

Proefopzet	[REDACTED]	Auteur:	[REDACTED]
Creatie:	04-03-2013	Laatste wijziging:	27-05-2013
Status proefopzet:	Goedgekeurd	Status experiment:	Afgesloten

ALGEMEEN**Project**

Projectnummer: [REDACTED]
Project titel: RSV
Projectleider(s): [REDACTED]
Startdatum project: 01-01-2013

Dierproef

Titel dierproef: voorbereiding op pre klinisch RSV; dose response immunisatie met prototype [REDACTED] RSV vaccin in katoenratten
Aard van de dierproef: 2-Onderdeel van een lopend project.
Dierproef behoort tot het onderzoek van het: IntraVacc
Lab/Unit/Afd: Intravacc
Geplande inzetdatum: 05-08-2013

Diernummers: 1-72
Duur dierproef: 33 dagen
Doorlooptijd proefopzet: 1 jaar of minder
Art. 9
Art. 9 Vervanger: [REDACTED]
Art. 12: [REDACTED]
Medewerkers: [REDACTED]
Tijdschrijven op: [REDACTED]

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

Op basis van de notities: "Naar een Vaccinatieprogramma voor Nederland in de 21ste eeuw" en de "Vaccinonderzoeksnota", waarin de hoge door RSV veroorzaakte ziektelast bij baby's wordt beschreven, is het [REDACTED] in 2000 gestart met de ontwikkeling van een vaccin tegen RSV. Inmiddels is ook in het RIVM rapport 210021002/2005, "The national immunisation programme in the Netherlands" aanbevolen een vaccin tegen RSV, zodra beschikbaar, op te nemen in het RVP. Onderzoek naar de ontwikkeling van een vaccin tegen RSV was ingebed binnen de afdeling Vaccin Onderzoek, unit Onderzoek en Ontwikkeling (sinds 1 januari 2011 ondergebracht bij [REDACTED]) maar wordt sinds 1 januari 2013 voortgezet bij [REDACTED] van Intravacc.

RSV is de meest voorkomende ziekteverwekker bij jonge kinderen die in een ziekenhuis opgenomen worden met een acute luchtweginfectie. Wereldwijd is het de meest voorkomende verwekker van pneumonie bij (m.n. jonge) kinderen. Dit heeft geleid tot het besluit ([REDACTED]) om een geschikt vaccin tegen humaan-RSV te ontwikkelen. Recent is geschat dat onder de 0-1 jarigen in Nederland gemiddeld per jaar 28.738 huisartsbezoeken, 1623 ziekenhuisopnamen en 4,5 sterfgevallen optreden vanwege RSV. Naast de directe ziektelast is ziekenhuisopname door RSV-infectie ook geassocieerd met latere problemen met de luchtwegen en wellicht ook met het ontwikkelen van astma en andere luchtwegallergie. Daarnaast is er aanzienlijk arbeidsverzuim van ouders/verzorgers. Recent is duidelijk geworden dat RSV ook een belangrijke ziekte- en doodsoorzaak vormt bij volwassenen met gezondheidsrisico's en bij ouderen. Er zijn nog geen harde data in Nederland, maar de ziektelast onder de 65+ bevolking wordt geschat op 1200 ziekenhuisopnames en 550 sterfgevallen gemiddeld per jaar. Afhankelijk van de effectiviteit kan een RSV vaccin een aanzienlijk deel van genoemde ziekenhuisopnamen en sterfte voorkomen bij kinderen en ouderen.

In het oorspronkelijke projectplan, opgesteld in samenwerking met toenmalig partner Nobilon BV, is de RSV vaccinontwikkeling verdeeld in vier fasen:

- I. Haalbaarheidsfase: in deze fase wordt vastgesteld of het mogelijk is de componenten voor de productie van een veilig en effectief RSV-vaccin te produceren.
- II. Pre-klinische fase: in deze fase worden de biologische, toxicologische en immunologische eigenschappen van het kandidaatvaccin vastgesteld in een diemodel. Het vaccin wordt eerst als prototype op pilot-schaal geproduceerd en vervolgens vanuit seed-lots onder GMP. Tevens wordt in deze fase bepaald welke opslagcondities mogelijk zijn ten aanzien van de gewenste vaccinformulering.
- III. Klinische fase: omvat alle activiteiten m.b.t. klinische trials.
- IV. Markt introductie fase: alle activiteiten om het vaccin op de markt te krijgen, incl. registratie en eventuele postmarketing surveillance.

De haalbaarheidsfase wordt sinds 2000 uitgevoerd binnen het [REDACTED] project [REDACTED] dat in 2011 en 2012 bij [REDACTED] is voortgezet.

De (voorbereiding op de) pre-klinische fase wordt onder hetzelfde project [REDACTED] vanaf 2013 uitgevoerd bij Intravacc.

Binnen dit project staan twee vragen centraal:

a) kan beschermende immuniteit middels vaccinatie worden opgewekt (ook in de aanwezigheid van maternale antistoffen)

b) wat is de rol van de immuunrespons na infectie en vaccinatie in de pathogenese.

Voor het beantwoorden van deze vragen is een infectiemodel in proefdieren noodzakelijk. Binnen de ontwikkeling van een diemodel wordt gestreefd naar een uitleessysteem dat zo goed mogelijk bij de humane situatie aansluit in het bijzonder wat betreft infectieroute en pathogenese. Op grond van literatuuronderzoek is gekozen voor het infectiemodel in de katoenrat. Voor dit diemodel zijn experimentele infecties en therapieën beschreven, waarbij zowel RSV-replicatie als antistofontwikkeling optreden. De longen van de katoenrat vertonen na een FI-RSV immunisatie en [REDACTED] RSV challenge een vergelijkbaar pathologisch beeld met dat van de mens (exp. [REDACTED] en [REDACTED]). Intranasale toediening van humaan RSV in [REDACTED] ul leidt bij dit proefdier tot infectie van zowel bovenste als onderste luchtwegen en het virus is ook terug te kweken uit de long. Uit eerdere experimenten blijkt dat na toediening van virussuspensie in klein volume [REDACTED] ul de lagere luchtwegen niet worden bereikt en het virus blijft "hangen" in de hogere luchtwegen (neusholte), het is de bedoeling hiermee de gewenste situatie in de mens (intra nasale spray) na te bootsen. In experiment [REDACTED] is de in vivo replicatie vergeleken tussen lab stam RSV-[REDACTED], wild type RSV-[REDACTED], recombinant (V23) rRSV-[REDACTED] en [REDACTED]-rRSV-[REDACTED]. Hier werden na toediening van [REDACTED] ul intra nasaal tijdens de piek van de infectie op dag 5 na toediening, geen verschillen gevonden tussen de [REDACTED] RSV-[REDACTED] en [REDACTED] RSV-[REDACTED] (max. [REDACTED] gram long, overeenkomend met literatuurgegevens), de recombinant RSV-[REDACTED] (V23) was 2-log geattenuëerd (max. [REDACTED] /gram long) en de [REDACTED]-rRSV-[REDACTED] (V24) hebben we met de beschikbare technieken niet terug kunnen kweken ([REDACTED] /gram long), ook niet op dag 3 of dag 7. De infectie zelf lijkt in dit model gering ongerief op te leveren (exp. [REDACTED]). Voor inductie van bescherming tegen challenge virus replicatie in de long is

