

Proefopzet ██████████	Auteur: ██████████
Creatie: 15-02-2013	Laatste wijziging: 03-04-2013
Status proefopzet: Goedgekeurd	Status experiment: In experiment

ALGEMEEN**Project**

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

Dierproef

Titel dierproef: Isolatie van dendritische cellen uit surplus transgene muizen
Aard van de dierproef: 2-Onderdeel van een lopend project
Dierproef behoort tot het onderzoek van het: IntraVacc
Lab/Unit/Afd: Intravacc
Geplande inzetdatum: 31-03-2013

Diernummers: 1-220
Duur dierproef: n.v.t.
Doorlooptijd proefopzet meer dan 1 jaar
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.

Binnen [REDACTED] het consortium waarvoor dit experiment wordt uitgevoerd, willen wij een innovatief influenza A vaccin ontwikkelen door peptiden te includeren die T cellen activeren. Hiervoor gebruiken wij een (online) databank met griep-specifieke T cel epitopen om peptiden te selecteren (o.a. op immunodominantie en geconserveerdheid binnen diverse influenza A subtypes). Vervolgens worden deze geselecteerde peptiden in het Nederlands Kanker Instituut (NKI) gemodificeerd met een programma waarmee ze de binding van deze peptiden in het HLA-molecuul kunnen voorspellen en verbeteren. Daarnaast zijn deze peptiden door de modificaties minder gevoelig voor afbraak door enzymen, waardoor deze langer gepresenteerd kunnen worden aan T cellen. Na modificatie van de peptiden, worden in vitro experimenten uitgevoerd (op het NKI) om aan te tonen dat deze gemodificeerde peptiden inderdaad sterker binden aan het HLA-molecuul. Hieruit selecteren wij de meest optimale peptiden voor verdere in vivo screening. 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 - [REDACTED]). Er zijn dus nieuwe formuleringen (delivery systems en adjuvantia) nodig om het peptide effectief en veilig toe te dienen.

Op dit moment is er een HLA-A2 muismodel beschikbaar om specifieke T cel epitopen van dit molecuul te testen, voor andere HLA-allelen is er echter op dit moment geen muismodel beschikbaar. Binnen dit project wordt al gebruik gemaakt van humane DCs van HLA-A2 positieve donoren om een model op te zetten waarin we peptiden in vitro kunnen screenen voor andere HLA-allelen. Dit DC model kunnen we ook gebruiken als in vitro model om onze formuleringen op te screenen. Om de muizenproeven uiteindelijk te kunnen correleren aan de humane proeven is het belangrijk om ook een muizen DC model hiervoor op te zetten. Tevens zorgt dit er voor dat de prescreening van de formulaties in vitro gebeurd, waardoor we alleen de beste formuleringen in dieren testen.

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

Het ontwikkelen van peptide-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 de huidige vaccins.

Wat is het wetenschappelijk belang van het project?

Onderzoeken in hoe verre een T cel component kan bijdragen aan (kruis)bescherming.

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

Kunnen muizen DCs gebruikt worden als screeningsmethode voor nieuwe formuleringen? Kan er een correlatie worden gelegd tussen humane- en muizen DCs, en is dit voorspellend voor de effectiviteit van het vaccin in vivo?

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

Er zijn momenteel nog geen lopende in vitro modellen die DCs kunnen simuleren. Transgene HLA-A2 muizen moeten worden gebruikt, aangezien het peptide antigeen alleen via humaan HLA-A2 kan binden.

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.**

Momenteel worden transgene muizen gebruikt om de effectiviteit van de nieuwe vaccin formuleringen te testen. Aangezien er nog vele parameters zijn in de formulering die veranderd kunnen worden, is het niet realistisch om alles in muizen te testen. Daarom trachten wij met deze proef een muizen DC model (al eerder opgezet met [REDACTED]) te correleren aan de in vivo resultaten, en parallel te correleren aan humane DC modellen.

Hierdoor kunnen wij waarschijnlijk meer formuleringen screenen zonder direct een in vivo studie uit te voeren

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.

Surplus muizen (~200) uit de HLA/A2 BL6 fok zullen worden opgeofferd, waarna het beenmerg geïsoleerd zal worden voor bmDC isolatie; het bloed wordt opgevangen voor PBMC isolatie. Milten worden geïsoleerd voor PBMC/T-cel isolatie.

Een aantal muizen (20) worden eerst gechallenged met een sublethale dosis influenza [REDACTED] [REDACTED]. Minimaal 14 dagen na infectie zullen de muizen opgeofferd worden en zal hun beenmerg geïsoleerd worden voor bmDC isolatie; het bloed wordt opgevangen voor PBMC isolatie. Tevens zullen milten, LK en longen geïsoleerd worden voor PBMC/T cel-isolatie.

