

mensen aan lijdt. Het is aannemelijk dat de doelstellingen behaald zullen worden. Om dit doel te bereiken worden dieren gebruikt. De onderzoekers doen er echter alles aan om het lijden van de dieren te beperken d.m.v. pijnbestrijding waardoor het werkelijke ongerief van de dieren beperkt blijft.”

Voorbeeld B: “Project gericht op het ontwikkelen van een therapie tegen een ziekte waar al veel behandelmogelijkheden voor zijn.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: ernstig nadeel.

Waarden die voor onderzoekers bevorderd worden: gering voordeel

Waarden die voor patiënten bevorderd worden: weinig voordeel

De DEC is van mening dat de belangen van de proefdieren in dit project zwaarder wegen dan de belangen van en waarden voor de patiënten. De DEC is van mening dat het om een ziekte gaat waar al goede behandelmogelijkheden voor zijn, de verwachte winst door een nieuwe behandeling zeer beperkt is en de kans dat de doelstellingen behaald worden zeer klein is. Daartegenover staat het ernstige ongerief dat de dieren zullen ondergaan.”

- D3. Voorbeeld (Zie D2 voorbeeld A): “De DEC is overtuigd van het belang van de doelstellingen: het ontwikkelen van een vaccin voor een ernstige, besmettelijke ziekte. De DEC is van mening dat de waarden die voor de doelgroep bevorderd kunnen worden zwaarder wegen dan de waarden die voor de proefdieren in het geding zijn. Het project is goed opgezet. De DEC is van mening dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De DEC is er verder van overtuigd dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om de doelstellingen te behalen, te kunnen voldoen aan de 3V-beginselen en om te kunnen voorkomen dat mens, dier en het milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De DEC is ook van mening dat de aanvrager voldoende maatregelen treft om het ongerief van de dieren te beperken en het aantal dieren tot een minimum te beperken. Hoewel er sprake is van een bijzondere categorie dieren, dodingsmethode niet volgens bijlage IV, heeft de aanvrager in voldoende mate onderbouwd dat de doelstellingen niet anders bereikt kunnen worden. De DEC is van mening dat het gekozen alternatief acceptabel is en niet leidt tot meer ongerief. Gezien bovenstaande is de DEC van mening dat het voor het eerst ontwikkelen van een vaccin tegen ziekte X met als uiteindelijk doel het uitbannen van deze ziekte wereldwijd op de wijze zoals beschreven in dit project het gebruik van proefdieren rechtvaardigt.”

E. Advies

- E2. Voorbeeld: “Het advies is gebaseerd op een meerderheidsstandpunt. Twee van de DEC leden zouden tot een negatief advies komen. Deze leden zijn van mening dat voor dit project de waarden van de proefdieren die in het geding zijn zwaarder wegen dan de waarden van de doelgroep die bevorderd zullen worden. De redenen hiervoor zijn.....”



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2 .e. en g

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD 10.2 .e. en g 20172348-1

Uw referentie

Bijlagen

1

Datum 26 februari 2019
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte 10.2 .e. en g

Op 18 januari 2019 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project: "Ontwikkeling, regeneratie en elektrische functie van het hart" met aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 0172348, waarvoor op 26 september 2017 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 20172348-1.

Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u n=4850 muizen toe te voegen aan uw vergunning.

Beslissing

Wij wijzen uw wijzigingsaanvraag toe. Dit betekent dat het op grond van artikel 10a, lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) is toegestaan de in de wijzigingsaanvraag beschreven dierproeven onder de vergunning voor het project "Ontwikkeling, regeneratie en elektrische functie van het hart" uit te voeren. Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie (hierna: de DEC) DEC-10.2 .e. en g. Dit advies is ontvangen op 1 februari 2019. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet.

Overwegingen

Alle hierboven genoemde stukken liggen ten grondslag aan ons besluit. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Datum

26 februari 2019

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD 20172348-1

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

drs. F. Braunstahl
Algemeen Secretaris

Bijlagen

- Vergunning

Hiervan deel uitmakend: - DEC-advies



Datum

26 februari 2019

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD 0172348-1

Gewijzigde Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Uw vergunning wijzigt als volgt:

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren oorspronkelijk	Ernst
3.4.4.1 Karakterisatie van de ontwikkeling, regeneratie en functie van het hart			
	Muizen (Mus musculus)	9675 --> 14.525	58% Licht / 42% Matig 69% Licht/ 31% Matig

Voor het overige blijft uw vergunning ongewijzigd.



Form Project proposal

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

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. _____
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. _____
- 1.3 Provide the title of the project. Healthy Life: Transition dairy cow

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- Higher education or training
- Forensic enquiries
- Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

The Holstein dairy cow in modern production systems is reported to complete 2.8 parities (Hare et al., 2006) with a lifespan of 4.6 years of age. In contrast, beef cows in more extensive systems may well live to reach 20 years. Within a lactation, the risk of being culled from the herd is 25% in the first 60 days (Godden et al., 2003), indicating that the transition period has a huge impact on health and survival of the

dairy cow. The risk of metabolic and infectious disease is greatest during this time (Goff and Horst, 1997; Hammon et al., 2006) in large part due to the complex series of metabolic and physiological adaptations moving from an anabolic to a catabolic state, as the cow completes gestation and begins milk production. In addition to compromised health status, negative energy balance at this time is also associated with reduced reproductive success and health status (Duffield et al., 2009; Ospina et al., 2010a,b). Adaptation to a lactating ration also poses a metabolic and physiological challenge to the transition dairy cow. Historically, early lactation rations have been formulated with the intention of minimizing the degree of negative energy balance and to provide sufficient nutrients to support milk production. However, the high concentration of fermentable carbohydrate leads to an increase in microbial production of volatile fatty acid (VFA), a reduction in ruminal pH and an increased risk of ruminal acidosis (Fairfield et al., 1997; Steele et al., 2015). The additional stress associated with these types of diets further compounds the risk of metabolic disease during transition. In order to better manage the health and welfare of the dairy cow, through this challenging time we need to focus first on improving health and longevity rather than on milk yield improvement. This requires improved understanding of nutrient partitioning and the mechanisms that regulate the adaptation from late gestation to early lactation.

It is known that the ration in late gestation and early lactation has an impact on cow health status, as determined from concentrations of blood components such as glucose, insulin, non-esterified fatty acid (NEFA) and beta-hydroxybutyrate (BHBA) and the incidence of metabolic disorders (Bell, 1995; Drackley et al., 2005, Roche et al., 2013). During late gestation specifically, feeding a controlled energy diet has been shown to decrease incidence of ketosis during lactation in dairy cows, as NEFA and BHBA concentrations postpartum are lower, as compared to cows consuming high energy dense diets prepartum (Douglas et al., 2006; Janovick and Drackley, 2010; Vickers et al., 2013, Mann et al., 2015). In cows overfed energy in the prepartum period, insulin does not appear to modulate the mobilization of NEFA from adipose tissue postpartum when glucose and insulin are depressed during negative energy balance (Mann et al., 2016). During the first weeks of lactation, cows with high BCS and elevated concentrations of circulating lipids typically have higher milk fat concentration (Ohgi et al., 2005; Hammon et al., 2009). This would explain why milk production is the same between high and low prepartum plane of nutrition cows with similar energy balance (EB) estimates, while NEFA and BHBA are elevated in cows consuming excessive energy prepartum. These findings suggest that prepartum adaptation, facilitated through consumption of low energy diets, is key to managing mobilization of NEFA and the subsequent generation of ketone bodies such as BHBA. Interestingly, postpartum dry matter intake (DMI) and milk yield (MY) does not significantly differ between groups of cows fed high and low energy prepartum, while postpartum energy balance is more positive in cows fed low energy prepartum (Vickers et al., 2013; Mann et al., 2015, 2016). The risk of metabolic disease, particularly subclinical ketosis, is clearly reduced in dairy cows that are fed low energy diets to maintain neutral or slightly positive energy balance prepartum.

Some work on identifying the regulation of metabolism and physiology to dietary nutrient intake and profile has been conducted (Loor et al., 2006; Mann et al., 2015; 2016). It is understood that the regulatory processes of lipid and glucose metabolism are influenced by dietary energy consumption at this time (Douglas et al., 2006; Janovick and Drackley, 2010; Mann et al., 2015), but the effect of energy type (glucogenic or ketogenic) in transition dairy cow rations has not been addressed. Additionally the interaction of dietary protein and energy type on the regulation of metabolism and physiology also remains to be established. This knowledge is instrumental in helping the dairy cow by supplying the amount and type of nutrients she needs for her health and wellbeing.

3.2 Purpose

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

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

Our ultimate goal is to improve the longevity of the dairy cow. Towards reaching our goal, the main objective of our project is to examine the effects of dietary energy amount and type and protein amount and type for effects on health parameters, metabolism, and physiology for improving nutritional management recommendations. Accordingly, our research question is, how does the dairy cow regulate her energy and protein metabolism in response to energy and protein nutrition through the transition from gestation to lactation. With enhanced understanding of the impact of dietary nutrient profile on health and

longevity we will be better able to improve practical advice to farmers to improve welfare, sustainability and resource use.

Our core ruminant research team has a high level of competency in the areas of experimental design and power, nutrition, metabolism, physiology and mathematical modelling as well expertise in the animal procedures associated with these areas of research. Our team also has access to an extensive network of academic collaborators from which we share, learn and develop new research techniques. Internally, we have highly trained research staff and a specialized dairy research facility where we conduct well-controlled experiments to the standards of GCP.

3.3 Relevance

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

Scientific relevance

Further exploration of the adaptive process occurring during late gestation in the dairy cow will help to identify key factors and pathways that exert comprehensive control and regulation of dairy cow metabolism. The key role of metabolites such as glucose, NEFA and BHBA and hormones such as insulin in regulating the dairy cow metabolism is known. It is clear that amount of energy supply has an impact on these parameters; however the effect type of energy (glucogenic vs ketogenic) and type and amount of protein are less well elucidated. Investigation of these effects will lead to a better scientific understanding of the metabolism of the dairy cow.

Societal relevance

The ruminant is unique in the perspective that it can produce human consumable food from plant material that is not suitable for human consumption. However from society there are concerns about the welfare of the animals as well as the environmental impact of animal food production. Better nutrition of dairy cows will improve health and welfare of the animal as well as reduce nutrient losses to the environment. In order to be able to achieve this better nutrition, knowledge is required about the effect of nutrition of dairy cow metabolism. An understanding of the mechanisms controlling the adaptations to nutrient profile occurring during the period from dry-off through early lactation will have beneficial impact on the health and welfare, and fertility of the dairy cow through the entire lactation. Additionally, a reduction in health incidents in early lactation will reduce reliance on antibiotic intervention and improve sustainability and healthfulness of milk products for human consumption. Reducing turnover in the dairy herd will have further benefits on the environmental carrying capacity, as less young stock will be required as replacements in the milking herd. Improving retention will also decrease total manure outputs and emissions from the dairy sector. Additionally, the decrease in total animal numbers on farm will improve availability of feedstuffs and decrease pressure on intensively-managed land.

3.4 Research strategy

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

Our immediate objective is to characterize metabolic adaptation through late gestation and early lactation and then to examine the effect of dietary energy type and protein amount and type in transition dairy cows for effects on metabolism, physiology and health parameters. This has the aim of improving nutritional management recommendations towards improving longevity of the dairy cow. To achieve our objective, it is important that we start our investigation with research into the metabolic and physiological response associated with diet composition during the dry period.

Our research strategy is built around the research question stated in our project purpose. A number of trials are envisaged with example trial setups (these are summarized in Table 1) can be:

1. To establish the effect of the drying off and parturition processes on mineral, energy and inflammatory status and regulation from late lactation through the subsequent lactation. Our hypothesis is that cows will differentially regulate mineral and energy homeostasis beginning at dry off, which may impact the ability to maintain homeostasis at parturition and in early lactation.
2. To identify effects of high and low energy diets formulated with either ketogenic or glucogenic energy types from late gestation till parturition. Controlled energy diets will be formulated to meet energy and protein requirements in late gestation while high energy diets will be formulated to exceed requirements. Metabolic, physiological, and health metrics will be determined throughout late gestation and early lactation. We hypothesize that energy intake amount and type will affect the cow performance, particularly that late gestation cows consuming a controlled intake of a

ketogenic energy based diet will transition more smoothly as their metabolism is better adapted to utilizing ketogenic nutrients.

3. To determine the effect of dietary protein content in a controlled energy diet during late gestation in interaction with protein content in the early lactation cow diet on metabolic health parameters and lactation characteristics. We expect that a controlled energy diet will be most suitable for a healthy transition. Our hypothesis is that cows fed lower protein in late gestation and higher protein in early lactation will exhibit improved health and lactation characteristics through the transition period.
4. To examine the effect of ketogenic and glucogenic energy types in a controlled energy diet in late gestation and in a lactating cow diet in early lactation. We hypothesize that a diet based on a ketogenic energy profile during late gestation will allow for a smooth shift through transition, while a lactating cow diet based on a glucogenic energy profile will provide the ideal energy source to meet the metabolic demands of the dairy cow in early lactation.
5. To examine the effect of ketogenic and glucogenic energy types in a controlled energy diet in late gestation and the effect of protein content in a lactating cow diet in early lactation. The hypothesis that cows consuming a low energy ration with a ketogenic energy profile during late gestation will benefit from higher dietary protein in early lactation will be tested.
6. To establish the effect of protein level and energy source on controlled energy intake in late gestation and in a lactating cow diet in early lactation. We hypothesize that a controlled energy diet with a ketogenic energy profile and low protein in late gestation and a lactating diet with a glucogenic energy profile and higher protein content will best meet the energy and protein demands during each stage while facilitating the metabolic and physiological adaptations that will allow for dairy cows to transition with reduced risk of compromised health.

Table 1. Example trial setups with dietary treatments, with outcome parameters analysed: metabolite concentrations (eg. BHBA), health records (eg. Incidence of ketosis), lactation characteristics (e.g. milk composition), physical condition (eg. body weight), daily activities (eg. feed intake).

Proposed Experimental Dietary Treatment		
Research Component	Late Gestation	Early Lactation
1	Adaptation to the cessation of lactation	Adaptation to parturition and the onset of lactation
2	Level of dietary energy & Type of energy (ketogenic vs glucogenic)	Level of dietary energy & Type of energy (ketogenic vs glucogenic)
3	Level of dietary protein	Level of dietary protein
4	Type of energy (ketogenic vs glucogenic)	Type of energy (ketogenic vs glucogenic)
5	Type of energy (ketogenic vs glucogenic)	Level of dietary protein
6	Type of energy (ketogenic vs glucogenic) Level of dietary protein	Type of energy (ketogenic vs glucogenic) Level of dietary protein

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

There are two animal procedures planned in this project, the first being a longitudinal study design in a tie-stall setting to characterize mineral and energy regulation processes and the second being a longitudinal study design in a group setting to determine the effect of dietary energy profile and protein content through the transition period. Our research strategy will be implemented using these procedures within the various research components described in 3.4.1.

Procedure 1 is used to measure metabolic, physiological, health and performance metrics from late gestation to early lactation (70 prepartum to 112 d postpartum) and as such, will be used to characterize the adaptation to the drying off and parturition processes. Biological samples such as blood, tissue, feces and urine will be collected in addition to performance measurements such as dry matter intake, body

weight, body condition score, milk production and composition, etc. Accordingly, we will determine the energy, mineral, metabolic and inflammatory adaptations that occur from dry off through early lactation towards identification of the mode of action of these regulatory processes.

Procedure 2 is used to examine the effect of nutrition on metabolic, physiological, health and performance metrics from late gestation to early lactation (60 d prepartum to 90 d postpartum) and as such, will be used to test the effect of nutritional intervention on transition. Biological samples such as blood, tissue, feces and urine will be collected in addition to performance measurements such as dry matter intake, body weight, body condition score, milk production and composition, etc. Accordingly, we will determine the temporal response to energy type through transition and identify the mode of action of metabolic regulation where applicable.

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

The components of our strategy are connected by the use of the knowledge gained and used with each successive step. For example, the information learned by addressing Research Component 1 will be applied to Research Components 2, 3, 4, 5 and 6; information from Research Component 2 will be used for points 4, 5 and 6. The knowledge from Research Components 4 and 5 will be used to address Research Component 6.

We will address our research question through the 6 Research Components of our research project. The research question will be examined with consideration for both understanding the nutritional effects on health and performance and the mechanisms that control the metabolic and physiological responses.

Decision Points

A decision to end further research steps may be taken if experimental outcomes are not as expected, i.e. failure to identify dietary effects on outcome parameters such as health, metabolic and physiological adaptation.

Milestones

Our research project has 6 major milestones that will be met at the successful completion of each research component as described in section 3.4.1. To complete each milestone, activities will include:

1. Implementation of transition cow study to examine the effect of dietary energy level and energy type and protein content. Biological samples and health and lactation characteristics used to evaluate ration scenarios to identify most favourable outcome in terms of health, metabolism and physiology.
2. Incorporate findings into transition cow management program, including feed formulation models and practical recommendations to customers.
3. Disseminate findings through peer review publication. Examples of potential publications for each research component are as follows:
 - I. Research component 1. Publication on the regulation of mineral and energy metabolism in the dairy cow during dry off and parturition.
 - II. Research component 2. Publication on the interaction between energy level and type on dairy cow health through transition.
 - III. Research component 3. Scientific paper (s) on dietary protein effects on health, metabolism and performance in transition dairy cows.
 - IV. Research component 4. Publication on the effect of energy type on metabolism, physiology and health in the transition cow.
 - V. Research component 5. Publish scientific paper on the effect of energy type and protein intake on transition cow health, metabolism and lactation characteristics.
 - VI. Research component 6. Peer-reviewed publication on the effect of energy type and protein intake on health, metabolism and lactation characteristics in the transition cow.

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

Serial number	Type of animal procedure
---------------	--------------------------

1	Longitudinal experimental design
2	Transition Characterization Experiment
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer : AVD [REDACTED] 20173927-2
2. Titel van het project : Healthy Life: Transition dairy cow
3. Titel van de NTS : Verbetering gezondheid en levensduur melkvee

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
 wijziging van vergunning met nummer : AVD [REDACTED] 20173927

5. Contactgegevens DEC

- Naam DEC : DEC Utrecht
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: 21-03-2019
 aanvraag compleet:
 in vergadering besproken: 20-03-2019
 anderszins behandeld:
 termijnonderbreking(en) van / tot :
 besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
 aanpassing aanvraag:
 advies aan CCD: 04-04-2019

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.