het van belang dat het virus infectieus is; in experiment [REDACTED] is aangetoond dat bescherming tegen challenge virus replicatie niet geïnduceerd kan worden met BPL geïnactiveerd vaccin virus, dit geldt ook voor [REDACTED]-rRSV- (V24). In [REDACTED] (i.n.) en [REDACTED] (i.n.) is gevonden dat dieren beschermd zijn tegen challenge virus replicatie in de long na eenmalige intranasale immunizatie met [REDACTED]-rRSV- (V23) of [REDACTED]-rRSV- (V24). Waarbij in een eerder experiment [REDACTED] is aangetoond dat voor bescherming minimaal [REDACTED]-RSV (V23) of [REDACTED]-RSV (V24) nodig is. Vervolgens hebben we het kandidaat virus vaccin [REDACTED] geconstrueerd. Dit is het [REDACTED]-rRSV (V24).

[REDACTED] virus is gemaakt door het [REDACTED]-rRSV-

Resultaat is een virus dat er [REDACTED]

In proef [REDACTED] is bescherming geïnduceerd door het [REDACTED] vergeleken met [REDACTED]-rRSV (V24). Het [REDACTED] vaccin geeft bij dezelfde dosis een vergelijkbare tot betere bescherming tegen challenge virus replicatie in de long dan het [REDACTED]-rRSV-X(V24). Deze resultaten hebben geleid tot een keuze voor het [REDACTED] als prototype vaccin.

Deze dosis response in deze dierstudie zal worden uitgevoerd met gezuiverde virussen die volgens het [REDACTED] proces zijn vervaardigd en geformuleerd en ter controle worden vergeleken met vaste doseringen van representatieve preparaten uit eerdere studies.

De mock controle zal met dezelfde formulering worden behandeld echter zonder virus.

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

Is het mogelijk een vaccin te ontwikkelen tegen respiratoir syncytieel virus (RSV), geschikt voor toepassing bij jonge kinderen (neonaten) en op te nemen in het RVP.

Wat is het maatschappelijk belang van het project?

RSV is de meest voorkomende ziekteverwekker bij jonge kinderen die in een ziekenhuis opgenomen worden met een acute luchtweginfectie. Afhankelijk van de effectiviteit kan een RSV vaccin een aanzienlijk deel van genoemde ziekenhuisopnamen en sterfte voorkomen. Binnen de WHO wordt de ontwikkeling van een vaccin tegen RSV gezien als een speerpunt i.v.m wereldwijde ziektelast.

Wat is het wetenschappelijk belang van het project?

Onderzoeken of het atteneren van RSV, [REDACTED]

[REDACTED] een haalbare strategie is voor het ontwikkelen van een veilig levend geattenuerd virus vaccin voor intranasale toediening bij zeer jonge kinderen.

Dierproef

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

Wat is de optimale dosis prototype [REDACTED] RSV vaccin voor het induceren van bescherming tegen challenge virus replicatie en longpathologie en het opwekken van specifieke (neutraliserende) antistoffen in de katoenrat. Zijn er, bij gelijke dosis [REDACTED] verschillen tussen eerder gebruikte PEG pellet en het volgens [REDACTED] geproduceerde materialen.

Wat zijn de verschillen tussen de dosis response van [REDACTED] RSV t.o.v. [REDACTED] RSV met het volgens [REDACTED] geproduceerde materiaal.

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

Het is niet mogelijk om immunisatie en challenge virus replicatie (in long en neus) van intranasaal toegediend vaccin virus in vitro te bestuderen. Het katoenratmodel is gekozen op basis van onze ervaringen binnen dit project en literatuur onderzoek waar uit blijkt dat katoenratten gevoelig zijn voor humaan-RSV. Voorafgaand aan het mogen uitvoeren van klinische studies is pre klinisch onderzoek in een geschikt diermiddel verplicht. Deze dierproef is een voorbereiding op de pre klinische fase met materiaal dat op vergelijkbare wijze is geproduceerd en gezuiverd als dat voor het klinische traject zal gaan gebeuren.

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.

De doelstelling van het project is het ontwikkelen van een veilig vaccin dat bescherming biedt tegen RSV infectie van de lagere luchtwegen. Tijdens de haalbaarheidsfase is aangetoond dat dit mogelijk is met de voorloper van het prototype vaccin. In dit experiment zullen het prototype vaccin en de voorloper daarvan worden vergeleken met eerder geteste vaccinkandidaten die volgens een ander proces met een lagere zuiverheid en andere formulering zijn vervaardigd. Deze factoren hebben mogelijk invloed op de infectiviteit en de werkzaamheid. Daarom is naast de dose response voor [REDACTED] RSV zoals ook voorgeschreven in het pharmacology development

plan een vergelijking nodig met deze oude vaccin kandidaten.