Geef aan hoe de resultaten statistisch worden geanalyseerd.

N.v.t.; de geïsoleerde materialen worden voor andere in vitro studies gebruikt

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

Een aantal muizen worden eerst geïnfecteerd met een sublethale dosis influenza virus. Dit is om de humane situatie realistisch na te bootsen; het overgrote deel van de bevolking heeft influenza gehad en hun immuuncellen (en dus ook de humane DCs) zijn niet naïef ten opzichte van influenza. Om het muizen DC model zo gelijk mogelijk te houden aan het humane DC model moet het immuunsysteem van de muizen eerst influenza "gezien" hebben. Om verschil te kunnen zien tussen "naïve" muizen en gechallengde muizen willen we ook een aantal muizen offeren die niet eerst gechallenged zijn.

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.

Aangezien de DCs worden geïsoleerd en opgekweekt voor verdere studies, worden er geen randomisatie maatregelen genomen.

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.

Er worden geen nevenfactoren verwacht die de DCs kunnen beïnvloeden.

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

Met de gechallengde muizen willen wij ongeveer 12 experimenten uitvoeren om data van muizen en humane DCs te kunnen vergelijken. Hiervoor zijn ongeveer 20 muizen nodig. Voor het testen van formuleringen verwachten wij ongeveer 200 muizen nodig te hebben.

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.

Wij hopen aan te tonen dat het muizen DC model te correleren is aan de humane in vitro en de muizen in vivo situatie. De geïsoleerde DCs zullen worden geïncubeerd met verschillende formuleringen en controleformuleringen om een correlatie aan te kunnen tonen.

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. Deze T cel component, een influenza-specifieke T cel epitoot, is zodanig gemodificeerd dat de binding versterkt is en de afbraak van het peptide verminderd. Tevens moet er een geschikte formulering gevonden worden voor het peptide vaccin. Met de huidige proef willen we muizen dendritische cellen isoleren om een in vitro model op te zetten, waarmee we peptiden en formuleringen kunnen screenen. Tevens moet het model gecorreleerd worden aan het humane DC model, en aan de in vivo muizenstudies.

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.

Naive muizen (200 dieren)

Voor naive muizen (n=200 totaal) geldt voor de opoffering: Onder O2 + isofluraan anesthesie worden de muizen verbloed. De femur en tibia worden zonder huid geïsoleerd voor beenmerg. De milt wordt opgevangen in medium op ijs. Bloed wordt opgevangen in een EDTA buis voor PBMC isolatie.

Beenmerg wordt verder verwerkt om BMDCs te isoleren. Bloed wordt afgedraaid om PBMCs te verkrijgen; milt wordt verwerkt voor PBMCs.

Challenge muizen (20 dieren) - N.B. Dieren in kooi met filtertop!

Voor muizen die gechallengeed moeten worden (n=20 totaal) geldt het volgende:

Dag 0 (in overeenstemming met biotechnici): Onder O2 + isofluraan anesthesie worden de muizen intranasaal gechallengeed (in een BioSafety kabinet) met 50 µl ██████████ influenza ██████████. Na challenge dienen de muizen onder filtertop gehuisvest te worden, aangezien het virus nog 5-7 dagen na challenge door de longen uitgescheiden wordt.

Vanaf dag 14 (in overeenstemming met biotechnici): Onder O2 + isofluraan anesthesie worden de muizen verbloed. De femur en tibia worden zonder huid geïsoleerd voor beenmerg. Milt, bronchiale (=mediastinale) lymfeknopen en longen worden in medium opgevangen en op ijs gezet.

Beenmerg wordt verder verwerkt om BMDCs te isoleren. Milt wordt verwerkt voor PBMCs.

Muizen zullen na de challenge niet gewogen worden, aangezien er in eerdere proeven waarin een challenge is meegenomen meermaals is aangetoond dat zelfs met een 10x hogere dosis van hetzelfde virus de muizen niet meer dan 20% gewicht verliezen. Mochten er toch onverwachte verschijnselen zijn in de eerste paar dagen na challenge, neem dan contact op met ██████████

Tijdslijn (naive muizen; 20 dieren)

Handeling	Dag 0
Opoffering	X
Orgaan/bloed collectie	X

Tijdslijn (challenge muizen; 20 dieren)

Handeling	Dag 0	>Dag 14
Intranasale challenge	X	
Opoffering		X
Orgaan collectie		X

WTC (Wetenschappelijke Toetsing Commissie)