9. Correspondentie met de aanvrager: n.v.t.

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): n.v.t.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een wijziging op een bestaande vergunning.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Middels voorliggende wijziging willen de onderzoekers toestemming vragen om een extra bijlage (2) toe te voegen. In deze bijlage is een longitudinaal experiment beschreven om te bepalen hoe fysiologische en metabole aspecten evolueren van late lactatie tot aan de droge periode en vervolgens de volgende lactatie. Dit doel was reeds in de oorspronkelijke aanvraag beschreven, maar voortschrijdend inzicht en het afweging van verschillende belangen (o.a. vermindering van het aantal dieren en een beter wetenschappelijke opbrengst) hebben ertoe geleid dat onderzoekers nu kiezen voor de in deze bijlage beschreven methode.

Voor verdere details met betrekking tot de inhoud verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de dierexperimenten in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën sluiten aan bij de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. *Het doel wijzigt niet. Voor verdere details met betrekking tot het doel verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.*

5. Naast de eerder beschreven morele waarden welzijn (stress) en rechtvaardigheid (intrinsieke waarde) die in het geding zijn, is ook de autonomie van het dier in het geding vanwege het beperkt worden in het natuurlijke gedrag doordat het voor langere tijd aangebonden in een stal moet verblijven.

De overige belanghebbenden wijzigen niet. Voor verdere details met betrekking tot belanghebbenden verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.

6. De aanvrager geeft niet aan nadelige effecten op het milieu te verwachten. De DEC ziet geen aanleiding om aan te nemen dat zich toch nadelige effecten zullen voordoen.

Proefopzet en haalbaarheid

7. *De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven betrokken zijn wijzigt niet. Voor verdere details met betrekking tot de kennis en kunde van de onderzoeksgroep verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.*

8. De wijziging is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de oorspronkelijke aanvraag en kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Van de koeien zal 26 weken (10 weken vóór kalven tot 16 weken na het kalven) lang wekelijks bloed en alle urine en feces verzameld worden

en maandelijks vet, lever en spier bipten worden genomen. Ook zullen de dieren maximaal vier keer worden 'gedrenched'.

Het project is nu onderverdeeld in zes (voorheen vijf) subdoelen/vraagstellingen, die sequentieel, te beginnen met de nieuwe bijlage 2, onderzocht zullen worden. Na elke vraagstelling volgt een go/no-go moment. Wanneer sprake is van een 'go' dan worden de resultaten van het betreffende experiment toegepast in alle daaropvolgende experimenten.

Welzijn dieren

9. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:

- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)

De keuze hiervoor is voldoende onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de dierproeven, voor de desbetreffende categorie, genoemde beperkende voorwaarden. Alle melkkoeien uit bijlage 2 blijven op de locatie van de vergunninghouder en zijn na afloop van het project beschikbaar voor andere projecten.

10. De dieren worden niet gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn. Om de urine en feces te kunnen verzamelen worden de dieren aangebonden gehuisvest. De stal biedt de dieren wel enige ruimte om hun natuurlijke gedrag te vertonen; ze kunnen gaan liggen en staan en ze hebben vrij toegang tot water en voedsel. De dieren staan altijd in groepen van twee of meer dieren.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven in bijlage 2 is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het aangebonden huisvesten van de dieren is ingeschat als matig ongerief, wat gezien de looptijd van 26 weken een reële inschatting is.
12. Dierproeven gaan per definitie gepaard met een aantasting van de integriteit, omdat het dier instrumenteel gebruikt wordt, waarbij het ongerief ondergaat, en daar zelf verder geen enkel voordeel van heeft. In dit project is dat ook zo. De integriteit van de dieren wordt daarnaast gedragsmatig aangetast vanwege het zich niet vrijelijk kunnen bewegen en vertonen van het natuurlijke gedrag.

13. De humane eindpunten zijn in bijlage 2 goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Men houdt er rekening mee dat maximaal 4% van de dieren voortijdig uit de proef genomen moet worden in verband met reguliere gezondheidsproblemen.

3V's

14. *Deze V (vervanging) wijzigt niet. Voor verdere details met betrekking tot vervanging verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.*
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Deze wijziging heeft tot gevolg dat er in plaats van 100 met licht dieren, 12 dieren met matig ongerief gebruikt worden.
Voor verdere details met betrekking tot vermindering verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.
16. *Deze V (verfijning) wijzigt niet. Voor verdere details met betrekking tot verfijning verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.*
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Het voorliggende project heeft betrekking op melkkoeien. Het spreekt daarom voor zich dat in bijlage 2 alleen vrouwelijke dieren worden ingezet.
19. De dieren worden niet gedood in het kader van het project.
20. De dieren blijven na afloop van het project op de onderzoeksfaciliteiten van de vergunninghouder en zijn beschikbaar voor hergebruik.

NTS

21. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De DEC is van mening dat de voorgestelde wijziging een waardevolle aanvulling vormt op het oorspronkelijke project, en bijdraagt aan de vermindering van het aantal dieren (12 i.p.v. 100) voor de voorgenomen dierproeven en het behalen van het uiteindelijke doel. Daar staat tegenover dat het ongerief voor deze 12 dieren stijgt van licht naar matig ongerief. De DEC heeft als uitgangspunt liever meer dieren met minder ongerief, dan minder dieren met meer ongerief toekennen, maar de meerwaarde van deze wijziging zit in dit geval ook in een betere wetenschappelijke opbrengt. De DEC kent daar veel gewicht aan toe. Op basis hiervan en de verdere onder C genoemde overwegingen (zowel de oorspronkelijke overwegingen als de aanvullingen daarop) is de DEC van oordeel dat het toevoegen van deze extra bijlage (2) gerechtvaardigd is.

Voor verdere details met betrekking tot de ethische verwijst de DEC graag naar het advies dat voor de oorspronkelijke projectaanvraag geformuleerd is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...

De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



10.2 .e. en g.

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93118
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2 .e. en g. 20173927-2

Datum 3 mei 2019
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen

1

Geachte 10.2 .e. en g.

Op 18 maart 2019 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Healthy Life: Transition Dairy Cow" met aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g. 20173927, waarvoor op 2 januari 2018 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g. 20173927-2. Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u een Bijlage Dierproeven toe te voegen. Wij hebben uw wijzigingsaanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij wijzen uw wijzigingsaanvraag toe. Dit betekent dat het op grond van artikel 10a, lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) is toegestaan de in de wijzigingsaanvraag beschreven dierproeven onder de vergunning voor het project "Healthy Life: Transition Dairy Cow" uit te voeren. Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Procedure

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht (hierna: de DEC). Dit advies is opgesteld op 4 april 2019. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC. Wij nemen dit advies van de DEC over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Nadere vragen aanvrager

Op 11 april 2019 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op een nieuwe NTS, waarin het gewijzigde is aangegeven, waarin alle handelingen zijn beschreven en zonder onduidelijke of Engelse woorden. Uw antwoord is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Op grond van de bovenstaande stukken zijn wij van mening dat de toe voegen dierproeven toelaatbare wijzigingen betreffen van het project, waarvoor op 2 januari 2018 een vergunning is verleend.

Vergunning

Uw vergunning wijzigt als volgt (wijzigingen cursief gedrukt):

Datum
3 mei 2019

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.1 Longitudinal Experimental Design	Runderen (Bos taurus) / Holstein-Friesian melkkoeien	<i>500</i> 400	35,0% Matig 65,0% Licht

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD-20173927-2

Aan de vergunning worden de volgende dierproeven toegevoegd:

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.2 Transition Characterization Experiment	Runderen (Bos taurus) / Holstein-Friesian melkkoeien	12	100% matig

Voor het overige blijft de vergunning ongewijzigd.
U dient deze brief toe te voegen bij uw oorspronkelijke vergunning.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen. Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC, Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

Drs. F. Braunstam

Bijlagen

- DEC-advies



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> KvK-nummer: <input type="text" value="10.2.e.eng"/>
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> Postbus: <input type="text" value="10.2"/> Postcode en plaats: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> <input type="text" value=""/> IBAN: <input type="text"/> Tenaamstelling van het rekeningnummer: <input type="text"/>
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw. Functie: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> Afdeling: <input type="text"/> Telefoonnummer: <input type="text"/> E-mailadres: <input type="text"/>
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters: <input type="text"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw. Functie: <input type="text" value="10.2.e.eng"/> Afdeling: <input type="text"/> Telefoonnummer: <input type="text"/> E-mailadres: <input type="text"/>

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | | |
|-----------------------------|--|--|
| (Titel) Naam en voorletters | | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | | |
| Afdeling | | |
| Telefoonnummer | | |
| E-mailadres | | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- | |
|---|
| <input type="checkbox"/> Ja > Stuur dan het ingevulde formulier <i>Melding Machtiging</i> mee met deze aanvraag |
| <input type="checkbox"/> Nee |

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- | |
|---|
| <input type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3 |
| <input checked="" type="checkbox"/> Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2 |
| AVD 20172725 |
| <input type="checkbox"/> Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3 |
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- | |
|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier |
| <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3 |
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- | |
|--|
| <input type="checkbox"/> Nee > Ga verder met vraag 3 |
| <input type="checkbox"/> Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6 |

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|---------------|
| Startdatum | 1 - 9 - 2017 |
| Einddatum | 31 - 8 - 2022 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- | |
|--|
| Research and Development of new horse vaccines |
|--|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- | |
|---|
| Onderzoek en ontwikkeling van nieuwe paardenvaccins |
|---|
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--|
| Naam DEC | |
| Postadres | |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € Lege Wijziging € 884 Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. Via een eenmalige incasso Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
-

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening



Form Project proposal

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

1 General information

1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.

10.2 .e. en g

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

10.2 .e. en g

1.3 Provide the title of the project.

Research and Development of new horse vaccines

2 Categories

2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.

Basic research

Translational or applied research

Regulatory use or routine production

Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare

Research aimed at preserving the species subjected to procedures

Higher education or training

Forensic enquiries

Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Rationale

Equestrianism is a popular and diverse sport that extends from amateur participation to international competition. The horse industry includes among others riding schools, livery yards, competition yards, trekking centres, studs, trainers, welfare charities, veterinary services and farriers, as well as the associated consumer business (horse related goods and services for example food, riding gear, ect). Most horse governing bodies require that a horse has an up to date vaccination record card in order to race, enter competitions, affiliated shows or studs. This minimises the risk and spread of infectious diseases in situations where horse to horse contact is high. Also horses are important companion animals like cats and dogs and vaccination is perhaps the single most important measure that can be taken to ensure these animals remain healthy. Therefore we are continually working to improve and extend the available horse vaccines portfolio.

Disease causing organisms continue to evolve, becoming more or perhaps less pathogenic. As new virus strains appear it is important to determine whether vaccines continue to provide the necessary protection. The factors which govern how the pathogenicity changes are complex and not completely understood. For example **102 e eng 101 cen 102 g** viruses constantly evolve through point mutations in the genome leading to an eventual breakdown in natural/vaccine-induced immunity and sporadic epidemics in susceptible horses. As a result, it is important that vaccines are frequently updated to ensure that they contain the most antigenically relevant strains. We therefore need to be able to investigate such concerns when they arise and, if necessary, develop improved vaccines.

The two key requirements of any vaccine are (i) that it is safe, and (ii) that it is efficacious. Vaccination is a medical treatment that is administered to healthy individuals. Therefore apart from perhaps some transient minor discomfort it is important that no harm is done. With regard to efficacy, unless a vaccine can be shown to have benefit in providing significant protection from disease and/or infection, its use cannot be justified. In addition, it is important that vaccines are "updated" to take account of the changes occurring in circulating field strains resulting requiring new vaccines or improvement of vaccines that are already on the market.

Vaccine development

The generation of veterinary vaccines can be divided into two basic phases: a research phase and a development phase. The aim of the research phase is to identify new pathogens or expand the knowledge of a known pathogen, and design and test candidate vaccines. Knowledge of the pathogen is used to assess possible protective antigens and/or live vaccine candidates that are tested in feasibility studies to investigate which level of efficacy and safety can be attained. This will indicate if a candidate vaccine can fulfil the efficacy and safety requirements that have been laid down in EU directives, the Pharmacopoeia European (Ph.Eur) and guidelines and regulations of the European Medicines Agency and other international regulatory bodies.

Once a vaccine candidate has been identified that can fulfil the required efficacy and safety criteria (in the research phase), the development phase can begin. The formulation of the potential vaccine has been determined at this point and animal studies are performed that will be part of the registration dossier that is submitted to the regulatory authorities. Several batches of the new vaccine need to be produced and quality controlled to commercial/regulatory standards in order to meet the requirements of the regulatory authorities by providing safety and efficacy data of these batches. Once the registration dossier has been submitted, additional studies may be requested by the regulatory authorities during the licensing procedure.

For some vaccines, registration and launch of the product is not necessarily the end of the R&D input. In some cases there is continued development and improvement of vaccines that are already on the market to come to an updated or improved product. This can involve improvements to production processes and/or associated QC methodologies, changes in vaccine formulation, testing compatibility with other products (either our own products or of a competitor) or novel application routes.

For horse, outbreaks of [redacted] are to be expected, as well as outbreaks of [redacted] proposal. Therefore, this project proposal focusses on [redacted] development of [redacted] vaccines [redacted] of the [redacted] vaccine [redacted]. The project proposal covers the research and development phase of new vaccine development for horses including vaccines against [redacted] vaccines including [redacted] and [redacted] of vaccines already [redacted]

Regulatory Requirements

The requirements for the development of veterinary vaccines are set out in a series of monographs published in the European Pharmacopoeia. There are general monographs outlining the studies required to demonstrate safety and efficacy of veterinary vaccines (5.2.6 and 5.2.7). In addition there is a specific monograph for an inactivated [redacted] (inactivated) and an inactivated [redacted] (inactivated). Whilst there is no specific monograph for an [redacted] vaccine there is one for a veterinary [redacted] vaccine in general [redacted] vaccine for veterinary use) and therefore regulators will use this as a guide when assessing group sizes for studies. These monographs set out the parameters which should be addressed such as reversion to virulence, safety after administration of an overdose and repeated dose of vaccine. They also indicate minimum group sizes, minimum duration of studies and the (minimal) levels of clinical signs in (non-vaccinated) control animals.

Diseases within the horse vaccine development project

[redacted]

[redacted]

[redacted]

10.1 c en 10.2 g

10.1 c en 10.2 g

The company has developed and licensed a range of (combination) vaccines against the major pathogens: Equilis Prequenza (EIV), Equilis Prequenza-Te (EIV and tetanus), Equilis StrepE (Strangles (*S. equi equi*)) and Prevaccinol (EHV-1), Equilis Tetanus, Equilis West Nile.

R&D projects and historical progress

The Equilis® range was successfully brought to the market and one could argue that no further work is needed once a vaccine against a certain pathogen has been developed. However, in reality the [redacted] of the [redacted] vaccine [redacted] is a [redacted] process. The company aims to [redacted] to become more efficacious, have fewer side-effects, make the application more practical, less stressful for the animal, improve the welfare of animals, more cost-effective and [redacted] with the field situation a welfare considerations. For instance, [redacted] vaccines [redacted] of injections that [redacted] to [redacted] Development o [redacted]) vaccines that are [redacted] with the [redacted] products is one of the main focusses of the [redacted]

3.2 Purpose

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

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

As no [redacted] are to be expected, this project focusses on the [redacted] of the [redacted] horse vaccine [redacted]. Therefore, many of the in vitro and in vivo tests used for research and development of the [redacted] horse vaccine [redacted] can also be used for the [redacted] of [redacted] vaccines. However, [redacted] test are needed and need to be set-up using part of the existing tests, for example in vitro tests for identification of other [redacted] virus strains, and set-up of challenge models with [redacted] other virus field strains. Since many existing tests can be used and some [redacted] tests have to be set-up using part of the existing tests research and development are not separate phases in this project. Therefore, in this project we chose to combine research and development in one project proposal.

The main objectives of the project are:

- 1) To [redacted] the [redacted] horse vaccine [redacted] response to [redacted] in the field. For these purposes the focus will be on the development of [redacted] horse [redacted] vaccine as a response [redacted] or [redacted] in the field as described above.
- 2) To use (antigenic components of) pathogens or other disease agents (e.g. toxins) for immunization of laboratory animals to generate antibodies and antisera. These antibodies and antisera can be used to set up immunological/serological assays for the detection and/or quantification of the antigen/pathogen (e.g. ELISAs, haemagglutination assay, immunohistochemistry) or for reduction and/or replacement of challenge studies (e.g. haemagglutination inhibition assay). The outcome of the objective is induction of antibodies suitable for the set-up of immunological/serological assays for detection/quantification purposes and reduction/replacement of challenge studies.
- 3) To [redacted] pathogens or disease agents [redacted] and expand the knowledge [redacted] pathogens or disease agents to be able to develop and test candidate vaccines against these [redacted] pathogens or disease agents and to develop [redacted] vaccines. The outcome of this research is [redacted] pathogen, disease agent and/or [redacted] vaccine.
- 4) As part of development of [redacted] vaccines: To generate the efficacy and safety data to be included in marketing authorization applications (registration dossiers) for [redacted] horse vaccines. The [redacted] vaccines will have already shown proof of concept (i.e. induction of protection combined with an acceptable safety profile) in the research phase of vaccine development, and the studies to be undertaken are needed to fulfil the regulatory requirement. The outcome of the objective is the licensing of [redacted] vaccines that fulfil important needs in the field.
- 5) As part of [redacted] vaccine registrations: To generate new efficacy and/or safety data needed to [redacted] registration dossiers. When [redacted] are made to active ingredients or additional efficacy claims need to be [redacted] to a licensed vaccine or [redacted] of licensed vaccines [redacted] needs to be submitted, current

registration dossiers may have to **10.1 c en 10.2 g** by **10.1 c en 10.2 g** of new efficacy and/or safety studies. The outcome of the objective is a successful registration **10.1 c en 10.2 g** vaccines.