Voor [REDACTED] RSV wordt (op basis van eerder resultaten verkregen met PEG pellet), geen bescherming verwacht bij $10^3/10^4$ [REDACTED] een afwezig tot gedeeltelijke bescherming bij [REDACTED]

[REDACTED] en volledige bescherming bij [REDACTED] Voor [REDACTED] RSV is bij een deel van de dieren bescherming gevonden bij [REDACTED] Het beeld is heterogeen bij [REDACTED] en [REDACTED]

[REDACTED] Deze heterogeniteit is mogelijk veroorzaakt door verschillen in stabiliteit van [REDACTED] RSV door productie proces en/of formulering. Deze vergelijking zal daarom gebeuren t.o.v. [REDACTED] RSV waarvan de stabiliteit over een lange termijn (18 maanden) is bewezen. Voor [REDACTED] RSV is deze heterogeniteit niet waargenomen maar kan de hogere zuiverheid en optimale formulering mogelijk leiden tot andere werkzaamheid

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.
Alle groepen ondergaan dezelfde behandeling zie tabellen bij experimental design.

MOCK

negatieve controle groep = geen bescherming tegen challenge virus replicatie, geen antistoffen, wel infectie pathologie na challenge

[REDACTED] RSV PEG pellet
controle groep om te vergelijken met eerder gebruikt [REDACTED] RSV

[REDACTED] RSV vaccin volgens [REDACTED] [REDACTED] proces
experimentele groepen dose response [REDACTED] RSV vaccin volgens [REDACTED] [REDACTED] proces

[REDACTED] RSV PEG pellet
controle groep om te vergelijken met eerder gebruikt [REDACTED] RSV PEG pellet .

[REDACTED] RSV vaccin gemaakt volgens [REDACTED] [REDACTED] proces
experimentele groepen dose response [REDACTED] RSV vaccin gemaakt volgens [REDACTED] [REDACTED] proces

[REDACTED] RSV
positieve controle groep = maximale bescherming tegen challenge virus replicatie en positieve controle op aanwezigheid van RSV specifieke antistoffen, geen infectie pathologie na challenge

Geef aan hoe de resultaten statistisch worden geanalyseerd.

Statistical analysis will be performed on the results of ELISA, VirusNeutralization-assay, virology and histopathology. The data will first be analyzed for normal distribution. When differences between groups will be analysed, the samples will be considered as unpaired. However when the difference before and after treatment within a group will be studied, the samples will be considered as paired. When the data are normally distributed an independent t-test or one way ANOVA will be used for the unpaired samples and a repeated measures ANOVA for the paired samples. When the data are not normally distributed a Mann–Whitney U or Kruskal–Wallis test will be used for the unpaired samples and a Wilcoxon T test for paired samples. All groups will be analysed against the control group for significant differences. The different treatment groups will also analysed against each other to study differences induced by using different vaccine doses.

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

Groep N=6	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Dag 0 bloedafname + Inmunisatie [REDACTED]		Dag 28 bloedafname + Challenge [REDACTED]	Dag 33 Sectie 24 dieren per serie
	Dier #	Dier #	Dier #	vaccin			
1	1+2	3+4	5+6	Neg. controle Mock	[REDACTED]	[REDACTED]	
2	7+8	9+10	11+12	[REDACTED] PEG pellet	[REDACTED]	[REDACTED]	
3	13+14	15+16	17+18	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	
4	19+20	21+22	23+24	gezuiverd	[REDACTED]	[REDACTED]	
5	25+26	27+28	29+30	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	
6	31+32	33+34	35+36	[REDACTED] proces	[REDACTED]	[REDACTED]	
7	37+38	39+40	41+42	[REDACTED] PEG pellet	[REDACTED]	[REDACTED]	
8	43+44	45+46	47+48	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	
9	49+50	51+52	53+54	gezuiverd	[REDACTED]	[REDACTED]	
10	55+56	57+58	59+60	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	
11	61+62	63+64	65+66	[REDACTED] proces	[REDACTED]	[REDACTED]	
12	67+68	69+70	71+72	Pos. controle [REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	

[REDACTED] levert op de afgesproken tijdstippen de betreffende virus suspensies.
 Agenda en eventueel opsplitsen van de groepen in de tijd i.v.m. beschikbaarheid dieren en/of max aantal secties per dag wordt vastgesteld in onderling overleg [REDACTED]

biotechniek (in nader overleg met [REDACTED])

- *aankomst* dieren identificeren via kooi nummers met groeps- en diernummer.
- *verdeling* individueel huisvesten in macrolon bakken type III onder filtertop.
- *acclimatisering* minimaal 3 hele dagen, liever een week.
- *planning* i.v.m. beschikbaarheid dieren en haalbaarheid tijdens sectie dagen splitsen in 3 series

Actie	tijdstip	toelichting
Controle	dagelijks	Dagelijks controleren op algemeen welbevinden.
Anesthesie	dag 0 + 28 + 33	Gasanesthesie met isofluraan, voorafgaand aan immunisatie, infectie en sectie
Wegen	dag 0 + 28 + 33	Voorafgaand aan immunisatie, infectie en sectie
Bloedafname	dag 0 dag 28	voorafgaand aan immunisatie voorafgaand aan challenge infectie, orbita punctie (50 -100 µl) onder anesthesie.
immunisatie	dag 0	immunisatie wordt onder anesthesie intranasaal uitgevoerd voor dieren met 10 µl infectieuze oplossing (5 µl per neusgat). De toediening geschiedt vanuit een suspensie met een automatische pipet.
challenge	dag 28	infectie wordt onder anesthesie intranasaal uitgevoerd voor dieren met 100 µl infectieuze oplossing (50 µl per neusgat). De toediening geschiedt vanuit een suspensie met een automatische pipet.
Euthanasie, verbloeden en sectie	dag 33	Isofluraan anesthesie gevolgd door KX (ketamine/xylazine) injectie waarna dieren worden verbloed . Ook bij niet geplande euthanasie worden de dieren na anesthesie onder KX verbloed. Na euthanasie wordt sectie verricht.

sectie (of na euthanasie op een ander tijdstip)

Bij sectie worden de volgende acties genomen:

- onder anesthesie wegen van de dieren
- onder KX verbloeden - stol-bloed (voor serum) verzamelen
- inspectie op macroscopische afwijkingen
- verzamelen en bewerken van organen volgens tabel

orgaan	doel	handeling
neusholte	virus isolatie	spoelen met neus vloeistof 2ml
rechter long	virus isolatie en IgA bepaling	overbrengen in lege buis
linker long	histopathologie	opspreiden met formaline

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.