Discussie wetenschappelijke toetsing:

DIEREN

Diersoort: muis-genetisch gemodificeerd

Stam	HLA-AZ/B6	HLA-AZ/B6		
Genotype	+/-	+/-		
GGO vergunning nummer	██████████	██████████		
Inperkings niveau volgens regelingen besluit GGO	D-I	D-I		
Verantwoordelijk Medewerker GGO vergunning	██████████	██████████		
Geslacht	Geen voorkeur	Geen voorkeur		
Aantal	200	20		
Fokoverschot	n.v.t.	n.v.t.		
nl. (aantal dieren)				
Leeftijdswaarde (weken)	> 6 weken	> 6 weken		
Gewichtswaarde (grammen)				
Microb. status	spf	spf		
Herkomst	██████████	██████████		
Locatie	███	███		
Kooitype	macrolon II	filtertop, macrolon II		

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 ██████████

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 ██████████	Biologisch	risico klasse 2

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

De challenge met influenza dient in een BioSafety kabinet te worden ingezet

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

Zo ja, via wat en hoelang?(dagen) Virus wordt gedurende 5-7 via de longen uitgescheiden.

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

Bij blootstelling oog uitspoelen en bij prikaccident desinfecteren en bij beiden bedrijfsarts waarschuwen. Werken met handschoenen en besmette huid wassen. Medewerkers moeten zijn gevaccineerd met de grieprik.

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

Desinfecteren met 70% ethanol en vervolgens autoclaveren waar 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
Groep 2: Challenge met influenza [REDACTED] [REDACTED] virus	Infectie kan leiden tot verminderd eten/drinken en matig gewichtsverlies.	Gering/matig	tot 7 dagen	100%
Groep 1 + 2: Euthanasie	Verbloeden onder alg. anesthesie	Gering	< 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 (~200 dieren)	Gering
Groep 2 (~20 dieren)	Matig

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	intranasale toediening virus
2	isofluraan in O2	voor	Orbitapunctie
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.

Pijn ten gevolge van de influenza infectie zal zeer gering zijn, aangezien het een sublethale dosis betreft. Er is dus geen aanleiding om een analgeticum te gebruiken.

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.):

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: Cervicale dislocatie + 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.

Er zijn momenteel nog geen lopende in vitro modellen die DCs kunnen simuleren. Transgene HLA-A2 muizen moeten worden gebruikt, aangezien het peptide antigeen alleen via humaan HLA-A2 kan binden.

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?

Deze proefopzet is ter vermindering van het proefdiergebruik van heel het ██████████ project. Door het gebruik van een DC muismodel hopen we een in vitro vervanging te ontwikkelen voor in vivo proeven, waardoor een deel van de experimenten in de toekomst niet meer in dieren hoeft plaats te vinden.

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:	1. Is niet toegepast (geen aanleiding)
Mate van ongerief:	

Aantal Dieren:	Mate van ongerief:
200	1. Gering
20	3. Matig

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

BIJLAGEN

ADDENDUM

AUTORISATIE HISTORIE

(3-4-2013 14:47:17) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]

(4/3/2013 2:48:11 PM) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]

(5-4-2013 7:46:29) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]

(5-4-2013 8:53:45) Goedgekeurd door BVF functionaris [REDACTED]

(4/22/2013 1:37:26 PM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]

(15-5-2013 15:31:44) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED] met de volgende voorwaarden.

Voorwaarden: De DEC besluit een positief advies met de volgende voorwaarden te formuleren ten aanzien van de uitvoering van dit experiment

- De DEC geeft direct een positief advies voor de uitvoering van de pilot (N=45 dieren).
- De onderzoekers dienen tijdens de komende plenaire vergadering het resterend aantal benodigde dieren te onderbouwen en in een andere plenaire vergadering de resultaten van de pilot toe te lichten.
- De onderbouwing middel van het resterend aantal dieren dient middels een addendum aan de proefopzet te worden toegevoegd.