3.3 Relevance

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

Vaccines are the most effective method for prevention or eradication of diseases. Further **10.1 c en 10.2 g** **10.1 c en 10.2 g** of the **10.1 c en 10.2 g** vaccine **10.1 c en 10.2 g** will bring safer, more efficacious vaccines, including vaccines against **10.1 c en 10.2 g**. Also, **10.1 c en 10.2 g** diseases can be encountered more effectively, **10.1 c en 10.2 g** vaccination **10.1 c en 10.2 g** (injections), when vaccines are developed that can be **10.1 c en 10.2 g** or **10.1 c en 10.2 g** vaccines, or even in **10.1 c en 10.2 g** products. The prospects are that the new vaccines will further reduce animal suffering and increase animal welfare and healthcare for horses, will reduce the use of antibiotics and the world wide problem of resistance against available antibiotics and will lead to reduced losses in horse industry.

3.4 Research strategy

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

Since many existing tests can be used and some new tests have to be set-up using part of the existing tests the research and development phases are not separate phases in this project. Therefore this project proposal covers both the research and development phase of new vaccine development.

Studies for the development of a vaccine can roughly be divided into several aspects blending both research and development phases together:

- 1) Experiments to show that a (**10.1 c en 10.2 g**) microorganism or virus is pathogenic. For this purpose, horse infection studies have to be undertaken to fulfil Koch's postulates. These infection studies form the basis for a horse infection model that will be used to test the efficacy of vaccine candidates (vaccination-challenge studies).
These studies are performed in the research phases.
- 2) Fine-tuning of infection/disease (challenge) model. Before the efficacy of vaccine candidates can be tested (in vaccination-challenge studies) a horse challenge model needs to be set up. Such a challenge model is needed to be able to show that a vaccine is capable to prevent or significantly reduce infection and/or clinical disease. For vaccines against some pathogens or disease agents (e.g. toxins), the challenge model that has to be used is prescribed in a monograph of the Ph.Eur or other regulations for vaccine development.
These studies are mainly performed in the research phases, but according to the criteria of the development phase (prescribed in regulations for vaccine development).
- 3) Efficacy studies. To determine the efficacy of a vaccine requires that horses are 'challenged', that is to say that they are exposed to the virulent organism or disease agent against which the vaccine is targeted. For vaccines against some pathogens or disease agent the specific efficacy criteria that have to be fulfilled are prescribed in a monograph of the Ph.Eur or other regulations for vaccine development. When doing efficacy studies, it is attempted to find an immunological correlate of protection, so that in further studies efficacy can be evaluated on the basis of e.g. the serological response after vaccination instead of challenge.
In the research phase orientating efficacy studies are performed with several vaccine candidates to select a vaccine candidate for further development. In the development phase this selected candidate is tested in full scale efficacy studies.
- 4) Safety studies. Safety of vaccine candidates has also to be evaluated in horses to show that systemic and local (injection site) reactions after vaccination, if any, are acceptable. For vaccines against some pathogens or disease agents, the specific safety criteria that have to be fulfilled are prescribed in a monograph of the Ph.Eur or other regulations for vaccine development. For each new vaccine, a risk-benefit analysis has to be made and the aim is to induce as little as possible discomfort by vaccination.
In the research phase orientating safety studies are performed with several vaccine candidates to select a vaccine candidate for further development. In the development phase this selected candidate is tested in full scale safety studies.

In the research phase safety and (serological) efficacy parameters are measured simultaneously in combined orientating efficacy and safety studies.

At the start of the development phase of a new vaccine, it is decided in which area(s) of the world the product is intended to be licensed. This will determine in detail which types of studies have to be performed to satisfy local regulatory requirements. Also at that time the minimum vaccination age, the vaccination schedule and the intended label claims are set. Registration dossiers need to contain a comprehensive set of efficacy and safety studies in the target and non-target animal to allow regulatory bodies to make a sound risk-benefit analysis that is the basis for their decision on the marketing approval of a new product. Therefore, all studies have to be performed with the formulation to be marketed and all production and quality controls methods should be finalized before start of the studies. In addition, results of laboratory safety and efficacy studies will have to be provided to authorities in order to be able to obtain a permit for the field studies (which are outside the scope of this project) that are to be included in the dossier. During the evaluation of the registration dossier, additional animal studies may be requested by the regulatory authorities.

Similarly, when **10.1 c en 10.2 a** the characteristics of a licensed vaccine, e.g. for showing compatibility with another product (either our own or from a competitor) or protection against a new serotype of the pathogen, the number of studies required depends on the regulations and guidelines for registration variation procedures.

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

The research and development of a **10.1 c en 10.2 g** vaccine will consist of one or more of the following types of animal experiments (described in detail in appendices 1 through 5).

1. Refinement of infection/disease (challenge) model: (research phase)

An infection/disease (challenge) model for a pathogen or disease agent (e.g. toxins) will be developed based on the scientific literature or a Ph.Eur monograph (if available) and the experience with other pathogens or disease agents within the company. In a model, it will be attempted to reproduce the clinical signs that are associated with a certain disease or syndrome. A challenge model will allow assessment of the efficacy of vaccine candidates under controlled laboratory.

Studies to refine a challenge model will have the following set-up:

- Challenge = Administration of a **10.1 c en 10.2 a** pathogen or other disease agent (e.g. toxins)
- Observation of clinical signs post infection/sampling (e.g. for shedding of the pathogen)
- Necropsy to investigate **10.1 c en 10.2 g** changes

The degree of discomfort will depend on the nature of the pathogen or disease agent involved as the infection model is supposed to mimic the natural disease as much as possible.

2. Efficacy studies: (research and development phase)

The efficacy of candidate vaccines against a pathogen/disease agent will be evaluated using a challenge model under controlled laboratory conditions. In the research phase orientating studies with several vaccine candidates will be done from which a selected vaccine candidate (with final formulation) will be used in full scale efficacy studies in the development phase. For all efficacy claims (e.g. protection against infection/disease, reduction of clinical signs, reduction of shedding, onset and duration of immunity) of a **10.1 c en 10.2 g** product, proof should be provided with a meaningful and statistical significant difference between vaccinated animals and unvaccinated controls in an challenge model (vaccination-challenge studies).

During efficacy studies attempts will be made to find a correlation between protection and the induced immune response (e.g. antibody titers or amount of in vitro virus neutralisation). When such a correlate of protection is found, candidate vaccines can be tested on the basis of this correlated response instead of by challenge.

Studies will be performed according to the following basic set-up:

- Administration of a candidate vaccine
- Monitoring responses (e.g. blood sampling)/persistence (e.g. shedding of vaccine strain) in case of a live vaccine

If no correlate of protection is available:

- Challenge with a pathogen or disease agent
- Observation of clinical signs post challenge (e.g. for shedding of the pathogen)
- Necropsy to investigate **10.1 c en 10.2 g** changes

The degree of discomfort due to vaccination and sampling is small (routinely veterinary care) and a moderate discomfort may occur in case of repeated sampling. A moderate to severe discomfort may occur after challenge, but at a lower level in vaccinated than in unvaccinated animals.

3. Safety studies: (research and development phase)

To be able to make a proper risk-benefit analysis for a **10.1 c en 10.2 g** product, all vaccines have to be tested in safety studies in the target animal. This generally means observation for abnormal systemic (clinical signs, body temperature, appetite, etc.) and local (injection site) reactions after administration. Live vaccines have to be shown not to induce disease or reverse in virulence and spread to unvaccinated animals and persistence and dissemination in vaccinated animals has to be evaluated. For vaccines that are intended to be given to pregnant animals, also the effect on reproductive performance will be investigated. In the research phase orientating studies with several vaccine candidates will be done from which a selected vaccine candidate (final formulation) will be used in full scale safety studies in the development phase.

For live vaccines that are derived from a pathogen with a broad host range and/or zoonotic potential, it is necessary to also investigate the safety for non-target species that may come into contact with the vaccine. These studies are performed in the development phase.

Studies will be performed according to the following basic set-up:

- Administering the candidate vaccine
- Observation of systemic and local reactions post vaccination
- Monitoring of persistence and excretion of the vaccine by sampling of blood, excretions and mucosal swabs (live vaccine only)
- Necropsy to investigate **10.1 c en 10.2 g** changes at the injection site and re-isolation of the vaccine

The degree of discomfort due to vaccination and sampling is small (routinely veterinary care) and a moderate discomfort may occur in case of repeated sampling.

4. Set-up immunological/serological assays: (research and development phase)

To set-up assays that can help to detect and/or quantify antigens/pathogens (e.g. ELISAs, haemagglutination assay, immunohistochemistry) or to reduce and/or replace challenge studies (e.g. potency tests) it may be necessary to use laboratory animals for the preparation of antisera or antibodies if the required reagents are not available. These studies are mainly performed in the research phase. For each new vaccine, batch tests for the quantification and identification of the active ingredients are required to verify the consistency of the manufacturing process and the quality and stability of the final product. Preferably, in vitro tests are used for batch testing, but in case an in vitro test is not possible (e.g. correlation between vaccine dose and protection/response is (still) unknown), a serological assay in laboratory animals will have to be set up. In a mandatory batch potency test in laboratory animals is prescribed. These studies are mainly performed in the development phase.

Immunization experiments of laboratory animals will generally be as follows:

- Administration of antigen/pathogen
- Collection of blood

As laboratory animals are only used to prepare serum, discomfort will be mild or moderate depending on the number of injection/sampling moments.

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

To test the feasibility of vaccine development against a (**█**) pathogen or disease agent (e.g. toxins), the sequence of experiments is the following:

1. It is attempted to refine (set up) a challenge model.

Without a challenge model for a known pathogen/disease agent efficacy studies cannot be undertaken unless there is already a known correlate of protection. Once a challenge model or known correlate of protection is available the next step can be undertaken. Go/no-go: the next step will not be started if a challenge model or other known correlate of protection is not in place since vaccine efficacy cannot be tested without one of those. Also if a potential pathogen fails to fulfil Koch's postulates vaccine development will be stopped.

2. Perform orientating safety/efficacy study.

This may take several rounds of studies to test a number of vaccine candidates. Once a candidate vaccine has proven to be able to fulfil the required efficacy and safety criteria (proof of concept), the new prototype vaccine can be move to the development phase. Go/no-go: vaccine candidates that do not fulfil the required efficacy and safety criteria will not move to the development phase in the next step.

3. Studies in laboratory animals for assay development.

These will only be undertaken if the right immunological reagents are not (commercially) available and/or when a correlate of protection has to be shown (e.g. to develop an in vitro batch potency test instead of an in vivo batch potency test). Potency testing in laboratory animals (according to Ph.Eur monographs) will only be done in case a prototype vaccine has been shown to be safe and efficacious. Go/no-go: if suitable immunological reagents are available and there is no need to validate a new in vitro potency test against an in vivo test in laboratory animals no in vivo studies for assay development will be performed.

To license a new vaccine the new prototype vaccine is moved into the development phase where all studies done to obtain regulatory approval for horse vaccines are mandatory. Go/no-go in case of updates of licensed vaccines: if regulatory in vivo studies from the dossier of a licensed vaccine can/may be used in the regulatory approval trail of an update of the licensed vaccine, these in vivo studies will not be repeated.

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Optimization of challenge models in horse
2	Efficacy studies in horse
3	Safety studies in horse
4	Safety studies in non-target animals
5	Studies in laboratory animals for assay development
6	
7	
8	
9	
10	

Format DEC-advies

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer **AVD** 10.2 .e. en g **20172725-7**
2. Titel van het project: **Research and Development of new horse vaccines**
3. Titel van de NTS **Onderzoek en ontwikkeling van nieuwe paardenvaccins**
4. Type aanvraag: **amendement aanvraag projectvergunning**
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC 10.2 .e. en g
 - telefoonnummer contactpersoon 10.2 .e. en g
 - e-mailadres contactpersoon 10.2 .e. en g 10.2 .e. en g
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj): **amendement 7**
 - ontvangen door DEC **17-9-2020**
 - aanvraag compleet **ja**
 - in vergadering besproken **n.v.t.**
 - anderszins behandeld (**schriftelijk behandeld**)
 - termijnonderbreking(en) **van 1-10-2020 tot 8-10-2020**
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag
 - advies aan CCD **19-10-2020**
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. **Ja**

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.

8. Eventueel horen van aanvrager nvt
 - Correspondentie met de aanvrager **voor het amendement no 7**
 - Datum **1-10-2020**
 - Gestelde vraag/vragen **zie onder**
 - Datum antwoord **8-10-2020**
 - Verstrekt(e) antwoord(en) **zie onder**
 - De antwoorden hebben **wel** geleid tot aanpassing van de aanvraag

Vragen n.a.v. het amendement (7):

1. Kunt u onderbouwen waarom u 200 additionele fretten nodig heeft voor de validatie? Dat lijkt veel voor een validatie. Ligt hieraan een statistische onderbouwing ten grondslag? Ook zijn we benieuwd naar onderbouwing van het aantal van 38 fretten *for set-up of the tests*. Gerelateerd hieraan: bij het testen van iedere vaccinbatch wordt één extra fret meegenomen i.v.m. mogelijke uitval. Wat is hiervan de reden?

Zoals aangegeven in bijlage 5 is het aantal dieren per groep gebaseerd op de Ph.Eur waarin vermeldt staat dat er minimaal 5 dieren per groep gebruikt moeten worden. Om te zorgen dat door onverwachte uitval van een dier de hele test invalide wordt gebruiken wij 6 dieren per groep. Hierop is het grootste deel van de aanvraag van de dieren gebaseerd.

Onderbouwing voor 38 fretten voor set-up of tests:

Dit stuk is bedoeld voor het opzetten van een potency test voor ontwikkeling van een nieuw 10.1 c en 10.2 g vaccin. Op dit moment is het niet duidelijk of fretten 1x of 2x gevaccineerd moeten worden om een goede reactie in deze potency test te krijgen. Dat zal eerst kleinschalig worden bekeken met 2-4 dieren per groep. Pas als dit duidelijk is zullen we er een laatste test met 6 dieren per groep worden uitgevoerd als bevestiging dat de test werkt.

Een deel van de dieren (n=4) is al gebruikt voor een eerste kleinschalige test waaruit bleek dat fretten een bruikbaar model lijken te zijn. Vanuit hier willen we nu verder werken.

Onderbouwing voor overige aangevraagde dieren:

Een deel van de dieren (n=76) is al gebruikt voor onderzoek naar de 10.1 c en 10.2 g vaccin. Uit dit onderzoek is gebleken dat 10.1 c en 10.2 g vaccin nog goede bescherming biedt tegen 10.1 c en 10.2 g en dat 10.1 c en 10.2 g niet nodig is. Het kan zijn dat er meer wetenschappelijk bewijs hiervoor moet worden aangeleverd en dat er bij nieuwe veldstammen opnieuw wetenschappelijk bewijs moet worden aangeleverd. Hiervoor zullen er dan minimaal 6 dieren per groep worden gebruikt en minimaal 2 groepen per studie (1 gevaccineerde groep en 1 ongevaccineerde controle groep). Waar mogelijk worden zoveel mogelijk studies gecombineerd om zo min mogelijk dieren te hoeven gebruiken. Naar schatting zal het binnen deze licentie om 38 dieren gaan.

Zodra bewezen is dat de potency test voor 10.1 c en 10.2 g bruikbaar is, moet deze gevalideerd worden. Hiervoor schatten wij 4 batches nodig te hebben (4x6 dieren = 24 dieren).

Na validatie van de test zullen er verschillende vaccin batches getest worden in fretten. Dezelfde vaccin batches zullen worden getest in vitro om zo de link tussen in vitro en in vivo in fretten aan te kunnen tonen. Dit zijn o.a. batches die in alle registratie studies in paarden worden gebruikt om zo de link tussen in vitro, in vivo in fretten en in vivo in paarden aan te kunnen tonen. Dit zijn 6 batches ((6 batches + 1 controle groep) x6 dieren = 42 dieren). Andere batches die getest moeten worden o.a. batches waarbij verschillende productieprocessen zijn gebruikt voor optimalisatie van het vaccin productieproces en stability batches voor registratie doeleinden als versterking van de link tussen in vitro data en in vivo data. Dit om aan te tonen dat de in vivo potency test in fretten kan worden vervangen door een in vitro potency test. Naar schatting zal het hier gaan om 11 batches ((11 batches + 2 controle groep) x6 dieren = 78 dieren) Gezamenlijk komt dit op een schatting van 258 dieren.

2. U geeft aan dat er geen muizen meer nodig zijn voor de productie van monoclonale antilichamen. Zijn de eerste 100 muizen van de 200 hiervoor al gebruikt en is het nu voldoende? Of ligt het anders? In de tekst van bijlage 5 wordt onder A nog verwezen naar de productie van monoclonale antistoffen en

zijn nog 100 muizen opgevoerd. Voor welke doeleinden worden deze dieren dan gebruikt?

Op moment dat de vergunning geschreven werd er van uitgegaan dat er voor de verschillende pathogenen monoclonale antistoffen geproduceerd zouden moeten gaan worden voor het opzetten van in vitro testen.

Echter voor 10.1 c en 10.2 g lijken de 3 monoclonale antistoffen die in opslag lagen tot zo ver bruikbaar te zijn voor de in vitro testen die we nodig hebben voor de ontwikkeling van een nieuw vaccin. Het zou kunnen zijn dat er nog 1-2 aanvullend monoclonaal antilichaam ontwikkeld moet worden, omdat sommige van de beschikbare monoclonale antilichamen niet goed werken in de in vitro testen waar QC de voorkeur aan geeft.

Daarnaast was het de bedoeling om 10.1 c en 10.2 g vaccin 10.1 c en 10.2 g naar maatstaven gesteld door de OIE. Door recente ontwikkelingen hebben we aan kunnen tonen dat het huidige vaccin nog prima bescherming biedt tegen 10.1 c en 10.2 g en is 10.1 c en 10.2 g niet nodig.

Ontwikkeling van vaccins 10.1 c en 10.2 g in de vergunning is pas gepland 10.1 c en 10.2 g

De muizen zullen gebruikt worden voor het ontwikkelen van monoclonale antistoffen. Ze kunnen niet gebruikt worden voor vaccin testen, omdat het 10.1 c en 10.2 g wat in de huidige 10.1 c en 10.2 g gebruikt wordt toxisch is voor muizen, 10.1 c en 10.2 g.

Dit alles was voor ons aanleiding om het aantal muizen zoals aangevraagd naar beneden bij te stellen en er op dit moment ook nog geen muizen uit bijlage 5 zijn gebruikt.