Alle dieren zijn afkomstig uit de eigen fok.

Dieren worden na verspenen individueel gehuisvest waardoor gerichte selectie van man, vrouw en leeftijd mogelijk is.

Bij het indelen van de groepen wordt gerandomiseerd voor leeftijd en geslacht

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.

Niet van toepassing (niet nodig, experimentele- en controle groepen worden gelijktijdig behandeld, en ondergaan dezelfde handelingen).

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

Voor de virustiters zijn aan de hand van resultaten van eerdere experimenten gemiddelden en standaard deviaties te berekenen. De noodzaak voor het inzetten van 6 dieren per groep in dit experiment van korte duur is berekend volgens een power analyse onder de condities;

Power : 0.8

Alpha: 0.05

berekend met sample size calculator: averages, two samples

(website: http://www.dssresearch.com/toolkit/sscalc/size_a2.asp)

Voor de [REDACTED] en [REDACTED] vaccins is in eerdere experimenten ([REDACTED] en [REDACTED] met dezelfde challenge dosis een standaard deviatie van 1.2 gevonden in de titers van de challenge virus replicatie. Bescherming tegen challenge virus replicatie in de longen is de belangrijkste parameter in dit experiment. Voor de experimentele groepen willen wij tussen de samples een verschil van minimaal 0.4 log in de virus titers aan kunnen tonen. Dit levert (gebruikmakend van de sample size calculator) een groeps grootte van 6 dieren op.

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.

vraag -1-

Wat is de optimale dosis prototype [REDACTED] RSV vaccin voor het induceren van bescherming tegen challenge virus replicatie en longpathologie en het opwekken van specifieke (neutraliserende) antistoffen in de katoenrat. --> antwoord wordt gevonden in de resultaten van groep 8 t/m 11 [REDACTED] RSV vaccin gemaakt volgens [REDACTED] proces.

vraag -2-

Zijn er, bij gelijke dosis [REDACTED] verschillen tussen eerder gebruikte PEG pellet en het volgens [REDACTED] geproduceerde materialen.

--> antwoord op deze vraag wordt gevonden door de resultaten van de groepen met een zelfde dosering van een ander preparaat met elkaar te vergelijken = 2 en 4 [REDACTED] RSV en groep 7 en 9 [REDACTED] RSV PEG pellet versus vaccin volgens [REDACTED] proces

vraag -3-

Wat zijn de verschillen tussen de dosis response van [REDACTED] RSV t.o.v. [REDACTED] RSV met het volgens [REDACTED] geproduceerde materiaal.

--> antwoord op deze vraag wordt gevonden door de resultaten te vergelijken van de groepen 3 t/m 6 en 8 t/m 11. Voor het juist kunnen interpreteren van de resultaten te verkrijgen met de groepen 2 t/m 11 zijn de resultaten van controle groepen 1 en 12 van belang.

Deze dosis response in deze dierstudie zal worden uitgevoerd met gezuiverde virussen die volgens het [REDACTED] proces zijn vervaardigd en geformuleerd en ter controle worden vergeleken met vaste doseringen van representatieve preparaten uit eerdere studies.

Er zal van elk preparaat een batch ampullen worden gemaakt die na snap-freeze bij -80 zal worden opgeslagen. In eerdere studies is bewezen dat dit geen effect heeft op de stabiliteit gemeten over een periode van 18 maanden, wel zijn er incidenteel variaties tussen ampullen uit dezelfde batch geconstateerd. Door het experiment te spreiden over drie keer twee dieren per groep per dag, worden eventuele dag afhankelijke variaties uitgemiddeld. Te denken valt hier aan het effect van subtile verschillen in handeling door verschillende personen zowel analisten als biotechnici. De groepen worden niet als geheel vanuit één ampul behandeld maar in triplo. De preparaten zullen behalve op [REDACTED] ook worden geanalyseerd op verschillen in verontreinigingen zoals Host Cell (Vero) Protein, Host Cell DNA en componenten van de formulering en eventueel andere testen die uiteindelijk voor vrijgifte gebruikt zullen gaan worden.

groep 1 MOCK

negatieve controle groep = geen bescherming tegen challenge virus replicatie en infectie pathologie in de longen. Negatieve controle voor de aanwezigheid van RSV specifieke IgG en IgA antistoffen in serum en mucosa. De mock controle zal met dezelfde formulering worden behandeld echter zonder virus.

groep 2 [REDACTED] RSV PEG pellet

controle groep om te vergelijken met eerder gebruikt [REDACTED] RSV= sub optimale bescherming in deze groep wordt bij de [REDACTED] dosering gedeeltelijke bescherming verwacht, dit is bevestigd in het meest recente experiment [REDACTED] en er zal met hetzelfde materiaal worden uitgevoerd.

groep 3 t/m 6 [REDACTED] RSV vaccin volgens [REDACTED] proces
experimentele groepen dose response [REDACTED] vaccin volgens [REDACTED] proces; de zuiverheid en formulering kunnen bijdragen tot een betere bescherming. [REDACTED]

Deze experimentele groepen zullen antwoord geven op de vraag of de zuiverheid en formulering invloed hebben op de effectiviteit, als die invloed positief is zal er bij lagere dosering dan [REDACTED] bescherming gevonden gaan worden. Voor het antwoord op de vraag hoe veel de toegevoegde waarde is van [REDACTED] zal deze dosis response worden vergeleken met die van [REDACTED] RSV vaccin gemaakt volgens [REDACTED] proces.

groep 7 [REDACTED] PEG pellet

controle groep om te vergelijken met eerder gebruikt [REDACTED] PEG pellet.