(8-8-2013 13:45:32) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED]

AUTORISATIE**Verantwoordelijke Art 12 functionaris:**

[REDACTED]
(3-4-2013 14:47:17) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:**Verantwoordelijke onderzoeker (Art. 9)**

Naam: [REDACTED]

Vervanger: [REDACTED]

(4/3/2013 2:48:11 PM) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]

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

[REDACTED]
(8-8-2013 13:45:32) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED]

Bestelnummer: Akkoord

Opmerkingen:**MKB Autorisatoren:**

(5-4-2013 7:46:29) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:**BVF Autorisatoren:**

[REDACTED]; [REDACTED]
(5-4-2013 8:53:45) Goedgekeurd door BVF functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:

Art. 14 Autorisatoren:

(4/22/2013 1:37:26 PM) Goedgekeurd door A14 functionaris ██████████

Opmerkingen:

DEC Autorisatoren:

(15-5-2013 15:31:44) Positief advies gegeven door DEC functionaris ██████████

Opmerkingen:

Tijdens de schriftelijke beoordeling van 17 april 2013 hebben de leden van de DEC de volgende vragen/opmerkingen geformuleerd:

1. De DEC mist de onderbouwing voor het aantal benodigde dieren, m.n. de onderbouwing van het aantal dieren benodigd voor het testen van formuleringen (n=200). De DEC verzoekt de onderzoekers het benodigd aantal dieren duidelijker te motiveren.
2. De DEC vraagt zich af of dit onderzoek daadwerkelijk zal leiden tot vermindering van het aantal (surplus)dieren uit de fok van deze lijn, dat ongebruikt wordt afgevoerd. Wat is de reden dat de onderzoekers dit verwachten?

De onderzoekers hebben op 1 mei 2013 als volgt geantwoord:

Ad 1. Het hoge aantal dieren is een ruwe schatting voor wat er in de komende maanden nodig is voor screeningsdoeleinden. Het is wellicht toepasselijk om voor de eerste maanden een dieraantal op te geven (voor de doorontwikkeling van het DC model), en vervolgens na de ontwikkeling alsnog een groter dieraantal voor screeningsdoeleinden op te geven.

Naar schatting kunnen we genoeg dendritische cellen uit een muis isoleren om 3 formuleringen te testen (ongeveer 6 miljoen cellen per muis, en volgens literatuur hebben we 2 miljoen cellen per formulering nodig). Voor de eerste pilot screening hebben we 12 vaccin formuleringen die getest moeten worden; als deze in triplo uitgevoerd moeten worden met controlegroepen er bij komen we op ongeveer 50 testen. Hiervoor zouden we 17 muizen nodig hebben. Aangezien het model nog niet loopt stellen we voor om ook nog extra muizen in te calculeren indien er onvoorziene problemen zijn; in totaal schatten we dan 25 muizen nodig te hebben voor de eerste pilot experimenten.

Indien de pilot voorspoedig verloopt en we het DC model op grote schaal willen invoeren voor screening stellen we voor om door middel van een addendum ter zijne tijd het aantal dieren voor DC isolatie omhoog bij te stellen, zodat het onderzoek vlot door kan lopen in plaats van een nieuwe DEC aanvraag.

In totaal hebben we dus voorlopig 20 (challenge muizen) + 25 (naive muizen, formulatiescreening) = 45 dieren nodig.

Ad 2. Door de dendritische cellen van de HLA-A2 surplus muizen te isoleren hopen wij een *in vitro* model op te kunnen zetten waarmee we vaccin formulaties kunnen screenen op immunologische parameters. Dit DC model zou dan uitermate geschikt zijn om op een snelle manier meerdere vaccin formulaties te testen zonder een uitgebreide immunisatiestudie in muizen. Het is het streven om vervolgens alleen de vaccins die het meest geschikt lijken te zijn in het DC model daadwerkelijk te testen in de muizen zelf. Hierdoor zal de totale hoeveelheid muizen dat geïmmuniseerd wordt kleiner worden, terwijl een grotere groep vaccin formulaties gescreend wordt.

De antwoorden van de onderzoekers zijn op 8 mei 2013 tijdens de plenaire vergadering besproken. De DEC acht de onderbouwing van de dieren benodigd voor de pilot (45), goed onderbouwd, maar mist een goede onderbouwing voor het overig benodigd aantal dieren.

De DEC besluit een positief advies met de volgende voorwaarden te formuleren ten aanzien van de uitvoering van dit experiment:

- De DEC geeft direct een positief advies voor de uitvoering van de pilot (N=45 dieren).
- De onderzoekers dienen tijdens de komende plenaire vergadering het resterend aantal benodigde dieren te onderbouwen en in een andere plenaire vergadering de resultaten van de pilot toe te lichten.
- De onderbouwing middel van het resterend aantal dieren dient middels een addendum aan de proefopzet te worden toegevoegd.

Op 15 mei 2013 heeft het secretariaat van de DEC het volgende antwoord geformuleerd: Onder de voorwaarde dat de eventuele wijzigingen van het experiment middels een addendum aan de commissie kenbaar gemaakt worden, concludeert de DEC dat er geen zwaarwegende bezwaren bestaan tegen het afgeven van een positief advies voor de uitvoering van het onderhavige experiment.