3. Ook algemener: wat is in appendix 5 de onderbouwing van alle aantallen proefdieren? Kunt u daar iets meer over zeggen?

De onderbouwing van de aantallen proefdieren is gebaseerd op hoeveelheden die in het verleden zijn gebruikt voor 10.1 c en 10.2 g in de vergunning voor o.a. het opzetten van testen, ontwikkelen van monoklonale antilichamen en voor vrijgifte testen van vaccin batches. Dit is verrekend voor een periode van 5 jaar.

De DAP 5 en NTS zijn voor het amendement (7) aangepast door de antwoorden hierboven er in op te nemen.

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) n.v.t.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

In rood de antwoorden en toevoegingen voor specifiek dit amendement

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? **Ja**
2. De aanvraag betreft een **wijziging**.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? **Ja**
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom. **Er zijn geen DEC-leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.**

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*). Deze aanvraag heeft een concrete doelstelling: "Research and Development of new horse vaccines". Het project heeft betrekking op dierstudies waarin onderzoek gedaan wordt naar bekende ziekteverwekkers bij paarden om vervolgens een kandidaat vaccin te ontwikkelen en te testen (research fase). Dit kan gaan om een vaccin dat beter is afgestemd op de eigenschappen van een ziekteverwekker en dus betere bescherming biedt, maar ook om een vaccin waarvan de toedieningsroute of de samenstelling verbeterd is. Als in de researchfase is vast komen te staan dat het verbeterde vaccin in principe kan voldoen aan de eisen met betrekking tot veiligheid en werkzaamheid start de ontwikkeling tot een leverbaar product. Hierbij worden studies gedaan met het vaccin om aan de eisen voor Europese en internationale productregistratie te voldoen (development fase). Voor alle experimenten in de development fase geldt dat de wijze van uitvoering ofwel is vastgelegd in richtlijnen die zijn opgesteld door de registratie-autoriteiten (bijvoorbeeld de PhEur), ofwel in overleg met die autoriteiten wordt bepaald. Het betreft experimenten die data opleveren over de werkzaamheid en veiligheid van de vaccins, zowel voor de doeldieren als voor dieren die met de paarden in contact zouden kunnen komen. De beschreven dierproeven zijn duidelijk wat betreft de uit te voeren handelingen en daarmee gepaard gaande ongerief voor het individuele dier. De eenvormigheid qua design en het routinematige karakter van de beschreven safety en efficacy studies, ongeacht de ziekteverwekker die het betreft en ongeacht de fase waarin het product zich bevindt (research dan wel development), is volgens de DEC één van de redenen waarom dit project als een toetsbare eenheid kan worden beschouwd. In de overgrote meerderheid van de gevallen zijn het de experimentele procedures, en niet de aard van de ziekteverwekker of het antigeen, die de mate van welzijnsaantasting van de proefdieren bepalen. **De gevraagde aanpassingen voor de vergunningen geven geen aanleiding af te wijken van bovenstaande.**
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet). Voor zover bekend bij de DEC zijn er geen aspecten in de aanvraag die niet in overeenstemming zijn met andere wet- en regelgeving. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. De DEC is van mening dat de genoemde doelcategorieën "translationeel" en "wettelijk vereist" aansluiten bij de hoofddoelstelling. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*). Het directe doel van het project is het doen van onderzoek naar vaccins voor paarden en het verzamelen van data met betrekking tot die vaccins waarmee een dossier kan worden opgebouwd dat de aanvrager nodig heeft om ze te kunnen registreren en op de markt te kunnen brengen. Het uiteindelijke doel is het verder reduceren of voorkomen van infecties bij paarden door nieuwe of verbeterde vaccins op de markt

te brengen. Er is een reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*). De belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn de proefdieren, de aanvrager en de doeldieren (paarden) en hun eigenaren. De proefdieren in het project zullen verschillende niveaus van ongerief ondergaan, waardoor hun welzijn wordt aangetast. De uiteindelijke doeldieren zal veel stress en ongerief bespaard blijven, omdat de vaccins bescherming tegen infecties zullen bieden. De aanvrager heeft een aanzienlijk economisch belang bij het op de markt kunnen brengen van vaccins voor paarden. Ook de eigenaren die hun dieren laten vaccineren hebben een aanzienlijk belang bij het beschikbaar komen van goede vaccins tegen een gunstige prijs. Verder zullen eigenaren het beschermen van hun dieren tegen infecties beschouwen als een onderdeel van hun zorgplicht voor een dier waar ze een sterke band mee hebben. Paarden worden ingezet bij tal van activiteiten en evenementen waarbij zij in contact komen met veel andere paarden. Veel paarden reizen over grote afstanden (intercontinentaal) om deel te kunnen nemen aan wedstrijden. Het risico dat besmettelijke aandoeningen zich snel verspreiden is reëel. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**
6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen. Er is geen sprake van substantiële milieueffecten. Bij het onderzoek met ziekteverwekkende micro-organismen wordt gewerkt in overeenstemming met de geldende wet- en regelgeving voor inperking van deze organismen. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*). De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en infrastructuur beschikt om de doelstelling van het onderzoek binnen de gevraagde termijn te realiseren. Dit wordt ondersteund door het feit dat de aanvrager al eerder succesvol vaccins voor paarden heeft ontwikkeld. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**
8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*). De DEC is van mening dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Het onderzoek wordt voor een groot deel uitgevoerd in het doeldier, met uitzondering van de dierproeven in bijlage 4 waar in twee andere relevante diersoorten, die met de gevaccineerde paarden in contact zouden kunnen komen, de veiligheid voor die soorten onderzocht zal worden. De aanvrager heeft zeer veel ervaring met dit type dierproeven. **De wijziging is aangevraagd omdat de onderzoekers meer fretten nodig hebben (200 meer), minder muizen (-100) en geen kippen voor de rest van de looptijd van deze vergunning. Als reden is opgegeven dat de onderzoekers bezig zijn met de ontwikkeling van een *in vitro* batch**

potency test voor een equine [10.1 c en 10.2 g]. Deze test zal uiteindelijk gebruikt worden om de hoeveelheid antigeen in een geproduceerde *vaccine batch* te bepalen en zo deze batch vrij te kunnen geven voor de markt conform de wetgeving voor vrijgifte van vaccins (Ph.Eur algemene of vaccin specifieke monograaf). Hiervoor moet eerst de uitkomst van de in vitro-test worden gecorreleerd aan de response in vivo conform de wetgeving voor vrijgifte van vaccins.

De response in fretten blijkt uit een eerdere dierexperiment goed overeen te komen met de response in paarden (= doeldier voor het equine [10.1 c en 10.2 g]). Dit was niet het geval in kippen, en daarom wil onderzoeker voor het opzetten van deze *in vitro potency test* gebruik maken van fretten. De fretten zullen vaccin/antigeen krijgen toegediend, maar niet worden gechallenged of geïnfecteerd. De ongeriefscore hiervoor is licht omdat de dieren worden gesedeerd voor iedere bloedafname. Aangezien dit vaker dan 1 keer zal gebeuren komt de ongeriefscore uiteindelijk uit op matig. Zodra de in vivo-response gecorreleerd is aan de in vitro-testresultaten zal de in vitro-test de in vivo-test geheel vervangen. Omdat kippen niet bruikbaar blijken te zijn voor de huidige projecten binnen appendix 5 van de vergunning en voor de looptijd van de vergunning geen doeleinde voorzien wordt voor het gebruik van kippen, wil men de kippen uit appendix 5 verwijderen.

Voor de in vitro-test zijn er al monoclonale antilichamen beschikbaar, waardoor deze niet hoeven te worden aangemaakt. Daarom kan het resterende deel van de muizen dat voor dit doeleinde bedoeld was worden vermindert uit appendix 5.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod), voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

De paarden worden gekocht van commerciële leveranciers. Dit is gebruikelijk bij experimenten met paarden. Er kan sprake zijn van hergebruik van paarden die eerder in een andere proef zijn geweest. Er worden geen dieren gebruikt die in eerdere experimenten ernstig ongerief gehad hebben.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken,

beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.

De te gebruiken dieren worden in principe gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen gesteld in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU. Wanneer de paarden in het kader van de experimenten worden gechallenged met ziekteverwekkers of worden gevaccineerd met een levend vaccin, dan worden ze gehuisvest in containment om te kunnen voldoen aan veiligheidsvoorschriften. Dit betekent dat ze niet naar buiten kunnen en maar beperkt bedding hebben. De DEC meent dat de noodzaak van de afwijkende huisvesting afdoende is onderbouwd. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

- 11.** Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). Het ongerief van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Voor het overgrote deel van de dieren in de veiligheidsstudies en in de werkzaamheidsstudies waarin gechallenged wordt met ziekteverwekkers die licht of matig ongerief veroorzaken (respectievelijk 39% en 50%) geldt dat het ongerief vooral bepaald wordt door de bekende routinematige procedures die deel uitmaken van deze experimenten: toediening van het vaccin, monsternames, toediening van de ziekteverwekker en observatie van symptomen. In een beperkt aantal gevallen is het nodig om de dieren in het kader van werkzaamheidsstudies te challengen met ziekteverwekkers die ernstige ziekteverschijnselen kunnen veroorzaken. Daarbij dient te worden aangetekend dat veel van de dieren die met deze ziekteverwekkers worden gechallenged naar verwachting beschermd zullen zijn door het te testen vaccin. Een ernstige aantasting van het welzijn zal zich zeer waarschijnlijk alleen voordoen in onbeschermdoedieren of dieren die door een lage dosis van het vaccin niet volledig beschermd zijn (maximaal 11% van het totaal aantal dieren in de aanvraag). De aard van deze verschijnselen is voor alle gangbare ziekteverwekkers bekend en in de loop van vele jaren zijn bij [10.2 a. eng](#) in nauwe samenspraak tussen onderzoekers, proefdierdeskundigen/IvD en de DEC strikte criteria voor humane eindpunten ontwikkeld. Voor alle dieren in de projectaanvraag geldt dat navolgbaar is in welk soort experiment zij zullen worden ingezet, welke handelingen ze zullen ondergaan en welke gevolgen dat heeft voor hun welzijn. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

- 12.** Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*). Elke dierproef vormt, door de vrijheidsbeperking en de aantasting van de lichamelijke integriteit voor instrumentele doeleinden, een aantasting van de integriteit van het dier. Het toedienen van vaccins, het afnemen van bloed en het toedienen van ziekteverwekkers en de gevolgen daarvan, kunnen natuurlijk beschouwd worden als een aantasting van de integriteit van de dieren, maar de DEC is van oordeel dat bij deze handelingen het ongerief (de welzijnsaantasting) op de voorgrond staat. De aantasting van de integriteit van de dieren is daarmee vergeleken beperkt. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

- 13.** Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage van de dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). De aard van de ziekteverschijnselen is voor alle gangbare ziekteverwekkers bekend en in de loop van vele jaren zijn bij [10.2 a. eng](#) in nauwe samenspraak tussen onderzoekers, proefdierdeskundigen/IvD en de DEC strikte criteria voor humane eindpunten ontwikkeld. Voor elk werkprotocol worden de humane eindpunten en de eindverantwoordelijkheid voor het toepassen daarvan, tot in detail afgestemd met de IvD. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag. Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. Paarden zijn in veel van de experimenten zowel proefdier als doeldier. Bij de opzet en uitvoering in de research fase wordt vaak noodzakelijkerwijs vooruitgelopen op de wettelijk verplichte experimenten die moeten worden verricht in het kader van de registratie van de vaccins. Van die laatste experimenten, die plaatsvinden in de development fase is het design in veel gevallen tot in detail door de autoriteiten voorgeschreven of in overleg met de autoriteiten afgesproken. Er is (nog) geen geaccepteerd vervangingsalternatief voor deze experimenten. Daar waar mogelijk wordt al gebruik gemaakt van in vitro experimenten. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).). Voor wettelijk vereiste experimenten liggen de aantallen te gebruiken dieren vast, terwijl wanneer dit niet het geval is, het aantal benodigde dieren in de experimenten statistisch berekend zal worden om niet te veel dieren te gebruiken maar wel voldoende om bruikbare conclusies te kunnen trekken en zo te voorkomen dat de experimenten opnieuw moeten worden gedaan. De aanvrager heeft op basis van eerdere ervaring met vergelijkbare vaccins in dit soort experimenten een realistische inschatting gemaakt van het aantal te gebruiken dieren. **De aantallen dieren die horen bij deze wijziging zijn voldoende onderbouwd, zie ook de gestelde vragen en antwoorden. Kippen worden gedurende de resterende looptijd niet meer gebruikt en het aantal muizen kon worden verminderd.**
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). De aard van de verwachte ziekte symptomen is voor deze ziekteverwekkers bekend en er zijn strikte criteria voor humane eindpunten ontwikkeld. Verder zullen er reagentia ontwikkeld worden om immunologische en serologische assays voor antigeen detectie en -kwantificering op te zetten. Tevens zal onderzocht worden of deze reagentia ook gebruikt kunnen worden om de challenge experimenten om te kunnen zetten in experimenten waarin op basis van analyse van bloedmonsters de werkzaamheid van een vaccin kan worden bepaald. Voor 10.1.c en 10.2.a is dit reeds geïmplementeerd. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. Het betreft unieke door 10.2.a. en g te ontwikkelen vaccins. 10.2.a. en g zal in alle fasen van het onderzoek de proeven zo ontwerpen dat ze voldoen aan wettelijke eisen voor markttoelating. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien

alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*; zie *bijlage I voor voorbeeld*).

Binnen dit project zullen in principe dieren van beide geslachten in de experimenten gebruikt worden. Daar waar richtlijnen het gebruik van een bepaald geslacht voorschrijven zullen de betreffende richtlijnen gevolgd worden. 10.1 c en 10.2 g

. In het geval van muizen verdient het (op grond van eerdere ervaringen) de voorkeur om alleen met vrouwelijke dieren te werken om vechten bij mannelijke dieren te voorkomen. De mannelijke dieren solitair huisvesten, zodra het vechten zich voordoet, is geen acceptabele oplossing, omdat het vaak langdurige experimenten betreft. Ook moeten alle dieren dan solitair gehuisvest worden om te voorkomen dat de spreiding toeneemt. Vechten kan verder leiden tot extra uitval van dieren en mislukken van de experimenten. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

- 19.** Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*). I

In het project zullen een aantal (maar niet alle) dieren worden gedood aan het einde van het experiment. De DEC is er van overtuigd dat dit alleen gebeurt als het voor de doelstelling noodzakelijk is om na afloop van de proef weefsels te isoleren of als de dieren met ziekteverwekkers of niet geregistreerde vaccins behandeld zijn en mogelijk een gevaar vormen voor hun omgeving of het milieu. De aanvrager gebruikt methoden die beschreven zijn in bijlage IV van de richtlijn 2010/63/EU. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

- 20.** Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. In alle gevallen waarin het niet noodzakelijk is om de gebruikte paarden te doden (zie criteria onder C19), wordt de mogelijkheid van hergebruik of herplaatsing actief onderzocht. In veel gevallen wordt dit ook gerealiseerd. **Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

NTS

- 21.** Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd? **De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en is duidelijk geformuleerd. Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*). **Rechtvaardigt het belang van de doelstelling van het project het ongerief dat de dieren wordt aangedaan, en is aan alle zorgvuldigheidseisen (3V's) voldaan?**
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale

en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

Voor het merendeel van de dieren (89%) die gebruikt worden in de voorgestelde experimenten leiden de experimenten tot licht of matig ongerief en een beperkte aantasting van hun integriteit. Als de werkzaamheid van de vaccins wordt getest kan dit voor een beperkt deel van de dieren (11% van het totaal) leiden tot ernstig ongerief, omdat in de infectieproeven en challengeproeven niet gevaccineerde (controle)dieren moeten worden meegenomen. De onderzoekers doen de challengeproeven slechts als er geen alternatief voorhanden is. De duur en de ernst van het ongerief worden door de onderzoekers zoveel mogelijk beperkt.

Daar staat tegenover dat beschikbaar komen van nieuwe of verbeterde vaccins tegen infectieziekten zal bijdragen aan het verminderen van de kans op het uitbreken van infectieziekten in de doeldieren. Dit bespaart grote aantallen dieren veel leed.

De aanvrager heeft een groot economisch belang bij het op de markt kunnen brengen van de te testen vaccins. Dierproeven in de doeldiersoorten zijn nodig voor het onderzoek naar de eigenschappen van de ziekteverwekkers en voor het ontwikkelen van vaccins.

De houders en eigenaren van de dieren hebben eveneens een groot belang bij het beschikbaar komen van goede vaccins tegen een gunstige prijs. Paarden kunnen een aanzienlijk waarde vertegenwoordigen, zowel in economisch als in emotioneel opzicht. De eigenaren zullen bescherming van hun paarden door vaccinatie als een onderdeel van hun zorgplicht beschouwen. De wetenschap dat de dieren beschermd zijn en dat ook dieren van anderen gevaccineerd zijn maakt het mogelijk om evenementen en activiteiten te organiseren waar veel paarden bij elkaar komen. Zowel economisch als sociaal gaat het om belangrijke en omvangrijke activiteiten. De vaccins van de aanvrager dragen er aan bij dat dit mogelijk is.

De DEC acht de economische belangen van de aanvrager op zich legitiem, maar alleen in combinatie met het grote maatschappelijke belang en de voordelen voor de doeldieren, namelijk betere vaccins en minder vaccinatiemomenten, rechtvaardigen ze het gebruik van de dieren in de experimenten.

De DEC heeft naar aanleiding van de wijziging vragen gesteld, welke bevredigend zijn beantwoord. Naar aanleiding van deze wijziging is de DEC niet tot een andere overweging gekomen dan bovenstaande.

4. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

De DEC is overtuigd van het belang van de doelstellingen beschreven in het projectvoorstel "Research and Development of new horse vaccines". Volgens de DEC wegen de voordelen voor de doeldieren, de samenleving, de aanvrager en de houders van de dieren gezamenlijk zwaarder dan de nadelen voor de gebruikte proefdieren. Het project is goed opgezet. Verder is de DEC van mening dat de aanvrager voldoende kennis en kunde heeft om te kunnen voldoen aan de 3V beginselen en dat de aanvrager ervoor zal zorgen dat het ongerief van de

proefdieren zoveel mogelijk beperkt zal worden. Gelet op het bovenstaande is de DEC unaniem van oordeel dat voor het project "Research and Development of new horse vaccines" het gebruik van de proefdieren gerechtvaardigd is.