In de eerder geteste dose response [REDACTED] is een heterogeen beeld gezien. Na een vaccin dosis van [REDACTED] en challenge met [REDACTED] wt [REDACTED] waren 5/6 dieren beschermd tegen challenge virus replicatie in de longen, bij [REDACTED] waren dat 4/6 dieren en bij [REDACTED] 5/6. Bij de dosis response tegen [REDACTED] was er bescherming tegen challenge virus replicatie in 0/6 dieren na een vaccin dosis van [REDACTED], na [REDACTED] waren dat 0/6 dieren en na [REDACTED] waren alle dieren (6/6) beschermd.

groep 8 t/m 11 [REDACTED] RSV vaccin gemaakt volgens [REDACTED] proces

experimentele groepen dose response [REDACTED] RSV vaccin gemaakt volgens [REDACTED] proces; de zuiverheid en formulering kunnen bijdragen tot een andere bescherming dan eerder gevonden met de PEG pellets Groep 8 t/m 11 zijn de experimentele groepen waarin de optimale dosis zal worden bepaald, de zuiverheid en formulering kunnen bijdragen tot een betere bescherming en daarom wordt de [REDACTED] groep meegenomen om dit onderscheid waar te kunnen nemen. We weten echter niet of de respons hoger zal zijn, als de verontreinigingen een positieve bijdrage leveren zou de respons met het gezuiverde materiaal ook lager uit kunnen vallen, reden om ook de [REDACTED] mee te nemen. De [REDACTED] dosering zal waarschijnlijk ook de concentratie gaan worden van het klinische materiaal en de daarmee uit te voeren tox studies.

groep 12 wt RSV [REDACTED]

positieve controle groep = optimale bescherming in long en neus. Positieve controle voor de aanwezigheid van RSV specifieke IgG en IgA antistoffen in serum en mucosa. Negatieve controle door afwezigheid van infectie pathologie in de longen.

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.

Doel van het project is het ontwikkelen van intra nasaal een vaccin tegen respiratoir syncytieel virus (RSV), geschikt voor toepassing bij jonge kinderen (neonaten) en op te nemen in het RVP. In deze proef wordt de dosering en de werkzaamheid onderzocht van het prototype vaccin t.b.v. pre klinisch onderzoek.

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

Er wordt voor deze dierproef geen gebruik gemaakt van de WTC van het [REDACTED] Dit experiment is wetenschappelijk getoets door [REDACTED] en [REDACTED] zie onderstaande opmerkingen en vragen met antwoorden welke waar van toepassing reeds zijn verwerkt in de tekst

vraag-1- [REDACTED]

We hadden vorig keer besproken dat bridgen naar het oude RSV [REDACTED] vaccin niet zo logisch zou zijn. Enerzijds omdat de batches daarvan geen betrouwbare resultaten gaven, anderzijds vanwege de term bridgen. Ik had van je gehoord dat je met iemand anders gesproken had, die het wel verstandig vond om het oude RSV [REDACTED] vaccin mee te nemen om te vergelijken. Daar zou ik graag nog even de argumenten op horen. Ben namelijk benieuwd waarom je het nu wel zinvol acht. Waren de resultaten van een bepaalde batch toch wel betrouwbaar? Want ik kan me voorstellen dat het dan inderdaad wel nuttig is om hem mee te nemen als controle. En als je slechts 1 dosering mee neemt zoals je nu doet, kost het ook niet veel dieren.

antwoord;

Ik heb drie redenen om de oude [REDACTED] wel mee te nemen;

-1-De reden van de onbetrouwbare resultaten hebben we niet kunnen achterhalen. Aanvankelijk zijn wij er vanuit gegaan dat het aan de stabiliteit van het preparaat lag, dit is in een aantal eerdere experimenten ook daadwerkelijk het geval geweest. Echter, na een uitvoerige stabiliteitsstudie met het referentie preparaat dat we nu mee willen nemen (de [REDACTED] batch [REDACTED]) blijkt dit niet de oorzaak te zijn geweest. In de laatste proef [REDACTED] waren de resultaten in de controle groepen ook niet helemaal zoals verwacht; 1/8 dieren niet beschermd na immunisatie met [REDACTED] terwijl er in alle eerdere experimenten bij deze dosering 100% bescherming is gevonden. Verder was dit experiment met 8 dieren per groep verdeeld over 4 dieren per keer en zijn er ook verschillen tussen het eerste en het tweede deel van het experiment gevonden. Groep 7 uit exp

[REDACTED] zal dan ook worden vergeleken met groep 1 uit exp [REDACTED] en met groep 6 uit [REDACTED].

-2- In het gezuiverde [REDACTED] materiaal verwacht ik uitsluitend virusdeeltjes, in het PEG pellet zitten zeker ook cel fragmentjes van [REDACTED] die in het pellet van de sucrose gradiënt zullen belanden. Wij hebben in exp [REDACTED] geen verschillen gevonden tussen de groepen [REDACTED] met verschillende F/G complementatie ratio's. Deze ratio's worden gemeten in een whole virus ELISA waarbij wordt gecoat met [REDACTED] en gemeten met zowel [REDACTED]. De aanwezige membraanfragmenten van de [REDACTED] (dus extra niet virus gebonden [REDACTED] in het preparaat) zullen na de eerste stap van deze ELISA worden weggewassen omdat ze niet aan [REDACTED] binden. De preparaten voor experiment [REDACTED] zullen behalve op [REDACTED] en [REDACTED] (naast elkaar) ook op verontreinigen als HCP en host cell DNA worden getest.

-3- Voor de publicatie van het [REDACTED] hebben we nog (betrouwbare) dierproef data nodig met [REDACTED] die gegenereerd zijn met eenzelfde type materiaal als alle eerdere experimenten. De resultaten van de groepen 2 ([REDACTED] RSV PEG pellet) en 7 ([REDACTED] RSV PEG pellet) zullen voor deze publicatie worden gebruikt.

[REDACTED]

Ik zou je wel dringend willen aanraden om niet de terminologie "bridging" te gebruiken richting de resultaten van het oude RSV [REDACTED] en RSVG [REDACTED] vaccin.

De term vergelijken of controlemateriaal is beter van toepassing. De data die je nu krijgt kunnen in principe anders zijn dan toen, omdat je nu gezuiverd product hebt. Dat is niet erg. Het hoeft niet exact hetzelfde te zijn. Mits het niet dramatisch afwijkt. Want dan hebben we een project probleem tenzij het gezuiverde materiaal beter blijkt en er voor hetzelfde effect een lagere dosering nodig is. Bridging doe je alleen als je de data een op een vergelijkt, en wilt dat ze exact hetzelfde zijn met een statistische toets. Dat is in dit geval niet de bedoeling.

