2 min.	100%
		Gering/matig		
Euthanasie	Verbloeden		<5 min.	100%

Ongerief door andere omstandigheden dan strikt de experimentele handelingen				
Omstandigheid	Aard van het ongerief	Mate ongerief	Duur ongerief	Kans ongerief

Gecumuleerd risico op ongerief voor het hele experiment / per experimentele groep	
Groep 1 t/m 7, 8 t/m 15 (subgroep A)	Gering/matig
Groep 8 t/m 15 (subgroep B)	Matig/ernstig

Anesthesie:

Worden de dieren tijdens de dierproef onder anesthesie gebracht?

Ja

Geef een specificatie van de anesthesie die wordt gebruikt per dierexperimentele handeling.

	Anesthesie keuze		Handeling(en)
1	isofluraan in O2	voor	orbitapunctie, vaccinatie, verbloeding
2		voor	
3		voor	
4		voor	
5		voor	

Analgesie:

Zullen dieren als gevolg van de dierproef pijn ondervinden?: Ja

Gebruikt u een analgeticum?: Nee

U geeft aan dat de dieren als gevolg van de dierproef pijn zullen ondervinden, maar u wenst geen gebruik te maken van een analgeticum.

Motiveer uw keuze.

Onverenigbaar met proef. Met het gedrag van de dieren wordt namelijk o.a. de ziektescore, en op grond daarvan, het humane eindpunt bepaald. Bij toediening van pijnbestrijding kunnen de dieren zieker zijn dan op basis van hun gedrag wordt uitgelezen.

Kooiverrijking:

Kooiverrijking wordt standaard toegepast! Is er bezwaar tegen toepassing van kooiverrijking?Nee

Individuele huisvesting:

Moeten de dieren individueel gehuisvest worden? Nee

Klinische Effecten:

Verwachte klinische effecten (gedetailleerd beschrijven a.u.b.):

Muizen die geïnfecteerd zijn met hoog infectief influenza zullen binnen 48-96 uur verminderde activiteit vertonen, minder gaan eten en drinken, zullen niet meer aankomen of zelfs gewicht gaan verliezen. Ook zullen ze de rug optrekken en juist bij elkaar gaan kruipen of zich afzonderen met een verhoogde ademhalingsfrequentie en opstaande vacht. Muizen vertonen juist een verlaging van de lichaamstemperatuur i.p.v. koorts en krijgen geen neusuitvloeiing.

Muizen moeten 2x per dag gecontroleerd worden ('s ochtends en 's middags) en gescoord worden op ziektekenmerken.

0 = geen aanwijzingen voor ziekte

1 = opstaande vacht

2 = opstaande vacht, inactief dier

3 = opstaande vacht, inactief dier, gewichtsverlies

4 = opstaande vacht, inactief dier, meer dan 20% gewichtsverlies, voelt koud aan

5 = dood

In geval van meer dan matig ongerief, wat zijn de humane eindpunten?

Euthanasie:

Worden de dieren gedurende of aan het eind van de dierproef gedood? Ja

Geef een specificatie van de euthanasiemethode: Verbloeden

Gebeurt euthanasie onder anesthesie?: Ja

Geef een specificatie van de anesthesiemethode : isofluraan in O2

Bijzonderheden:

Bijzonderheden t.b.v. art. 14

3 V'S

Geef aan waarom deze vraag dient te worden beantwoord met behulp van een dierproef en een dierproef-vrije aanpak niet mogelijk is.

In deze proef worden de immunogeniciteit en effectiviteit van een nieuw influenza T-cel vaccin bestudeerd. Momenteel zijn er geen goede in vitro modellen om alle aspecten van de immuunrespons te bestuderen. Er is gekozen voor een muismodel omdat er met dit model naast fretten de meeste kennis is over influenza infecties en vaccinaties. In het ██████████ project worden ██████████ voor humaan HLA-A2. Aangezien het ██████████ alleen gebonden kan worden door humane HLA-A2 moleculen, zijn er HLA-A2 transgene muizen nodig in dit experiment. **Vindt er momenteel door u of door andere groepen onderzoek plaats naar mogelijkheden voor vervanging**

van proefdieren ter beantwoording van uw onderzoeksvraag?. (Voor zover dit elders gebeurt geef literatuurreferenties)

Welke maatregelen zijn genomen ter vermindering en verfijning van het proefdiergebruik?

Er is een poweranalyse uitgevoerd om de grootte van de groepen te bepalen, waardoor er niet onnodig te veel of te weinig dieren worden gebruikt. Ter verfijning wordt er anestetica gebruikt tijdens de bloedafname, wat het ongerief van de dieren minimaliseert.

CODERING

Bijzonderheid dier:	2. Genetisch gemodificeerd dier
Herkomst en hergebruik dieren:	1. Gereg.fok/toelevering in Nederland
Doel van de proef:	1. Mens-ontw. sera vacc./biol.product.
Belang van de proef:	1. Gezondheid/Voed. Ja
Wettelijke bepalingen:	1. Geen wettelijke bepalingen
Toxicologisch onderzoek, incl. veiligheidsonderzoek:	1. Geen toxicologisch onderzoek
Bijzondere technieken:	1. Geen van deze technieken
Anesthesie:	4. Is wel toegepast
Pijnbestrijding, postoperatief of op ander tijdstip:	2. Is niet toegepast (onverenigbaar proef)
Mate van ongerief:	

Aantal Dieren:	Mate van ongerief:
84	4. Matig/ ernstig
84	2. Gering/ matig

Toestand dier na eind proef: 1. Dood in de proef/dood na de proef

BIJLAGEN

ADDENDUM

AUTORISATIE HISTORIE

(2-12-2013 16:04:32) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]

(12/3/2013 10:28:47 AM) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]

(4-12-2013 16:10:41) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]

(12/16/2013 9:43:08 AM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]

(23-12-2013 13:49:36) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED]

(16-1-2014 9:15:40) Goedgekeurd door BVF functionaris [REDACTED]

(7-2-2014 16:42:48) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED] met de volgende opmerkingen.
Opmerkingen: Mail [REDACTED] 7-2-2014

AUTORISATIE**Verantwoordelijke Art 12 functionaris:**

[REDACTED]
(2-12-2013 16:04:32) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

Verantwoordelijke onderzoeker (Art. 9)

Naam: [REDACTED]
Vervanger: [REDACTED]
(12/3/2013 10:28:47 AM) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]
Geannuleerd op - 18-03-2014 door [REDACTED]

WTC Autorisatoren:**Opmerkingen:****Offerte Autorisatoren:**

[REDACTED]
(7-2-2014 16:42:48) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED]

Bestelnummer: Akkoord

Opmerkingen:

Mail [REDACTED] 7-2-2014

MKB Autorisatoren:

(4-12-2013 16:10:41) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

BVF Autorisatoren:

[REDACTED]
(16-1-2014 9:15:40) Goedgekeurd door BVF functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

Art. 14 Autorisatoren:

(12/16/2013 9:43:08 AM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

DEC Autorisatoren:

(23-12-2013 13:49:36) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

©Intravacc 2014 Alle rechten voorbehouden