De DEC is van oordeel dat goed is nagedacht over de aangevraagde wijziging en dat de aanvraag voor de wijziging gerechtvaardigd is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

x De DEC adviseert de vergunning **voor het amendement** te verlenen onder de volgende voorwaarden

x Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...

De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het advies is ook voor het amendement unaniem tot stand gekomen

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2 .e. en g

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2 .e. en g 0172725-7
Bijlagen
3

Datum 24 november 2020
Betreft Beslissing Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2 .e. en g

Op 16 september 2020 hebben wij uw aanvraag voor een wijziging op een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Research and Development of new horse vaccines" met aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 20172725-7. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw wijzigingsaanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het vanaf de datum van deze brief is toegestaan om de aangevraagde projectwijziging uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning is afgegeven voor de periode van 1 september 2017 tot en met 31 augustus 2022.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 19 oktober 2020. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

Datum:

23 november 2020

Aanvraagnummer:

AVD 020172725-7

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de vergunninghouder valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

Algemeen Secretaris**Bijlagen:**

- Wijziging in Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving



Wijziging in Projectvergunning gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

deze wijziging in de projectvergunning voor het tijdvak 1 september 2017 tot en met 31 augustus 2022, voor het project "Research and Development of new horse vaccines" met aanvraagnummer AVD 20172725-7, na advies van dierexperimentencommissie .
De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is .

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 16 september 2020
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 12 februari 2020;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.5 Studies in laboratory animals for assay development, zoals ontvangen op 16 september 2020;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 16 september 2020;
 - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 19 oktober 2020.

Uw vergunning wijzigt als volgt:

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.4.5 Studies in laboratory animals for assay development			
	Muizen (Mus musculus)	200 / 100	20,0% Matig 80,0% Licht
	Konijnen (Oryctolagus cuniculus)	100	20,0% Matig 80,0% Licht
	Cavia's (Cavia porcellus)	500	20,0% Matig 80,0% Licht
	Fretten (Mustela putorius furo)	96 / 296	100,0% Matig

Voor het overige blijft uw vergunning ongewijzigd. U dient deze brief bij uw vergunning te bewaren.



Aanvraagnummer:

AVD 020172725-7

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 van de wet staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd

Aanvraagnummer:

AV 20172725-7

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, eerste lid onder d en derde lid van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld.



10.2.g

20209784-1

Form Project proposal

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

1 General information

1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.

10.2 .e. en g

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

10.2 .e. en g

1.3 Provide the title of the project.

Evaluation of COVID-19 vaccine candidates in a Syrian hamster model

2 Categories

2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.

Basic research

Translational or applied research

Regulatory use or routine production

Research into environmental protection in the interest of human or

Research aimed at preserving the species subjected to procedures

Higher education or training

Forensic enquiries

Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

SARS-CoV-2 (COVID-19)

SARS-CoV-2 is a coronavirus that was first discovered late 2019 in the Wuhan region in China. SARS-CoV-

10.2.g

2 is a beta-coronavirus, like MERS and SARS-CoV-1, all of which have their origin in bats. Currently, the number of people with a confirmed infection of COVID-19 is around 2 million and there are 123,000 deaths globally (Source: WHO, Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report 86, 15 April 2020). On March 11th the WHO announced the COVID-19 outbreak a Pandemic and worldwide measurements are in place to slow down the spread of SARS-CoV-2. However, it is generally believed that an effective vaccine is the best countermeasure against the virus.

Vaccine antigen

From experience with experimental MERS and SARS vaccines it is known that the Spike protein, which mediates entry into host cells via its Receptor Binding Domain (RBD), is a good vaccine target. SARS-CoV-2 is more related to SARS than to MERS and uses, similar to SARS, the Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) as entry receptor into human cells. (Wan Y, et al. J Virol 2020. PMID 31996437). The initial focus to quickly develop an effective SARS-nCoV-2 vaccine will be on the Spike protein, but other antigens will at this point not be excluded.

Vaccine candidate selection and approach

In response to the outbreak, our institute is mobilizing efforts to develop a vaccine candidate. The first vaccine candidates will be based on the **10.1 c en 10.2 g**. The approach is to quickly generate several antigen constructs encoding the SARS-CoV-2 Spike protein and to test these for their suitability as **10.1 c en 10.2 g**. **10.1 c en 10.2 g** A suitable vector construct will be selected based on manufacturability data and available preclinical data, followed by production of a GMP lot of **10.1 c en 10.2 g** encoding the selected antigen to be tested in a Ph1/2a clinical study. **10.1 c en 10.2 g**

10.1 c en 10.2 g Mouse immunogenicity studies with a limited number of vaccine candidates have already been performed (not included in this license) and vaccine candidates are selected based on the outcome of these studies. In this project proposal, we want to confirm that the selected vaccine candidates induce the proper immune responses (high binding and/or neutralizing antibody responses and/or high cellular immune responses) in Golden Syrian hamsters. Vaccine candidates that show a favorable outcome are selected for assessment of their protective efficacy. For that, we aim to use efficacy models in Golden Syrian hamster. Golden Syrian Hamsters have been shown to display a range of clinical signs with mild bodyweight loss (2-3%) without any other clinical symptoms to significant bodyweight loss (up to 15%) and other clinical signs including ruffled fur, hunched posture, and reduced activity that peaked between days 8 and 10 after SARS-CoV-2 infection. However, the hamsters subsequently recovered and regained their starting weight by day 15. The severity of SARS-CoV-2 disease seems to be depended on a functional furin cleavage site. The SARS-CoV-2 virus strains tend to lose the active furin cleavage site when propagated on immortalized cells. This would explain the variation in clinical signs that are observed in the different available challenge models. *Bryan A. Johnson et al, Furin Cleavage Site Is Key to SARS-CoV-2 Pathogenesis BibioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.26.268854>. this version posted August 26, 2020. SARS-CoV-1 lacks the furin cleavage site, which explains why SARS-CoV-1 only shows mild bodyweight loss (Anjeanette Robert et al, JoV 2005 doi:10.1128/JVI.79.1.503-511.2005)*

Furthermore, high levels of the virus were found in the lungs and intestines of the infected hamsters. These findings are considered to resemble the manifestations of upper and lower respiratory tract infection in humans (Jasper Fuk-Woo Chan et al, 2020, *Clinical Infectious Diseases*). Altogether Golden Syrian hamsters are considered a good model to study vaccine efficacy.

The efficacy models will also be used to identify the immunological mechanism of protection behind the observed protection.

10.1 c en 10.2 g

Before we proceed with the protective efficacy testing of the selected vaccine candidates in hamsters, we need to confirm immunogenicity of our vaccine candidates in Syrian hamsters. Furthermore, we want to get insight into the immunological components that are involved in achieving protection in hamsters. Therefore, we need to dissect the immune responses of our vaccine candidates in detail in the same hamster model.

The hamster model can also be used to compare different manufacturing methods of our vaccine candidates in particularly when the immune parameters are identified that correlate or are involved in mediating protection.

This project proposal covers the immunogenicity and protective efficacy testing of vaccine candidates in hamsters. The data package generated with experiments in this proposal, will contribute to the development of a good vaccine efficacy model that will be used to select promising vaccine candidates to be tested in clinical setting and will provide us with insight into the immune parameters that are involved in mediating protection. Once in the clinical testing phase, we aim to investigate whether antibodies induced by vaccination in humans can protect against SARS-CoV-2 infection and associated disease by using a human-to-hamster antibody transfer and challenge model.

3.2 Purpose

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

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

Objectives

The main objective of this project is to confirm immunogenicity - seen in mice - of selected (optimized) vaccine candidates against SARS-CoV-2 in hamsters, to test the selected vaccine candidates for the induction of protective efficacy against 10.1 c en 10.2 g

10.2.g



10.1 c en 10.2 g), and to get insight into the immune components involved in protection. Further we aim to develop and expand on immunogenicity readouts for the hamster model.

Feasibility of the project

The experiments described here are expected to be conducted within the next 5 years. The research plan has been designed to consist of successive experiments with key decision points ("go/ no-go decisions"), based on the results obtained. Although we have extensive experience with the execution of mouse and cotton rat studies, we have a limited number of experienced personal trained for the execution of hamster studies. Therefore, additional persons handling and executing the hamster studies will be trained for the experimental techniques.

3.3 Relevance

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

Social relevance

On March 11th, 2020 the WHO announced the COVID-19 outbreak a Pandemic. Besides the effect on human health, this outbreak is severely impacting the world economy. Since history has proven that vaccines are one of the most cost-effective public health interventions for controlling the spread of infectious diseases, a safe and effective vaccine against COVID-19 is highly desirable. A vaccine to prevent infection is considered a strong unmet medical need that would highly benefit human well-being.

Scientific relevance

This project will provide insights into how the immune system of Syrian hamsters responds to vaccines against SARS-CoV-2 using different antigens, regimens and vaccine platforms and helps us to identify the immune components involved in protection. To be able to dissect the immune response in hamsters we will setup various hamster specific immunological assays.

3.4 Research strategy

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

All selected vaccine candidates went through an extensive in silico and in vitro selection which involves assessment of quality, manufacturability and reproducibility of potential vaccine candidates using biochemical and microbiological methods. Subsequently, vaccine candidates that pass these analyses are released for in vivo testing in mice (these activities are not part of this license; see Figure 1) and/or hamsters.

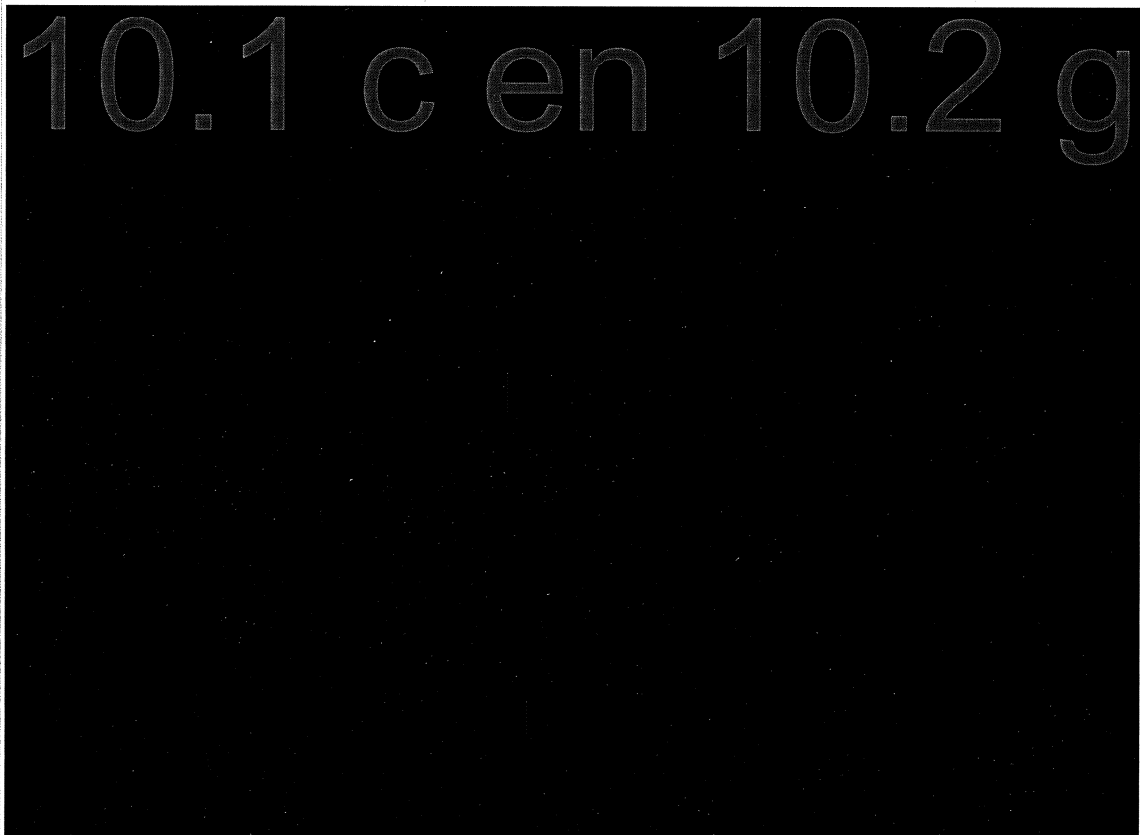


Figure 1: Flow chart showing an overview of the study, including 'go' / 'no go' decision points

In the immunogenicity studies in this project proposal, selected vaccine candidates will be evaluated for their ability to induce a cellular and/or humoral immune response in hamsters (component 1). Next, the optimal route and regimen are investigated to improve the immune responses induced by the selected vaccine candidates in hamster with the established optimized route and regimen in mice as guidance (component 2).

To get a good impression of the protective efficacy a particular vaccine candidate elicits, we aim to test the vaccine candidate in challenge models which assesses different aspects of a SARS-CoV-2 infection. For example, a model developed to assess the viral loads in the respiratory tract, or a model developed to study SARS-CoV-2 induced disease that are currently being used by our partners. Although we can use the available information of the models established by our partners or described in literature, we need to optimize the models for use in a facility other than that of our partners. For example, we will not have access to the exact same SARS-CoV-2 challenge strain which is used in the established models and optimization on dosing and identification of peak viral loads could be required (component 7; challenge model optimization). Initially we will focus on the challenge model that is based on the viral load in the respiratory tract as readout and which is established in male hamsters at one of our partners for vaccine efficacy testing (component 8). Therefore, most of the immunogenicity studies under component 1 and 2 will be performed in male hamsters. However, selected vaccine candidates will also be tested in a second hamster model with a different readout. If

the additional model is developed in female hamsters, we will also test the immunogenicity of some of our vaccine candidates in female hamsters. Following this rationale, it could happen that the immunogenicity of a particular vaccine candidate will be tested in male AND female hamsters to match the challenge models (anticipated to be not more than 10%). If a certain [redacted] shows similar immunogenicity profiles in male and female hamsters, we deemed it unnecessary to proceed testing vaccine candidates based on that particular platform in male and female hamsters.

Once vaccine candidates are selected based on immunogenicity and/or protective efficacy data, we also will compare different manufacturing methods of the vaccines based on immunogenicity (component 3).

Serum and immune cells may need to be isolated from immunized animals in order to gain insight into which immune components are involved in protection (mechanism of protection studies) induced by different vaccine candidates. The setup of the serum/purified IgG or immune cell transfer will be performed under component 4. The generated serum (or purified IgG thereof) or immune cells will be used in the challenge studies with the aim to identify the mechanism of protection (component 9) or will be transported to external partners that are also able to perform challenge studies. There, naïve hamsters will receive serum or immune cells just before challenge. The challenge outcome shows which components of the immune system were involved in mediating the observed protection. Another way of identifying the mechanism of protection is to deplete certain immune cell populations to assess their contribution to protection. The setup of the immune cell depletion will be performed under component 4 while the challenge studies in animals with depleted immune cells populations will be performed under component 9.

Cellular assays with hamster tissues/cells are not generally available and therefore we will set up these assays in house to be able to assess the cellular immune responses induced by the selected vaccine candidates (component 5). Also optimizing serum transfer into the hamster model of serum isolated from other species (e.g. mice, non-human primates or human) will need to be optimized (component 5). The optimized serum transfer conditions will be used to design the hamster challenge studies performed under component 9 (or at an external partner).

The hamster model is a new model for our institute and will require training of personnel involved in the execution of experiments. We have persons in our department that gained experience with hamsters at other institute that will serve as trainer to train additional personnel. The training required to execute the immunogenicity experiments are covered in component 6, while training of all additional animal procedures involved in the execution of the challenge studies are covered under component 10.

Initially we will focus on the development of a vaccine candidate based on [redacted]

[redacted] .e. en g, [redacted]

[redacted]

Available preclinical efficacy studies from external partners may

[redacted]

provide efficacy thresholds for immune readouts which can be used as go/no go criteria.

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

This project consists of six components in total:

1. Evaluating immunogenicity of selected vaccine candidates in hamster model
2. Evaluating the impact of immunization regimen and route on the quality and magnitude of immune responses (in hamsters)
3. Production/upscale bridging studies based on immunogenicity
4. Serum/immune cell generation for serum and immune cell transfer studies
5. Assay setup
6. Training appendix 1
7. Challenge model optimization
8. Vaccine protective efficacy testing
9. Mechanism of protection studies
10. Training appendix 2 (challenge)

In component 1, and 2, different parameters that are expected to influence the ability of vaccine candidates to induce immune responses, will be evaluated in immunogenicity studies.

Component 1: Evaluating immunogenicity of selected vaccine candidates in hamster model.

10.1 c en 10.2 g

10.1 c en 10.2 g

Vaccine antigens

include Spike protein, or other proteins of SARS-CoV-19. Hamsters will be immunized with the selected vaccine candidates at different doses to determine immunogenicity. The routes of administration and the number of immunizations will depend on the platform of choice. Once a vaccine candidate is immunogenic, further optimization of the administration route and regimen will be performed in component 2 of this project. At different time points after the immunization, blood and tissue samples will be collected for the analysis of the vaccine-induced immune response. The primary outcome parameter will be humoral immune responses to the model antigen(s) as measured by immunoglobulin ELISA and/or virus neutralization assay (VNA). Secondary outcome parameters include cellular immune responses to the vaccine as measured using interferon gamma ELISPOT and/or intracellular cytokine staining (ICS) on isolated tissues (e.g. spleen) and/or ICS on whole blood or alternative in vivo killing of labeled target cells. Because there are a limited number of hamster specific reagents such as cell specific antibodies available, we are also aiming to use an in vivo killing assay as an alternative assay to measure vaccine-induced T-cell responses without the need for hamster specific reagents. However, for this procedure additional SARS-COV-2 naïve hamster cells are required (for example derived from the spleen). In the vivo killing assay these additional hamster cells will be fluorescently labelled followed by loading of the MHC class 1 molecules on the cells with SARS-COV-2 derived peptides (called target cells), mimicking virus infected cells. The target cells are intravenously injected into immunized or control recipient hamsters where the target cells can be recognized and killed by cytotoxic T cells. Typically, 1 to 2 days later, animals are sacrificed and percentage of killed cells are measured in different isolated

10.2.g

tissues by FACS. The percentage of killed cells is a measure of (functional) T cells induced by the vaccine candidate. (Type of animal procedures used: 3.4.4.1. immunization).