De officiële non-clinical studie met de officiële non-clinical batches leveren data op waarnaar je in de toekomst wel dient te bridgen als je iets zou gaan optimaliseren aan het product. Nu vergelijk je alleen maar. De term bridging is wat mij betreft echt niet van toepassing.

Verder prima proefopzet wat mij betreft.

antwoord;

Ben ik met je eens, ik zal de term "bridging" vervangen door "vergelijking".

vraag -2- [REDACTED]

Ik heb in de pdf file een aantal kleine opmerkingen geplaatst in comment boxes. Bijv dat je in de inleiding wel erg sterke woorden gebruikt over de resultaten van het oude RSVG [REDACTED] vaccin.

antwoord;

De inleiding is identiek aan die van exp [REDACTED] die al in autorisatie ronde zit. Wij hebben nooit gevonden dat [REDACTED] het minder goed deed dan [REDACTED]. Bij dezelfde dosering waren de resultaten vergelijkbaar en bij een lagere dosering waren de resultaten van [REDACTED] altijd beter dan die van [REDACTED]. De woorden "vergelijkbare of betere bescherming" durf ik daarom te laten staan.

vraag -3- [REDACTED]

Nog een vraagje voor de toekomst. Kiezen we er voor om bij de officiële non-clinical studie wel gezuiverd rsv [REDACTED] materiaal te maken als controle materiaal?

antwoord;

Ik zal in de tekst en de tabel bij de positieve controle en de challenge in het midden laten welke RSV [REDACTED] we gaan gebruiken. Veel hangt af van de resultaten die uit exp [REDACTED] zullen gaan komen. Voor het aantonen van bescherming tegen infectie pathologie in de longen moet er met de juiste dosering van het challenge preparaat wel longpathologie gevonden worden. Voor de pathologie die [REDACTED] tot nu toe heeft geanalyseerd, bleek de longpathologie na een challenge dosis van [REDACTED] ul van het RSV [REDACTED] PEGpellet een reproduceerbaar resultaat op te leveren. Voor de immunisatie zal het niet veel uitmaken omdat we bij [REDACTED] RSV nooit verschillen hebben gevonden, ook niet met de wild type lab stam RSV [REDACTED]. Ik denk dat het goed is om voor dit experiment ook het [REDACTED] materiaal als positieve vaccin controle te gebruiken, dit geeft dan al informatie voor de officiële non clinical studie. Voor de challenge in eerste instantie het bekende PEG materiaal of op geleide van pathologie data met wtRSV [REDACTED] uit [REDACTED] het gezuiverde [REDACTED] preparaat.

opmerking en vragen [REDACTED]

De vragen + antwoorden van [REDACTED] zijn erg nuttig. Zou ik ook bijvoegen als info voor de DEC.

Verder alleen nog 2 dingen:

1

groep 12 [REDACTED] RSV [REDACTED]

positieve controle groep = optimale bescherming in long en neus. Negatieve controle voor de aanwezigheid van RSV specifieke IgG en IgA antistoffen in serum en mucosa. Afwezigheid van infectie pathologie in de longen. Neem aan dat dat een positieve controle is voor IgG en IgA?

antwoord;

Scherp opgemerkt, het gaat inderdaad om een positieve controle, ik zal het corrigeren in de tekst.

2

En als je een hogere respons verwacht voor de gezuiverde virussen, is het dan nodig om de hoogste dosis [REDACTED] mee te nemen?

antwoord;

We weten niet of de respons hoger zal zijn, als de verontreinigingen een positieve bijdrage leveren zou de respons ook lager uit kunnen vallen.

In exp [REDACTED] waren na immunisatie met resp [REDACTED] en [REDACTED] en [REDACTED] dieren beschermd tegen challenge virus replicatie.

Bij de maximaal haalbare dosering van [REDACTED] verwachten we [REDACTED] beschermd.

Verder wordt deze dosering gevraagd in het pre klinisch plan en is het een concentratie die we waarschijnlijk gaar gebruiken in de tox studies.

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

Ale procedures zijn gekozen op basis van de eerdere ervaring van het NVI (nu Intravacc) in het katoenratmodel.

UITVOERING

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

Te bestuderen parameters:

- replicatie van challenge RSV virus in longen en neusholte
- bestuderen infectie pathologie in longen
- bepalen van RSV specifieke antistoffen in bloed en longen

Groep N=6	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Dag 0 bloedafname + Immunisatie [REDACTED]	Dag 28 bloedafname + Challenge [REDACTED]	Dag 33 Sectie 24 dieren per serie
	Dier #	Dier #	Dier #	vaccin		
1	1+2	3+4	5+6	Neg. controle Mock		
2	7+8	9+10	11+12	PEG pellet		
3	13+14	15+16	17+18	[REDACTED]		
4	19+20	21+22	23+24	gezuiverd		
5	25+26	27+28	29+30	[REDACTED]		
6	31+32	33+34	35+36	proces		
7	37+38	39+40	41+42	PEG pellet		
8	43+44	45+46	47+48	[REDACTED]		
9	49+50	51+52	53+54	gezuiverd		
10	55+56	57+58	59+60	[REDACTED]		
11	61+62	63+64	65+66	proces		
12	67+68	69+70	71+72	Pos. controle [REDACTED]		

[REDACTED] levert op de afgesproken tijdstippen de betreffende virus suspensies.
Agenda en eventueel opsplitsen van de groepen in de tijd i.v.m. beschikbaarheid dieren en/of

max aantal secties per dag wordt vastgesteld in onderling overleg [REDACTED].

biotechniek (in nader overleg met [REDACTED])