Component 2: Evaluation of the impact of immunization regimen and route on the quality and magnitude of immune responses (in hamsters).

In order to evaluate the effect of different immunization regimens (one or multiple doses) and routes on the quality and magnitude of the immune responses, hamsters will be immunized with a single dose or with multiple doses of selected vaccine candidates, following different vaccine regimens and/or via several immunization routes. Blood and tissues (e.g. spleens) will be collected at several time points after immunization for analysis of the vaccine induced immune response. The primary and secondary outcome parameters are as described for component 1. (Type of animal procedures used: 3.4.4.1. immunization).

Component 3: Production/Upscale bridging studies based on immunogenicity.

During further development of vaccines, multiple production process adaptations are required, including upscaling, process parameter changes, use of different source materials etc. Besides in vitro characteristics, these changes can potentially impact in vivo immunogenicity of the vaccine candidate. Therefore, constant monitoring of the vaccine immunogenicity is warranted. The effect of changes in the vaccine production process on immunogenicity will typically be determined by comparing a benchmark process to the newly developed process, using a similar experimental approach as described above under component 1. (Type of animal procedures used: 3.4.4.1. immunization).

Component 4: Serum/immune cell generation.

To identify the correlate of protection of our selected lead candidates, we aim to perform adoptive transfer studies with serum of immunized animals and control serum (naïve) (or the purified IgG fraction thereof) or (labelled) immune cells such as, but not limited to, T cells. Sera or (labelled) immune cells of immunized or naïve donors will be transferred into recipient hamsters prior to challenge to assess its protective efficacy (not part of this licence).

The generation of the immune sera and/or cells is part of this license and will be performed with selected vaccine candidates that have been shown to induce high immune response. Hamsters will be immunized according to the optimized route and regimen with promising vaccine candidates based on the outcome of components 1 and 2. Typically, 2 to 4 weeks after the last immunization, animals are sacrificed and serum is isolated from the collected blood and/or cells are isolated from the collected tissues. The isolated serum (or purified IgG derived thereof) or immune cells will be transported to the location where the immune components are transferred via - for example - interperitoneally injection to naïve hamsters followed by challenge. The challenge outcome provides insight in which immune components are contributing to protection. (Type of animal procedures used: 3.4.4.1. immunization).

Component 5: Assay setup.

There are very limited reagents available to readout the cellular immune response in hamsters. Therefore, we need to set up cellular assays such as ELISPOT, ICS (Internal cytokine staining) and an in vivo killing

assay (component 1) which require naïve or immunized hamsters to optimize for example cell isolation procedures, cell labelling procedures and to test and optimize working dilution of reagents.

Another way to assess the contribution of immune cell subpopulations, such as, but not limited to, CD4+ and CD8+ T cells, NK cells and macrophages, to the protection induced by the candidate vaccines, is depletion of these cell subsets in vivo by treating immunized hamsters with depleting antibodies followed by virus challenge. Furthermore, we also want optimize serum (or purified IgG thereof) transfer into hamsters of serum isolated from other species such as mice, non-human primates or humans to assess the quality of antibodies generated by candidate and/or lead vaccine candidates. (Type of animal procedures used: 3.4.4.1. immunization)

We aim to set up the depletion models and serum transfer model under this license so they can be transferred to partners once established or used as described in component 9.

Component 7: Challenge model optimisation

Before we can test vaccine candidates for their protective efficacy against SARS-CoV-2

we will first setup the two SARS-CoV-2 hamster challenge models. One model that has as primary outcome parameter lung and nasal viral loads. The second hamster challenge model we aim to set up is a model that is based on clinical signs as main readout. The primary outcome parameter of this challenge model will mainly be bodyweight loss and other clinical signs to be defined during optimization of the model.

Type of animal procedures used:

3.4.4.2. Protective efficacy)

Component 8: Vaccine protective efficacy testing

Selected vaccine candidates based on immunogenicity outcome, will be tested in the hamster challenge model(s). The amount of virus detected in immunized animals versus controls will inform us on vaccine efficacy. The challenge models that use the viral load as primary readout will be the preferred model, but a selection of vaccine candidates will also be tested in the second hamster challenge model that uses clinical signs as mean readout. The cumulative observed clinical signs in immunized animals versus controls, will inform us on the vaccine efficacy. (Type of animal procedures used: 3.4.4.2. Protective efficacy).

Component 9: Mechanism of protection studies

To identify immune parameters that play a role in protection against SARS-CoV-2 infection we will perform immune serum or immune serum derived purified IgG (from multiple species such as hamster, mice or NHP) or immune cell transfer studies to identify the significance of the vaccine-induced humoral and cellular immune response in protection in the established hamster models. It is our experience that the transfer of serum or antibodies from other species to mice will not lead to additional discomfort.

Recently, monoclonal antibodies have been identified that can be used to deplete T cells in hamsters. Therefore, we will also use these and other available tools to deplete certain immune cells populations to assess their contribution to protection.

Serum/plasma (or purified IgG thereof) derived from immunized humans will also be transferred to the established hamster efficacy models to assess the protective efficacy of clinical tested vaccine candidate(s). Due to Major histocompatibility complex (MHC) restrictions this is not possible with human immune cells. (Type of animal procedures used: 3.4.4.2. Protective efficacy).

Component 6 and component 10: Training.

Successfully establishing the hamster model will require training of personnel in animal handling including restraining, anesthesia, immunization techniques, blood sampling, intranasal challenge, euthanasia and tissue collection. Training in immunization techniques will be monitored by immunological readouts (component 6) and training in intranasal challenge will be monitored by viral load and/or clinical sign development (component 10). Ensuring proper application of techniques will reduce variation within experiments and, thereby, reduce group sizes. Personnel will be trained by the experienced colleague(s) and the knowledge will further be disseminated within the institute. At a later stage personnel will be trained to preserve their skills to remain competent. All training will be supervised by the Animal Welfare Body. (Type of animal procedures used: 3.4.4.1. immunization and 3.4.4.2. Protective efficacy).

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

The coherence between the objectives given in this proposal is summarized as a flow chart in Figure 1 which shows the overall strategy of the project with "go/ no-go" decision points. Detailed explanation for each step with justification for the go/no-go decisions are described below. 10.1 c en 10.2 g



"Go/no-go" selection point **component 1:**

10.1 c en 10.2 g

"Go/no-go" selection point **component 2:**

10.1 c en 10.2 g

"Go/no-go" selection point **component 3:**

10.1 c en 10.2 g

"Go/no-go" selection point **component 4:**

10.1 c en 10.2 g

Component 5:

10.1 c en 10.2 g

"Go/no-go" selection point **Component 7:**

10.1 c en 10.2 g

10.2.g

"Go/no-go" selection point Component 8

10.1 c en 10.2 g

Component 9:

10.1 c en 10.2 g

Component 6 and 10:

10.1 c en 10.2 g

10.1 c en 10.2 g

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Immunization
2	Protective efficacy
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

10.2.g

Format DEC-advies

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD [REDACTED] 20209784
2. Titel van het project: Evaluation of COVID-19 vaccine candidates in a Syrian hamster model
3. Titel van de NTS: De evaluatie van entstoffen gericht tegen COVID-19 in Syrische hamsters.
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - Wijziging vergunning (AVD [REDACTED] 20209784-1). Alle voor de wijziging relevante tekst is (in rood) toegevoegd aan het oorspronkelijke advies
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 23-04-2020 (24-04-2020: Verzoek om advies van CCD)
 - aanvraag compleet:
 - in vergadering besproken: 28-04-2020
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en): van 30-04-2020 tot 06-05-2020
van 07-05-2020 tot 07-05-2020
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 06-05-2020 en 07-05-2020
 - advies aan CCD: 07-05-2020. Het advies is 07-05-2020 ook verstuurd naar de aanvragerAdviestraject wijziging
 - ontvangen door DEC: 17-07-2020 (20-07-2020: Verzoek om advies van CCD)
 - aanvraag wijziging compleet:
 - in vergadering besproken: 20-07-2020
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en): van 21-07-2020 tot 26-08-2020
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 26-08-2020
 - advies aan CCD: xx-09-2020. Het advies is xx-09-2020 ook verstuurd naar de aanvrager
7. De inhoud van dit project is afgestemd met de IvD van de instelling.

14 juli 2016

De inhoud van deze wijziging is afgestemd met de IvD van de instelling.

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.

8. Eventueel horen van aanvrager : NVT

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum: 30-04-2020
- De gestelde vragen betroffen:
 - Volgorde muizen/hamster experimenten
 - Ervaring met experimenten met hamsters
 - Toelichting op invitro killing assay
 - Toelichting op serum transfer experimenten
 - Keuze voor wijze van bloedafnames
 - Schema's voor verschillende type experimenten
 - Onderbouwing keuze geslacht
 - Gebruik van serum en cellen van oefendieren
 - Beschrijving humane eindpunten
 - Vaccinaties in dieren die vervolgens extern worden in challenge experiment gaan.
 - Tekstuele aanpassingen
- Datum antwoord: 06-05-2020

Telefonische terugkoppeling

- Datum: 07-05-2020
- De gestelde vragen betroffen:
 - Onderbouwing keuze model/geslacht in verschillende experimenten
 - Vaccinaties in dieren die vervolgens extern worden in challenge experiment gaan.
- Datum antwoord: 07-05-2020
- Verstrekte antwoorden: De aanvrager heeft alle gevraagde informatie in de twee vragenrondes gegeven en deze verwerkt in een herziene aanvraag.

Correspondentie met de aanvrager mbt de wijziging

- Datum: 21-07-2020
- De gestelde vragen betroffen: zie hieronder
- - Beschrijving doelstellingen
 - Beschrijving model: klinische parameters
 - Proefopzet: Waarom twee SARS-COV-2 modellen 10.1 c en 10.2 g
 - Beschrijving van de modellen (klinische parameters)
 - Onderbouwing te testen aantal humane sera
 - 10.1 c en 10.2 g
 - Onderbouwing aantallen te testen vaccinkandidaten
 - Relatie met extern uitbestede challenge experimenten
 - Statistische onderbouwing groepsgrootte
 - Onderbouwing aantallen dieren voor training
 - Onderbouwing cumulatieve ongerief classificaties
 - NTS: Aantallen dieren
 - Enkele tekstuele aanpassingen
- Datum antwoord: 26-08-2020

14 juli 2016

- Verstreckte antwoorden: De aanvrager heeft de gevraagde informatie in deze vragenronde deels verwerkt in een herziene aanvraag. Echter er bleven bij 3 vragen onduidelijkheden bestaan, deze vragen zijn opnieuw aan de aanvrager gesteld
- Datum 03-09-2020
- De aanvrager heeft met uitzondering van 1 vraag de gevraagde informatie in deze vragenronde opgenomen in een herziene aanvraag. Omdat de niet opgenomen informatie wel van essentieel belang was voor de afweging (en dus het schrijven van het advies) zijn deze vraag en het gegeven antwoord hieronder weergegeven.

- Onderbouwing te testen aantal humane sera (verwerkt in aanvraag)
- Onderbouwing 10.1 c en 10.2 g (verwerkt in aanvraag)
- Onderbouwing cumulatieve ongerief classificaties

Antwoord: Het is zeker niet het geval dat we geen rekening houden met klinische parameters. We hebben aangegeven dat we pas tijdens het opzetten van de modellen de klinische parameters gaan definiëren (zie oa sectie A "Clinical sign and bodyweight monitoring").

Het blijkt voor SARS-CoV-2 erg lastig om de klinische parameters bij hamsters vast te leggen, aangezien deze sterk afhangen van de virus batch die gebruikt wordt voor de challenge. Er komt steeds meer bewijs dat enkele mutaties, vooral in de 'furin cleavage site' van het Spike eiwit een grote invloed kunnen hebben op de pathogeniciteit van de SARS-CoV-2 stammen in hamsters. Afhankelijk van de pathogeniciteit van de stam variëren de te verwachten klinische parameters van 2-3% gewichtsverlies zonder andere ziekteverschijnselen tot maximaal 15% gewichtsverlies met een piek aan andere klinische verschijnselen zoals onverzorgde vacht, gebolde rug en gereduceerde activiteit tussen dag 8 en 10 waarna de dieren weer volledig herstellen. (Bryan A. Johnson et al, Furin Cleavage Site Is Key to SARS-CoV-2 Pathogenesis *BioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.26.268854>. this version posted August 26, 2020*)

Onderbouwing van het ongerief:

In het SARS-CoV-2 model dat gebruikt maakt van virusdeeltjes als uitleesmethode, zullen de dieren na een relatief korte periode worden geofferd om in de verschillende weefsels het aantal virusdeeltjes te bepalen. We verwachten hier hooguit gering gewichtsverlies en geen verdere klinische verschijnselen. Zoals aangegeven in de overzichtstabel van het ongerief onder sectie k, wordt het ongerief van de onbeschermden dieren maximaal als "matig" ingeschat en voor de dieren die beschermd zijn maximaal als "gering" ingeschat.

Bij het model dat klinische verschijnselen als uitleesmethode gebruikt verwachten we maximaal 15% gewichtsverlies en andere klinische verschijnselen zoals onverzorgde vacht, gebolde rug en gereduceerde activiteit. Aangezien de ziekteverschijnselen van korte duur zijn (~2 dagen waarna de dieren volledig zullen herstellen; zoals hierboven beschreven) hebben wij het ongerief voor de onbeschermden dieren maximaal als "matig" ingeschat en voor de beschermde dieren als "gering".

10.1 c en 10.2 g

Opmerking: 10.1 c en 10.2 g schatten wij het ongerief ook in als "matig" voor alle dieren die een dit vaccin toegediend krijgen.

We denken dan ook dat de tabel "Overview anticipated discomfort appendix 2" onder sectie K. Classification of severity of procedures, een goede weerspiegeling is van wat we kunnen verwachten aan maximaal ongerief in de beschreven experimenten.

- Datum antwoord: 11-09-2020.

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

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.
De wijziging is vergunningplichtig
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
De aanvraag betreft een wijziging
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Geen van de aanwezige DEC-leden is betrokken bij het project of de aanvrager.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).
De aanvraag betreft onderzoek naar de immunogeniciteit van kandidaat vaccins voor SARS-CoV-2. SARS-CoV-2, de veroorzaker van de COVID-19 pandemie, is een nieuw virus waarvoor nog geen vaccin beschikbaar is. De enige methode om effectief de verspreiding van dit virus onder controle te krijgen is beschikbaarheid van een vaccin. De aanvrager heeft reeds een aantal kandidaat vaccins ontwikkeld en getest op immunogeniciteit in muizen. Omdat hamsters die zijn besmet met SARS-CoV-2 klinische verschijnselen ontwikkelen die vergelijkbaar zijn met COVID-19 bij de mens en het virus in hoge concentraties teruggevonden wordt in darmen de longen. Door de overeenkomsten met de humane ziekte COVID-19), is dit een goede diersoort om de beschermende werking van een vaccin in te testen. Om een goed beeld van de bescherming die de vaccin kandidaten opwekken te krijgen zullen maximaal 2 verschillende hamstermodellen worden ingezet, waarmee verschillende parameters kunnen worden gemeten. Daarvoor moeten eerst immunogeniciteitsproeven worden uitgevoerd om na te gaan of de kandidaat vaccins die een goede immuunrespons bij muizen gaven dit ook in de hamstermodellen doen. Het project heeft betrekking op deze immunogeniciteits testen.
Het is helder welke handelingen individuele dieren zullen ondergaan. Het betreft relatief simpele handelingen die bijna allemaal onder anesthesie worden uitgevoerd, Hierdoor is het duidelijk met welk ongerief individuele dieren zullen worden geconfronteerd. De aanvrager heeft aangegeven welke criteria (milestones, selectiecriteria) de start en volgorde van uitvoering van de experimenten in het project bepalen. De commissie is van mening dat het project voldoende samenhang vertoont en daarmee toetsbaar is.
De oorspronkelijke aanvraag omvat immunogeniciteitstudies met nieuwe SARS-CoV-2 **10.1 c en 10.2 g**. De logisch hierop volgende efficacy (challenge) studies zouden door de indiener worden uitbesteed bij een externe partner, die zelf een project had om deze testen uit te kunnen voeren. De indiener heeft besloten deze efficacy studies (ook met hamsters) zelf te gaan uitvoeren. Daartoe is een wijziging van het oorspronkelijke project ingediend. Onderdeel hiervan is een nieuwe appendix waarin deze efficacy experimenten staan beschreven.
Omdat deze challenge experimenten ook al onderdeel waren van het traject voor het ontwikkelen van nieuwe SARS-CoV-2 vaccins sluit de nu voorgestelde wijziging logisch aan bij de doelstellingen en experimenten in het oorspronkelijke project.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet).

Voor zover de DEC kan nagaan is er geen tegenstrijdige wetgeving die uitvoering van het project in de weg zou kunnen staan.

3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.
De in de projectaanvraag aangekruiste doelcategoriën sluiten aan bij de doelstellingen van het project.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).

SARS-CoV-2 is de veroorzaker van een pandemie (COVID-19) die veel slachtoffers wereldwijd eist en de wereldeconomie ernstig schaadt. De ontwikkeling van een vaccin is daarom een belangrijk instrument om de verspreiding van deze infectieziekte te beperken. Het directe doel van dit project is om kandidaat vaccins te testen op immunogeniciteit in in eerste instantie 2 verschillende hamstermodellen, zodat geschikte kandidaten op beschermende werking in deze zelfde modellen getest kunnen worden (elders en geen onderdeel van dit project). Het uiteindelijke doel is het op de markt brengen van een werkzaam vaccin dat bescherming biedt tegen COVID-19 in mensen. Daarnaast zal ook serum worden onderzocht op passieve immuniteit. Hiervoor is het noodzakelijk te bepalen wat de dosering van deze sera (afkomstig uit verschillende diersoorten) moet zijn in hamsters.

De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met dit type onderzoek en de daarbij gebruikte modellen. Omdat voor de instelling de hamster een nieuw proefdier is, zijn er ook dieren ten behoeve van training in dit project opgenomen.

Het is aannemelijk dat, mede door de inbedding, positieve resultaten uit dit onderzoek uiteindelijk zouden kunnen leiden tot toepassingen in de mens.