- *aankomst* dieren identificeren via kooi nummers met groeps- en diernummer.
- *verdeling* individueel huisvesten in macrolon bakken type III onder filtertop.
- *acclimatisering* minimaal 3 hele dagen, liever een week.
- *planning* i.v.m. beschikbaarheid dieren en haalbaarheid tijdens sectie dagen splitsen

in 3 series

Actie	tijdstip	toelichting
Controle	dagelijks	Dagelijks controleren op algemeen welbevinden.
Anesthesie	dag 0 + 28 + 33	Gasanesthesie met isofluraan, voorafgaand aan immunisatie, infectie en sectie
Wegen	dag 0 + 28 + 33	Voorafgaand aan immunisatie, infectie en sectie
Bloedafname	dag 0 dag 28	voorafgaand aan immunisatie voorafgaand aan challenge infectie, orbita punctie (50 -100 µl) onder anesthesie.
immunisatie	dag 0	immunisatie wordt onder anesthesie intranasaal uitgevoerd voor dieren met 10 µl infectieuze oplossing (5 µl per neusgat). De toediening geschiedt vanuit een suspensie met een automatische pipet.
challenge	dag 28	infectie wordt onder anesthesie intranasaal uitgevoerd voor dieren met 100 µl infectieuze oplossing (50 µl per neusgat). De toediening geschiedt vanuit een suspensie met een automatische pipet.
Euthanasie, verbloeden en sectie	dag 33	Isofluraan anesthesie gevolgd door KX (ketamine/xylazine) injectie waarna dieren worden verbloed .Ook bij niet geplande euthanasie worden de dieren na anesthesie onder KX verbloed. Na euthanasie wordt sectie verricht

sectie (of na euthanasie op een ander tijdstip)

Bij sectie worden de volgende acties genomen:

- onder anesthesie wegen van de dieren
- onder KX verbloeden - stol-bloed (voor serum) verzamelen
- inspectie op macroscopische afwijkingen
- verzamelen en bewerken van organen volgens tabel

orgaan	doel	handeling
neusholte	virus isolatie	spoelen met neus vloeistof 2ml
rechter long	virus isolatie en IgA bepaling	overbrengen in lege buis
linker long	histopathologie	opspuiten met formaline

WTC (Wetenschappelijke Toetsing Commissie)

Discussie wetenschappelijke toetsing:

DIEREN

Diersoort: katoenrat

Stam	COT/NCrIVsiRiv			
Geslacht	50-50			
Aantal	72			
Leeftijdswaam (weken)	4-8 wk			
Gewichtswaam (grammen)				
Microb. status	spf			
Herkomst	XXXXXXXXXX			
Locatie	XXXX			
Kooitype	filtertop			

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?: [REDACTED], wild type en recombinant

Levend of gedood micro-organisme?: Levend

Klasse biologische agentia volgens ARBO besluit 2005: Klasse 2

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

Inschalings niveau volgens Regeling en besluit GGO?: ML-II

Lokatie DM-2 dierverblijf: [REDACTED]

Wat is het GGO vergunning nummer voor dit micro-organisme?: [REDACTED]

Wie is de verantwoordelijke medewerker: [REDACTED]

Biologisch materiaal:

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

Wat voor een materiaal (+ event. code)?: recombinant RSV-[REDACTED] RSV), wild type RSV-[REDACTED]. RSV-[REDACTED]
recombinant RSV-[REDACTED] RSV

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

Stofnaam	Chemisch/Biologisch materiaal?	Klassificatie
recombinante RSV stammen	Biologisch	risico klasse 2
wild type RSV	Biologisch	risico klasse 2

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

bij intranasale toediening werken in laminar flow kast

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

Zo ja, via wat en hoelang?(dagen)

Gedurende de eerste week na vaccinatie en infectie met infectieus RSV kan dit virus via de longen/neus worden uitgescheiden.

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

RSV besmetting ogen: schoonspelen met veel water, prikaccident: laten bloeden en wassen met water en zeep, huid: wassen met water en desinfecterende zeep of met desinfecterende gel.

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

RSV: desinfecteren met 70% ethanol.

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

Als potentieel RSV-besmet materiaal. Aan het einde van de proef alle proefdierhuisvesting materialen, bedding enz. autoclaveren en daarna omspoelen.

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
bloedafname (n=72)	orbitapunctie onder algehele anesthesie	matig	< 5min; 6 x in 33 dagen	100%
wegen (n=72)	hanteren van de dieren	gering	<2min; 3x in 33 dagen	100%
vaccinatie (n=72)	i.n. toediening onder anesthesie	gering/matig	<5 min	100%
intranasaal onder anesthesie	i.n. toediening onder anesthesie	gering/matig	<5 min	100%
infectie (n=72)	verbloeden onder anesthesie	gering/matig	<5 min	100%
euthanasie (n=72)				

Ongerief door andere omstandigheden dan strikt de experimentele handelingen				
Omstandigheid	Aard van het ongerief	Mate ongerief	Duur ongerief	Kans ongerief
longpathologie door RSV blootstelling	longpathologie	gering/matig	1 week	100%

Gecumuleerd risico op ongerief voor het hele experiment / per experimentele groep	
alle dieren in het experiment	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	wegen, bloedafname en intra nasale toedieningen (vaccin, infectie)
2	anders, nl.:	voor	sectie, verbloeden
	isofluran in O2 + ketamine xylazine		
3		voor	
4		voor	
5		voor	

Analgesie:

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

Gebruikt u een analgeticum?: Nee

Kooiverrijking:

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

Individuele huisvesting:

Moeten de dieren individueel gehuisvest worden? Ja

Geef aan waarom dit noodzakelijk is.

Katoenratten zijn solitaire dieren. Verder is het voor de handeling van de dieren noodzakelijk dat ze individueel gehuisvest zijn

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

Mogelijk wel, maar dan ten hoogste milde respiratoire aandoeningen.

Het gaat in dit experiment om een intranasale vaccinatie/infectie van [REDACTED] RSV [REDACTED] al dan niet gecombineerd met lipopeptiden. Uit eerdere experimenten blijkt dat na toedienen van virussuspensie in klein volume de lagere luchtwegen niet wordt bereikt en blijft "hangen" in de neusholte en hogere luchtwegen. Dientengevolge zal een mogelijke inflammatoire reactie beperkt blijven tot de hogere luchtwegen, die hoogstens een paar dagen aanhoudt. In een deel van de dieren zal een soort "neusverkoudheid" optreden. Tot nu toe zijn na intra-nasale (challenge) infectie met [REDACTED] RSV geen klinische effecten waargenomen. De milde inflammatoire reactie in de longen na toediening van groot volume [REDACTED] infectieus virus is slechts waarneembaar bij pathologisch onderzoek van de longpreparaten

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 : ketamine + xylazine

Bijzonderheden:**Bijzonderheden t.b.v. art. 14**

De huisvesting, verzorging en biotechniek die noodzakelijk zijn voor dit onderzoek zijn bekend. Zomogelijk proberen de katoenratten in hun kooi te verdoven met isofluraan zodat ze niet gevangen hoeven te worden. In overleg met [REDACTED]-biotechnici deze bekijken hoe deze mogelijkheid uitgevoerd kan worden met beschikbare middelen.