De DEC is van mening dat er binnen dit project een reële directe relatie is tussen het doel van deze projectaanvraag en het uiteindelijke doel. Voorts is zij van mening dat het directe doel in wetenschappelijke zin gerechtvaardigd is omdat de hamster een goed model blijkt te zijn voor COVID-19, waardoor er ook onderzoek gedaan kan worden naar de aard van beschermende immuniteit.

Het directe doel is uitgebreid met een aantal subdoelen:

- Het ervaring opdoen met de betreffende hamster efficacy modellen.
- Het testen of nieuwe vaccinkandidaten bescherming bieden tegen SARS-CoV-2 en SAR-CoV-1. Hiermee kan inzicht verkregen worden in breedte van de bescherming van de kandidaat SARS-CoV-2 vaccins en in de onderdelen van het immuunsysteem die bij deze bescherming tegen SARS-CoV-2 betrokken zijn.
- Het testen van een aantal humane sera uit de klinische trials op bescherming in de hamstermodellen. Ook hiermee kan informatie over de werking van de bescherming worden verkregen.

Het uiteindelijke doel is ongewijzigd.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevoorruerd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*)

De belangrijkste belanghebbenden in deze projectaanvraag zijn de proefdieren, de

doelgroep/patiënten/maatschappij, de aanvragende instantie, de onderzoekers en de wetenschap.

Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn en integriteit worden aangetast. De dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren geconfronteerd worden met stress, pijn en aantasting van welzijn. De dieren hebben er belang bij hiervan gevrijwaard te blijven.

Uiteindelijk zullen alle dieren in het kader van het onderzoek worden gedood.

Voor patiënten en de maatschappij is dit onderzoek van groot belang, omdat een werkzaam vaccin uiteindelijk kan bijdragen aan het voorkomen van COVID-19 na besmetting met SARS-CoV-2.

Voor de aanvragende instantie geldt dat het op de markt brengen van een werkzaam vaccin van economisch belang is.

Voor de onderzoekers geldt dat het publiceren van belangrijke nieuwe wetenschappelijke inzichten resulteert in een goede wetenschappelijke reputatie, hetgeen vaak de sleutel is voor het verkrijgen van nieuwe onderzoeksmiddelen en -mogelijkheden. Carrière mogelijkheden en status kunnen door de onderzoeker zelf van belang geacht worden, maar dienen naar de mening van de DEC geen rol te spelen in de ethische afweging over de toelaatbaarheid van het gebruik van proefdieren. Het gaat uiteindelijk om de vraag of dit onderzoek belangrijke maatschappelijke en wetenschappelijke doelen dient (gezondheid, kennis). Wetenschappelijk is dit project van belang omdat er nieuwe inzichten in verschillende immunologische responsen die worden opgewekt door verschillende soorten vaccinkandidaten.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen.
Voor zover de commissie kan nagaan is er geen sprake van substantiële milieu effecten.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).
De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het werk van de aanvrager, zoals blijkt uit de jarenlange ervaring van de instelling met het testen van vaccins in proefdieren. Hoewel het werken met hamsters relatief nieuw is voor deze instelling, is de commissie ervan overtuigd dat mede door hun uitgebreide ervaring met vergelijkbaar knaagdieronderzoek en de wijze waarop het personeel vooraf getraind wordt, dit onderzoek zorgvuldig zal worden uitgevoerd. De DEC concludeert dat de aanvragers voor de uitvoering van de voorgestelde experimenten beschikken over voldoende kennis en kunde om te kunnen voldoen aan alle zorgvuldigheidseisen omtrent het verrichten van de voorgestelde dierproeven.
8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).
De doelstellingen van het project zijn realistisch en de voorgestelde experimentele opzet sluit hier logisch op aan. Kandidaat vaccins zijn al getest op immunogeniciteit in muizen. De meest veelbelovende vaccins zullen vervolgens op immunogeniciteit

getest worden in hamstermodellen waarmee ook besmettingsexperimenten kunnen worden uitgevoerd (geen onderdeel van deze vergunningsaanvraag). Het onderzoek vindt stapsgewijs plaats met heldere go/no-go momenten. De verschillende onderdelen van het project (de componenten 1-6) zijn allen nodig om de stap te kunnen maken naar het vervolgonderzoek waarin in besmettingsproeven de bescherming van de vaccins zal worden onderzocht.

De indieners hebben veel ervaring in dit onderzoeksveld. De DEC is van mening dat het project goed is opgezet, en dat deze strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de beschreven doelstellingen. De commissie is daardoor overtuigd van het belang van het voorgestelde onderzoek met dit model.

De go/no go momenten voor het starten van de challenge efficacy experimenten zijn duidelijk beschreven. Deze waren in feite ook al aangegeven in het oorspronkelijke project, met dit verschil dat deze experimenten toen nog uitbesteed zouden worden.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod), voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden).

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10n)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

Er is geen sprake van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.

De dieren zullen gehuisvest conform de eisen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU.

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2).

De dieren zullen ongerief ondervinden door het toedienen van de vaccins en serum en het afnemen van bloed en neusslijm. Deze handelingen zullen onder lichte anesthesie worden uitgevoerd zodat het ongerief beperkt blijft. Bij de 90% van de dieren zal er hierdoor sprake zijn van cumulatief licht ongerief. Bij 10% van de dieren is er een risico op matig ongerief omdat gebruik gemaakt wordt van een

adjuvans. Dit betreft in alle gevallen adjuvantia die al toegelaten zijn voor gebruik in mensen.

In de challenge experimenten waarbij aantal virusdeeltjes de uitleesparameter is (het grootste deel van de experimenten) zal in de post-challenge fase sprake zijn van licht ongerief. In de challenge experimenten met als uitleesparameter 'klinische verschijnselen' is (in principe alleen bij de onbeschermden dieren) sprake van matig ongerief (22% van de dieren). Het is de verwachting dat de belangrijkste parameter hierbij een verandering in lichaamsgewicht zal zijn. Echter het valt niet uit te sluiten dat ook andere klinische verschijnselen zullen optreden. Echter de duur van deze verschijnselen zullen beperkt zijn waardoor het ongerief niet meer dan matig zal zijn. (zie ook A9)

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (zie bijlage I voor voorbeeld).

De integriteit van de dieren wordt aangetast door het instrumentele gebruik en omdat ze in het kader van het experiment worden gedood.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De onderzoeker heeft aangegeven dat er geen model specifieke humane eindpunten worden verwacht die gerelateerd zijn aan dit onderzoek. Alleen de algemene humane eindpunt criteria gebruikelijk in de dierfaciliteit zijn van toepassing en de incidentie daarvan wordt ingeschat op <1%. De commissie is het eens met deze inschatting en de gehanteerde humane eindpunten.

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er (ook voor de challenge experimenten) geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. De immuunrespons op en bescherming door een vaccin in een zoogdier is te complex om die in vitro of in silico te modelleren. Het is essentieel dat een vaccin zal worden getest op effectiviteit in een relevante diersoort, waarmee het ook mogelijk is in een volgende stap de effectiviteit te evalueren. De hamster kan besmet worden met SARS-CoV-2 en vertoont verschijnselen die lijken op COVID-19.

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

In de looptijd van het project zullen [REDACTED] vaccinkandidaten worden onderzocht. De [REDACTED] beste kandidaten worden uitgebreid geëvalueerd en voor [REDACTED] kandidaten zullen ook bridging experimenten en experimenten met hetzelfde vaccin in een 2e model worden uitgevoerd (10%). De precieze groeps grootte is op dit moment nog niet bekend en wordt ingeschat op 5 tot 10 dieren per groep. Op basis van power analyses zullen de uiteindelijke groeps groottes worden bepaald waarmee statistisch significante en relevante resultaten kunnen worden behaald. Het maximaal aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en is proportioneel ten opzichte van de gekozen onderzoekopzet, de aantallen experimenten en de aangevraagde looptijd (zie ook D3). De onderzoekers hanteren een goede strategie om ervoor te zorgen dat er met het kleinst mogelijke aantal dieren wordt gewerkt waarmee nog wetenschappelijk betrouwbare en verantwoorde resultaten kunnen worden

verkregen (power berekeningen). Met name het trainen van personeel met als doel reproduceerbare testresultaten te verkrijgen zal er voor zorgen dat uitkomsten reproduceerbaar zijn en een kleine spreiding hebben, met als gevolg dat het benodigde aantal dieren zo gering mogelijk gehouden zal worden. Bij bridging proeven zullen er geen aparte positieve controles worden toegevoegd, maar volstaat de oorspronkelijke vaccin formulering. Vanwege de op dit moment inherente onzekerheid over de variatie in de uitleesparameters is er door de indieners voor wat betreft het aantal dieren uitgegaan van een maximum scenario. Er zullen 3 verschillende challenge modellen worden gebruikt. Vaccinkandidaten zullen worden getest in het SARS-CoV-2 hamster challenge model met als uitleesparameter viraemie, vaccinkandidaten in het SARS-CoV-2 hamster challenge model met als uitleesparameter klinische verschijnselen er

10.1 c en 10.2 g

10.1 c en 10.2 g

De aantallen dieren en de keuzes voor de verschillende modellen zijn voldoende onderbouwd.

10.1 c en 10.2 g

10.1 c en 10.2 g

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De uitvoering van de in dit project beschreven experimenten is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven. De meeste handelingen zullen onder anesthesie worden uitgevoerd zodat de dieren er zo min mogelijk last van hebben en wat ook de nauwkeurigheid van de proeven zal bevorderen. De DEC is ervan overtuigd dat de beschreven proefopzet de meest verfijnde is en dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aandacht is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.

Het betreft geen wettelijk vereist onderzoek.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*; zie bijlage I voor voorbeeld).

Het grootste deel van de challenge experimenten (buiten dit project) zullen uitgevoerd worden in een model geaccepteerde modellen met mannelijke hamsters. Dat betekent dat de meeste experimenten in dit project ook uitgevoerd zullen worden in mannelijke hamsters. Om een aantal andere parameters te kunnen meten zullen aantal vaccins ook getest worden in een ander model dat gebruik maakt van vrouwelijke hamsters. Dit betekent dat een klein deel van de immunologische experimenten in dit project ook uitgevoerd zal worden in vrouwelijke hamsters. De DEC acht deze strategie voldoende onderbouwd.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de die-soort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV

14 juli 2016

van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of, er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Alle dieren worden in het kader van het project gedood. Van de gedode dieren zullen weefsels en bloed worden verzameld voor immunologische testen. De dieren worden gedood met een dodingsmethode die vermeld staat in bijlage IV van de richtlijn.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

Er worden in deze projectaanvraag geen landbouwhuisdieren, honden, katten of niet-humane primaten gedood om niet-wetenschappelijke redenen.

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

De niet technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).

Rechtvaardigt het belang van het testen van vaccinkandidaten voor SARS-CoV-2 op immunogeniciteit en bescherming in hamsters, het ongerief dat de dieren daardoor wordt aangedaan en is bij de uitvoering van deze experimenten aan alle zorgvuldigheidseisen (3V's) voldaan?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (Zie *Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

Van het totaal aantal dieren (6084) in de immunogeniciteits experimenten ondervindt 90% licht ongerief ten gevolge van de experimentele handelingen. Voor 10% van de dieren zal het ongerief matig zijn door het injecteren van een vaccin in combinatie met adjuvans. Van het aantal dieren dat maximaal gebruikt zal worden in de challenge experimenten (3618) zal 78% van de dieren geconfronteerd worden met licht ongerief en 22% van de dieren met matig ongerief. Dit laatste betreft de onbeschermden dieren in de experimenten met uitleesparameter 'klinische verschijnselen'. De commissie is er vanuit gegaan dat dit in alle gevallen relatief milde klinische verschijnselen betreft (verandering in lichaamsgewicht). Alle dieren zullen in het kader van het experiment worden gedood. De doelstellingen kunnen niet zonder het gebruik van dieren behaald worden. De onderzoekers hebben alle maatregelen en voorzorgen genomen om onnodig lijden van de dieren te voorkomen en het aantal dieren te beperken. SARS-CoV-2 veroorzaakt bij mensen een ernstige longinfectie (COVID-19) waarbij veel patiënten langdurig op de intensive care moeten worden behandeld. Dit

resulteert in overbelasting van de zorg wereldwijd. Het betreft een nieuw zeer besmettelijk virus dat momenteel een pandemie veroorzaakt. Pas wanneer er voldoende immuniteit is in de bevolking, zal de verspreiding van dit virus beheersbaar zijn en de ziektelast afnemen. De snelste manier om een dergelijke bevolkingsbrede immuniteit te verkrijgen is middels vaccinatie. Dit is van essentieel belang voor de samenleving, omdat COVID-19 niet alleen veel ziektelast veroorzaakt, maar ook een zeer grote negatieve impact heeft op de economie en grote groepen in de samenleving.

Voor de aanvrager is het ontwikkelen van een vaccin van economisch belang. Echter het belang voor de maatschappij overstijgt dit belang vele malen.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

De DEC is overtuigd van het belang van de doelstelling: het testen van vaccinkandidaten voor SARS-CoV-2 op immunogeniciteit en bescherming in hamsters. Het uiteindelijke doel is een werkzaam en veilig vaccin te ontwikkelen voor SARS-CoV-2. Die doelstelling vertegenwoordigt een essentieel belang voor de maatschappij. De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het onderzoek en de uitvoering hiervan.

De DEC is van mening dat het project goed is opgezet, en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen de looptijd van het project. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat voorkomen wordt dat mens, dier en milieu onbedoelde negatieve effecten zullen ondervinden als gevolg van de dierproeven.

Vanwege de op dit moment inherente onzekerheid over de variatie in de uitleesparameters is er door de indieners logischerwijze voor wat betreft het aantal dieren uitgegaan van een maximum scenario. De commissie is in haar afweging primair uitgegaan van de aantallen beschreven experimenten waarbij is meegewogen dat hier in de ultieme situatie een aantal dieren zoals aangegeven in het maximum scenario voor zal worden gebruikt.

De DEC is samenvattend van mening dat aan alle zorgvuldigheidseisen omtrent de 3 V's en de kwaliteit van het onderzoek is voldaan en dat het hierboven genoemde belang voor de samenleving als geheel het schaden van de belangen van de proefdieren (om gevrijwaard te blijven van een aantasting van welzijn en integriteit) rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD
De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
De DEC adviseert een vergunning voor de ingediende wijziging te verlenen
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
Het over deze wijziging uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

14 juli 2016

3. Er zijn geen knelpunten of dilemma's geconstateerd - zowel binnen als buiten de context van het project - die de verantwoordelijkheid en competentie van de DEC overstijgen.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.1 c en 10.2 g, 10.2 .e. en g

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD^{10.2 .e. en g} 0209784-1
Bijlagen
3

Datum 29 september 2020
Betreft Beslissing Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte ^{10.1 c en 10.2 g, 10.2 .e. en g}

Op 18 september 2020 hebben wij uw aanvraag voor een wijziging op een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of COVID-19 vaccine candidates in a Syrian hamster model" met aanvraagnummer AVD^{10.2 .e. en g} 20209784-1. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw wijzigingsaanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het vanaf de datum van deze brief is toegestaan om de aangevraagde projectwijziging uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. De vergunning wordt afgegeven van 11 mei 2020 tot en met 30 april 2025.

De onderbouwing van deze beslissing vindt u onder 'Overwegingen'.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 14 september 2020. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 22 september 2020 en 25 september 2020 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op aanpassingen in de NTS en een nadere onderbouwing voor gebruik van dieren van één geslacht. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Datum:
29 september 2020
Aanvraagnummer:
AVD [REDACTED] 20209784-1

Overwegingen

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de DEC, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 93118, 2509 AC Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de vergunninghouder valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl, stuur een e-mail naar info@zbo-ccd.nl of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

29 september 2020

Aanvraagnummer:

AVD [REDACTED] 20209784-1

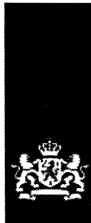
Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2 .e. en g

drs. F. Braunstahl
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Projectvergunning
- DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

10.2.e. en g

deze wijziging in de projectvergunning voor het tijdvak 11 mei 2020 tot en met 30 april 2025, voor het project "Evaluation of COVID-19 vaccine candidates in a Syrian hamster model" met aanvraagnummer AVD 20209784-1, na advies van dierexperimentencommissie .

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is

Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 18 september 2020
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 7 mei 2020;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 25 september 2020;
 - c Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 14 september 2020
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 24 september 2020, 25 september 2020.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.4.1 Immunization			
	Syrische goudhamsters (Mesocricetus auratus)	6.084	10,0% Matig 90,0% Licht
3.4.4.2 Protective efficacy			
	Syrische goudhamsters (Mesocricetus auratus)	3.618	21,6% Matig 78,4% Licht

Geldende voorschriften

Wij wijzen u op onderstaande geldende voorschriften, die volgen uit artikel 1d, vierde lid, artikel 10, tweede lid en/of artikel 10a3 van de wet.

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.
- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:

AVD  20209784-1

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de Dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g, derde lid van de wet. Uit artikel 10b, eerste lid van de wet volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5, eerste lid van de wet de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b, tweede en derde lid van de wet schrijven voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 van de wet staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd

Aanvraagnummer:AVD XXXXXXXXXX 20209784-1

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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



Form Project proposal

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

1 General information

1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.

10.2 e. en g

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

10.2 e. en g

1.3 Provide the title of the project.

In-vivo Quality Control tests for vaccines in the Quality Control Operations Department

2 Categories

2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.

- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- Higher education or training
- Forensic enquiries
- Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

10.2 e. en g

Vaccines are often heterogeneous immunobiological products containing various components such as [REDACTED]. Due to this complexity and the intrinsic variability of the vaccine production process, each batch of the vaccine final product is regarded as unique, and regulatory authorities therefore require that quality testing is performed on each batch of a licensed vaccine before its release onto the market. [REDACTED] of this company is responsible for the quality control and release testing of [REDACTED]

[REDACTED] produced in a number of [REDACTED] production facilities ([REDACTED]). The department is also responsible for the compulsory stability testing of registered biological products and products at the end of the development phase. Furthermore, quality control testing is performed to support test and/or [REDACTED] and final product [REDACTED].

The quality control testing of veterinary biological products is described in various product-specific or general requirements that have been laid down in EU directives, the European Pharmacopoeia (Ph.Eur), for example monograph [REDACTED] and guidelines and regulations of the European Medicines Agency and other international regulatory authorities. Guidelines and regulations of the European Medicines Agency and other international regulatory authorities concern a wide variety of authorities since the company supplies to many foreign countries, each conducted with their own national policies and guidelines. The company is advised about the different policies and guidelines of foreign countries by regulatory employees.