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.

Het is niet mogelijk om immunisatie en challenge viurs replicatie (in long en neus) van intranaasaal toegediend vaccin virus in vitro te bestuderen. Het katoenratmodel is gekozen op basis van onze ervaringen binnen dit project en literatuur onderzoek waar uit blijkt dat katoenratten gevoelig zijn voor humaan-RSV. Voorafgaand aan het mogen uitvoeren van klinische studies is pre klinisch onderzoek in een geschikt diemodel verplicht. Deze dierproef is een voorbereiding op de pre klinische fase met materiaal dat op vergelijkbare wijze is geproduceerd en gezuiverd als dat voor het klinische traject zal gaan gebeuren.

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?

ter vermindering;

- hebben we gewacht tot het productie proces zodanig is ontwikkeld dat het prototype materiaal zo veel mogelijk vergelijkbaar is met het materiaal waar de klinische studies mee uitgevoerd zullen gaan worden.

- is een inschatting van de proefgroep grootte gemaakt door nauwkeurige statistische voorspelling (poweranalyse) om met een minimaal aantal dieren significante resultaten te verkrijgen op basis van eerdere data van soortgelijke experimenten die werden uitgevoerd in ons eigen lab.

ter verfijning;

- worden de dieren solitair geplaatst in kooien met zaagsel, waarin ze ad libitum kunnen eten en drinken.

- gebeuren alle handelingen onder anesthesie zodat dieren nauwkeuriger behandeld kunnen worden waardoor ook variatie minimaal gehouden wordt en dus minder dieren nodig zijn voor significantie van gericht geïnduceerde verschillen.

CODERING

Bijzonderheid dier:	1. Gewoon 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:	3. Matig

Aantal Dieren:	Mate van ongerief:

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

BIJLAGEN

ADDENDUM

(10/30/2013 12:20:11 PM) Addendum toegevoegd door [REDACTED]

Reden wijziging: Aantal dieren; Anders nl.

Omschrijving wijziging: Experiment [REDACTED] is verdeeld in 3 series. Bij de eerste serie zijn een aantal dingen misgegaan. De onderzoekers verzoeken daarom dit deel van het experiment te herhalen.

DAG 0 (immunisatie):

Een dier uit groep 8 (#43) heeft vaccin uit groep 7 toegediend gekregen. Na overleg is er toen een dier uit de controlegroep 12 (#67) gehaald om als nog de teststof van groep 8 te krijgen. De controle groep 12 bestond dus uit minder dieren dan beoogd.

DAG 28 (challenge):

Er is teveel materiaal terug gekomen bij [REDACTED] vandaan doordat er hoogstwaarschijnlijk te weinig virus aan de dieren is toegediend. Voor 1 dier is dat met zekerheid vastgesteld.

Aangezien dit een beschermingsexperiment is kan er uit dit deel van het experiment geen conclusies getrokken worden. Het niet kunnen kweken van virus uit de longen kan betekenen dat het dier beschermd is, maar ook dat er nooit virus in de longen is terecht gekomen.

Voor herhaling van serie 1 uit experiment [REDACTED] zullen in totaal zullen 24 katoenratten nodig zijn die het volgende zullen ondergaan (zie ook proefopzet):

dag 0 (gering/matig ongerief)

wegen, bloedafname d.m.v. orbitapunctie, intranasale vaccinatie (alles onder O2/isofluran anesthesie)

dag 28 (gering/matig ongerief)

wegen, bloedafname d.m.v. orbitapunctie, intranasale toediening challenge virus (alles onder O2/isofluran anesthesie)

dag 33 (gering/matig ongerief)

wegen, verbloeden onder O2/isofluran + ketamine xylazine anesthesie.

Voor een uitgebreidere omschrijving van de te verrichten handelingen verwijs ik naar de proefopzet (tabbladen uitvoering en welzijn).

(11/11/2013 11:15:07 AM) Addendum goedgekeurd door [REDACTED]

Opmerkingen: Akkoord met addendum. Dit is ook besproken in de plenaire DEC vergadering en akkoord bevonden. Voorwaarde is dat de onderzoekers en de medewerkers van [REDACTED] samen overleggen over bovenstaande om herhaling te voorkomen.

AUTORISATIE HISTORIE

(28-5-2013 10:08:29) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]
(5/28/2013 10:31:12 AM) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]
(29-5-2013 9:00:15) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]
(6/6/2013 9:38:45 AM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]
(6-6-2013 18:08:10) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED]
(7-6-2013 15:15:28) Goedgekeurd door BVF functionaris [REDACTED]
(7-6-2013 16:14:49) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED] met de volgende opmerkingen.
Opmerkingen: akkoord in mail [REDACTED] 7-6-2013

AUTORISATIE**Verantwoordelijke Art 12 functionaris:**

(28-5-2013 10:08:29) Goedgekeurd door Artikel 12 functionaris [REDACTED]
Opmerkingen:

Verantwoordelijke onderzoeker (Art. 9)

Naam: [REDACTED]

Vervanger: [REDACTED]

(5/28/2013 10:31:12 AM) Goedgekeurd door Artikel 9 functionaris [REDACTED]

WTC Autorisatoren:

Opmerkingen:

Offerte Autorisatoren:

(7-6-2013 16:14:49) Goedgekeurd door Offerte functionaris [REDACTED]

Bestelnummer:

Opmerkingen:

akkoord in mail [REDACTED] 7-6-2013

MKB Autorisatoren:

(29-5-2013 9:00:15) Goedgekeurd door MKB functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:

BVF Autorisatoren:

(7-6-2013 15:15:28) Goedgekeurd door BVF functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:

Art. 14 Autorisatoren:

(6/6/2013 9:38:45 AM) Goedgekeurd door A14 functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:

DEC Autorisatoren:

(6-6-2013 18:08:10) Positief advies gegeven door DEC functionaris [REDACTED]

Opmerkingen:

©Intravacc 2014 Alle rechten voorbehouden