During the development of a new product in R&D these tests (in vitro and in vivo) are developed based on the requirements of the guidelines, formalized in Standard Operating Procedures (SOP's), and then transferred to the [REDACTED] for routine testing. Each batch has to undergo quality control testing before it can be released to the market. Quality control tests of biological products can vary depending on the nature of the product, but in principle the following tests can be performed on a product:

- Quality (in vitro/physical/chemical testing)
- Potency (in vitro/in vivo)
- Batch safety/residual toxicity (in vivo)
- Extraneous agents (in vitro/in vivo)
- Identity (in vivo/ in vitro)
- Sterility/Mycoplasma testing/Inactivation control

Additionally quality control tests such as potency, extraneous agents and identity tests require positive and negative samples from animal origin that are needed as control materials or as starting material for the testing. For example [REDACTED]

[REDACTED] in order to analyse the tests performances. Those biomaterials are obtained from various animal species depending on the purpose of the test.

Certain new [REDACTED] vaccines can be tested in the currently approved animal studies for single component vaccines. This way the complete development of a new test is not needed, resulting in a reduction of animals that is needed in development of a new vaccine, including its quality control tests.

Annex 16 EU GMP Guidelines requires that products released for EU market should be certified by a QP within the EU and when the medicinal product is manufactured outside EU the batch is tested within the EU in accordance with GMP and MA. Due to the Brexit it was decided by the company that besides certification by QP in EU this company will become an additional testing site for products currently tested in UK, since it is currently unknown what mutual recognition agreements or similar agreements will be in place with UK after Brexit.

It has been confirmed by the UK government that results coming from the EU are still going to be accepted after Brexit. This means that when testing in EU (Netherlands) results are accepted in UK, therefore amount of animals used by this company for release tests in EU will not be needed in UK for release in UK. Allocation of batches will prevent batches to be tested on both testing sites.

3.2 Purpose

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

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

This project's main objective is to support regulatory testing and 3R activities for the quality control of veterinary biological products. Furthermore, quality control testing is performed to support production and/or 10.1 c en 10.2 g

Studies are requested in order to meet regulatory requirements and will be executed in compliance with national and international guidelines. These studies ensure that the released products are safe and efficacious. In principle the quality control department performs the 4 types of in-vivo tests: 1) Batch potency tests to demonstrate the vaccines' efficacy. This applies for new batched that will be released to the market, but also for stability of batches. These are already released but are monitored for stability in efficacy within the given expiry period,

2) batch safety tests (for product batches not marketed in the European Union) that allow demonstrating the safety of vaccines. Although batch safety testing is not applied in the European Union anymore, there are still some regulatory authorities which require batch safety testing conform their national regulations, residual toxicity testing may also be done according to Ph Eur to determine toxicity and

3) extraneous agent's tests (often combined with the safety test) that allows demonstrating freedom of contamination of vaccines. Extraneous agents testing can be done in vivo and in vitro. Currently, about 40% of all extraneous agents tests concerns in vivo testing. The other 60% of the extraneous agents testing is based on cell culture tests using 10.1 c en 10.2 g

Furthermore, 4) animal experiments – blood and/or tissue sampling - are needed for the preparation of antisera, red blood cells, test controls/materials and/or cells.

3.3 Relevance

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

Vaccines/veterinary biological products are the most successful medicines for the prevention and eradication of animal diseases and thereby contribute to public health and animal welfare. The production processes for biological products such as vaccines show an intrinsic variability associated with the

10.1 c en 10.2 g

, make the final composition of vaccines even more complex. Therefore each batch of the vaccine final product is regarded as unique, and regulatory authorities require that quality testing is performed on each batch of a licensed vaccine before its release onto the market. The quality control of biological products is mandatory and the requirements are described in various documents such as EU directives, the European Pharmacopoeia (Ph.Eur) and guidelines and regulations of the European Medicines Agency and other international regulatory authorities. Therefore, each vaccine batch is extensively tested for quality control purposes with emphasis on final product testing to ensure their quality, safety and efficacy.

3.4 Research strategy

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

The quality control testing of veterinary biological products is described in various product-specific or general requirements that have been laid down in EU directives, the European Pharmacopoeia (Ph.Eur), for example monograph 10.1 c en 10.2 g

), and guidelines and regulations of the European Medicines Agency and other international regulatory authorities. During the development of a new product in R&D these tests (in vitro and in vivo) are developed based on the requirements of the guidelines, formalized in Standard Operating Procedures (SOP's), and then transferred to the quality control department for routine testing.

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

Quality control tests include the following in vivo tests. In principal [redacted] performs 4 types of in-vivo tests:

- **Potency tests:** mostly used for inactivated products, since with these products direct titration/counting methods are not suitable. For potency tests (particularly with products for large and companion animals) often laboratory animal models are used (e.g. guinea pigs, mice). For poultry products the potency tests are mostly in the target species (chicken). There are still a number of potency tests consisting of a [redacted]. In this department the following five [redacted] models are performed 1) the [redacted] tests (in mice), 2) the [redacted] tests (in hamsters), 3) the [redacted] tests (in chickens), 4) the [redacted] test (in Guinea pigs), 5) the [redacted] test (in mice). These tests are mandatory according to the marketing authorisation requirements and/or described in Ph Eur directives, such as monograph [redacted]).
- **Batch safety tests (and residual toxicity tests):** inoculation of target animals with an overdose of the product, in [redacted] according to international guidelines. The animals are then observed for clinical signs for a certain period (in general 2-3 weeks). This generally means observation for abnormal systemic (clinical signs, body temperature etc.) and local (injection site) reactions after administration.
- **Extraneous agents' tests/Identity** [redacted], taking blood from the animal after a number of weeks and screening the sera for the absence of antibodies against a range of extraneous agents.
- **Biomaterials for quality control test purposes:** various quality tests require the use of reagents from animal origin such as sera from [redacted] animals, red blood cells or primary cells. Those reagents often require blood and/or tissue sampling from the animals.

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

Quality control testing for biological products is mandatory and performed in line with the products market authorisations and according to the various documents such as EU directives, the European Pharmacopoeia (Ph.Eur), guidelines and regulations of the European Medicines Agency and other international regulatory authorities. The testing determines whether the product batches comply with the specified requirements for release, based on the requirements of regulatory authorities.

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Potency testing
2	Batch safety testing and Extraneous Agents/Identity testing
3	Acquire biological (test) materials
4	Addition for potency testing and residual toxicity testing
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Format DEC-advies

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

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD^{10.2.e.eng}0173044-5 (*tekst amendement in grijsblauw cursief*)
2. Titel van het project: **In-vivo Quality Control tests in the Quality Control Operations Department**
3. Titel van de NTS: **In-vivo kwaliteitscontrole testen voor de Quality Control Operations Afdeling**

Type aanvraag: **nieuwe aanvraag projectvergunning, amendement -5**

4. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: ^{10.2.e.eng}
 - telefoonnummer contactpersoon: ^{10.2.e.eng}
 - e-mailadres contactpersoon: ^{10.2.e.eng}nl

5. Adviestraject (data dd-mm-jjjj): *voor amendement 5*

Adviestraject *amendement-5* (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: 12-10-2020
- aanvraag compleet: ja
- in vergadering besproken: *nee, schriftelijk behandeld*
- termijnonderbreking(en): 26-10-20 tot 5-11-20
- aanpassing aanvraag: ja, zie in bijgevoegde stukken de aanpassingen
- advies aan CCD: 11-11-2020

6. **De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD. Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.**

7. Eventueel horen van aanvrager: *n.v.t.*

8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum vragen: 26-10-2020
 - Datum antwoorden: 5-11-2020
 - Gestelde vragen en antwoorden (*in rood*):

Vraag behorende bij 5^e amendement

Uw aanbiedingsbrief maakt duidelijk dat naast de toegewezen 10 schapen in appendix 2 (veiligheidstests), 10 extra schapen worden gevraagd voor de resterende periode. Deze resterende periode bedraagt vijf maanden. Waarom is er voor deze korte tijd toch sprake

van een verdubbeling en dus een verveelvoudiging van het gebruik van schapen per tijdseenheid?

10.2 e. en g

Voorwaarde voor afronding was de indiening van een wijzigingsaanvraag indien in de periode tot het einde van de vergunning meer dieren benodigd zouden zijn. Hierop is navraag gedaan bij planning. Hieruit blijkt dat het de verwachting is dat binnen de huidige looptijd van deze vergunning er nog 4 extra dieren gepland zouden staan. Dit maakt een totaal van 6 dieren voor de reguliere testen. 10.1 c en 10.2 g

De antwoorden hebben niet geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) n.v.t.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling) in grijsblauw cursief de aanpassingen voor dit amendement

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Geen van de DEC-leden is betrokken bij de aanvraag.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld). De aanvraag is toetsbaar is en heeft voldoende samenhang. De aanvraag heeft uitsluitend betrekking op wettelijk verplichte testen die worden uitgevoerd in het kader van de kwaliteitscontrole van vaccins. Het betreft dus testen op "batches" van producten die uitontwikkeld zijn en die toegelaten zijn op de markt. De Research en Development fases zijn voltooid. Ook zijn de testen die worden gebruikt uitontwikkeld en staat het vast dat de testen voldoen aan de eisen die de verschillende richtlijnen stellen. Alle testen en experimenten lijken sterk op elkaar voor wat betreft de experimentele handelingen: vaccineren, 10.1 c en 10.2 g, het nemen van bloedmonsters en monitoring van eventuele ziekteverschijnselen. Experimenten gericht op het verkrijgen van biomaterialen 10.1 c en 10.2 g

Deze wijziging betreft een uitbreiding met 5 schapen, waarvan de onderzoeker in een begeleidend schrijven en ook nog eens op verzoek van de DEC (ter verduidelijking) heeft uitgelegd waarom deze uitbreiding is gewenst. De DEC begrijpt uit het antwoord waarom deze uitbreiding wordt aangevraagd.

2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet). Voor zover bekend bij de DEC zijn er geen aspecten in de aanvraag die niet in overeenstemming zijn met andere wet- en regelgeving.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.
De DEC is van mening dat de genoemde doelcategorieën "translationeel" en "wettelijk verplicht" aansluiten bij de hoofddoelstelling.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).
Het directe doel van de experimenten is het testen van de veiligheid en werkzaamheid ("potency") van de vaccins en het verkrijgen van weefsels en dierlijke materialen die nodig zijn voor het uitvoeren van de testen, teneinde vrijgave te verkrijgen voor de vaccinbatches waar het om gaat. Uiteindelijk is het testen van de veiligheid en werkzaamheid van vaccins nodig om de gezondheid en het welzijn van gevaccineerde dieren en hun omgeving (andere dieren, mensen, het milieu) te beschermen. Er is een directe, reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*).
De belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn de proefdieren, de aanvrager en de doeldieren, hun eigenaren en de samenleving als geheel. Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn en integriteit worden aangetast. De dieren zullen beperkt worden in hun natuurlijke gedrag en gedurende de proeven zullen de dieren stress ondervinden en pijn lijden. Uiteindelijk zullen ze in het kader van het onderzoek gedood worden. De doeldieren en hun eigenaren hebben er belang bij dat er veilige, goed werkende vaccins op de markt komen. De aanvrager heeft een aanzienlijk economisch belang bij het op de markt kunnen brengen van de vaccins. De samenleving heeft er belang bij dat goed gecontroleerd wordt of de vaccins werken, veilig zijn en geen risico vormen voor mens en milieu.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.
6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen.
Er is geen aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische*

handreiking ETK: Stap 1.C5).

De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en infrastructuur beschikt om de doelstelling van het onderzoek binnen de gevraagde termijn te realiseren. Dit wordt ondersteund door het feit dat de aanvrager uitgebreide ervaring heeft met deze testen en deze in het verleden altijd adequaat heeft uitgevoerd.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 8.** Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. *Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6).*

De DEC is van mening de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

Welzijn dieren

- 9.** Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie Bijlage I voor toelichting en voorbeelden).*

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, Bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens Bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

Het is gebruikelijk dat de landbouwhuisdieren die in dit type experimenten worden gebruikt niet speciaal gefokt zijn voor dierproeven. Dit is wetenschappelijk verantwoord en voldoende onderbouwd.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 10.** Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Niet in alle gevallen worden de dieren gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in Bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Bij

10.1 c en 10.2 g is het niet mogelijk om bedding te verstrekken. De DEC onderschrijft dit.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 11.** Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2).*

Het ongerief van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief wordt enerzijds veroorzaakt door de handelingen die nodig zijn om de dieren

te injecteren, al dan niet te [10.1 c en 10.2 g] en de effecten daarvan te monitoren. Dit veroorzaakt licht tot matig ongerief, afhankelijk van de frequentie en de duur van de handelingen. Anderzijds wordt het ongerief veroorzaakt doordat een deel van de dieren ziekteverschijnselen krijgt als gevolg van de ziekteverwekker waarmee ze worden [10.1 c en 10.2 g]. Dit veroorzaakt matig tot ernstig ongerief, afhankelijk van de aard en de virulentie van de ziekteverwekker en van het moment waarop een humaan eindpunt kan worden toegepast. Daarbij dient te worden aangetekend dat veel van de dieren die met deze ziekteverwekkers worden [10.1 c en 10.2 g] beschermd zullen zijn door het te testen [10.1 c en 10.2 g]. Een ernstige aantasting van het welzijn zal zich naar verwachting alleen voordoen [10.1 c en 10.2 g].

[10.1 c en 10.2 g] (maximaal 7% van het totaal aantal dieren in de aanvraag zal daarvan ook ernstig ongerief ondervinden). Veiligheidstesten en experimenten voor het verkrijgen van biomaterialen leiden zelden of nooit tot meer dan licht (en in een enkel geval matig) ongerief, onder andere omdat de ervaring leert dat het productieproces zo goed gestandaardiseerd is dat het eigenlijk nooit voorkomt dat partijen vaccins vreemde stoffen bevatten of niet goed geïnactiveerd zijn. Deze testen zijn dan ook niet voor alle markten verplicht. De aard van de ziekteverschijnselen is voor alle gangbare ziekteverwekkers bekend en in de loop van vele jaren zijn bij de aanvrager in nauwe samenspraak tussen onderzoekers, proefdierdeskundigen/IvD en de DEC strikte criteria voor humane eindpunten ontwikkeld. Voor alle dieren in de projectaanvraag geldt dat navolgbaar is in welk soort experiment zij zullen worden ingezet, welke handelingen ze zullen ondergaan en welke gevolgen dat heeft voor hun welzijn.
Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 12.** Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).

Elke dierproef vormt, door de vrijheidsbeperking en de aantasting van de lichamelijke integriteit voor instrumentele doeleinden, een aantasting van de integriteit van het dier. Het toedienen van vaccins, het afnemen van bloed en het toedienen van ziekteverwekkers en de gevolgen daarvan, kunnen natuurlijk beschouwd worden als een aantasting van de fysieke en gedragsmatige integriteit van de dieren, maar de DEC is van oordeel dat bij deze handelingen het ongerief (de welzijnsaantasting) op de voorgrond staat. De aantasting van de integriteit van de dieren is daarmee vergeleken beperkt.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 13.** Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De criteria voor humane eindpunten zijn goed gedefinieerd. Uitsluitend voor de dieren in Bijlage 1 die [10.1 c en 10.2 g] worden met een ziekteverwekker die ernstig ongerief kan veroorzaken en die [10.1 c en 10.2 g] valt te verwachten dat het nodig is om in te grijpen en een humaan eindpunt toe te passen. [10.1 c en 10.2 g]. In de loop van vele jaren zijn bij de aanvrager in nauwe samenspraak tussen onderzoekers, proefdierdeskundigen /IvD en de DEC strikte criteria voor humane eindpunten ontwikkeld passend bij de betreffende aandoeningen.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

3V's

- 14.** Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. In veel van de experimenten zijn de proefdieren ook doeldier. Daar waar mogelijk zijn de experimenten met levende dieren vervangen door in vitro analyses gericht op het bepalen van de hoeveelheid **10.1 c en 10.2 g**

Met name voor veel geïnactiveerde vaccins is dat echter niet mogelijk of is de voorspellende waarde ervan onvoldoende. Ook zijn er gevallen waarin het wel mogelijk is, maar waarin de autoriteiten desondanks de in vivo test eisen om het vaccin toegelaten te krijgen tot de markt.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 15.** Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).).

Voor wettelijk vereiste experimenten liggen de aantallen te gebruiken dieren in de meeste gevallen vast. Die aantallen worden in een aantal gevallen genoemd in de richtlijnen en in andere gevallen zijn ze vastgesteld op basis van onderzoek in de development fase van het vaccin. Als daar ruimte voor is, zal het aantal benodigde dieren in de experimenten statistisch berekend worden om niet te veel dieren te gebruiken, maar wel voldoende om bruikbare conclusies te kunnen trekken en zo te voorkomen dat de experimenten opnieuw moeten worden gedaan. De aanvrager heeft op basis van eerdere ervaring met dit soort experimenten een realistische inschatting gemaakt van het aantal te gebruiken dieren.

De DEC heeft een aanvullende vraag gesteld over de onderbouwing van het extra benodigde aantal dieren. Het antwoord was verhelderend.

- 16.** Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De aard van de verwachte ziektesymptomen is voor het merendeel van de ziekteverwekkers bekend en er zijn strikte criteria voor humane eindpunten ontwikkeld. Verder zal waar mogelijk gebruik worden gemaakt van **10.1 c en 10.2 g** assays voor **10.1 c en 10.2 g** (als minder belastend alternatief voor **10.1 c en 10.2 g**). Waar dat mogelijk is zonder het doel van de proef in gevaar te brengen, zal pijnbestrijding worden toegepast. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

- 17.** Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.

Het betreft unieke door de aanvrager ontwikkelde vaccins. zal de proeven zo ontwerpen dat ze voldoen aan wettelijke eisen voor markttoelating op zoveel mogelijk markten tegelijk. De aanvrager brengt **10.2 e. en g** vaccins op de markt en is zeer goed op de hoogte van de eisen die worden gesteld door regelgevende autoriteiten in de verschillende regio's van de wereld.

Niet gewijzigd t.o.v. de oorspronkelijke aanvraag.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

- 18.** Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Binnen dit project zullen in principe dieren van beide geslachten in de experimenten