

De verwachte uitval van 50% berust op de hoge mortaliteit in onze studie populatie bestaande uit honden met acute nierinsufficiëntie en onderliggende pathologie, zoals u in uw volgende opmerking erkent. De te verwachte hoge uitval is dus niet het gevolg van de experimentele behandeling, maar van het pre-existente ziektebeeld. Dit hebben wij als volgt aangepast in het projectvoorstel.

J. Humane eindpoints: "The likely incidence of a human endpoint is high (50%) due to the high mortality associated with acute kidney injury and underlying pathology. Thus, the high incidence of a human endpoint is not due to the experimental treatment."

- I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen: U geeft hier een opsomming van aspecten die van invloed kunnen zijn op het welzijn van de dieren. Deze punten graag opsplitsen in aantasting als gevolg van het nierfalen (dat de honden sowieso al hebben) en aantasting als gevolg van het experiment.

De opsomming bij I. "Other aspects compromising the welfare of the animals", is opgesplitst in aspecten als gevolg nierfalen en als gevolg van het experiment.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals:

Aspects related to kidney injury:

- 1. Hypervolemia and related symptoms.*
- 2. Physical complaints resulting from accumulation of waste solutes, e.g. anorexia, nausea and vomiting.*

Aspects related to the experiment:

- 3. Abdominal discomfort or pain.*
- 4. Infection of the peritoneal membrane (peritonitis).*
- 5. Infection of the venous line may result in bacteraemia and sepsis.*
- 6. Neurological symptoms due to "disequilibrium".*
- 7. (Low pressure) venous bleeding may occur due to catheter dislodgement.*
(Unknown) adverse effects due to dialysis with the novel dialysis technique.

- J. Humane eindpunten/ K. Classificatie van ongerief: De opsomming van de humane eindpunten lijken niet te passen bij de inschatting van het ongerief. Gezien de genoemde symptomen die kunnen voorkomen is het wel erg positief bekeken dat alle dieren maximaal matig ongerief ervaren. Graag uw visie.

Wanneer een humaan eindpunt wordt bereikt zal het dier direct worden geëuthanaseerd.

De dieren worden tijdens het experiment continu gemonitord op de intensive care van de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren en een toename van ongerief zal daarom snel worden gedetecteerd. Indien een humaan eindpunt wordt bereikt zal het dier dus slechts kortdurend ernstig ongerief ervaren totdat euthanasie plaatsvindt. Om deze reden wordt het totale te verwachte ongerief ingeschat als matig. Nota bene, zoals gedefinieerd in de in- en exclusie criteria, worden alleen dieren geïncludeerd met acuut nierfalen waarbij er een redelijke verwachting is dat tijdelijke behandeling met peritoneale dialyse zinvol is ter overbrugging van een tijdelijk probleem. In deze dieren is dus bij presentatie al sprake van matig ongerief, waarbij de experimentele behandeling het ongerief kan verminderen. De beschrijving bij K. "Classification of severity of procedures" is als volgt aangepast:

K. Classification of severity of procedures: "Animals will experience moderate discomfort due to symptoms related to acute kidney injury and underlying pathology. The experimental treatment (peritoneal dialysis) may actually improve animals' clinical condition due to removal of excess water and uremic toxins. However, animals might experience additional discomfort related to study procedures, including short-term moderate discomfort after placement of the peritoneal catheter and venous line, mild-moderate long-term (8 h/day) (abdominal) discomfort during the dialysis experiment, and fixation of animals during blood sampling via the venous line and handling of the peritoneal catheter may cause short-term mild discomfort."

- L. Wijze van doden: De dieren worden niet gedood in het kader van het experiment. Graag wijzigen.
De motivatie waarom dieren worden gedood is inderdaad niet van toepassing en is geschrapt.
- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag: Ja

9. 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 één nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord.
 - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord.
 - uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord.
 - wettelijk vereist.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) zijn / is in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en).
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een substantieel belang, omdat het onderzoek kan bijdragen aan een nieuwe dialysebehandeling voor patiënten met een ernstige nierziekte. De huidige nierdialysetechnieken zijn tijdrovend en niet optimaal. Het bloed wordt niet volledig gezuiverd, waardoor gezondheidsproblemen ontstaan en jaarlijks 15 tot 20% van de patiënten alsnog overlijdt. Door het ontwikkelen van nieuwe filtertechnieken kan de bloedzuivering geoptimaliseerd worden en doordat het een draagbaar apparaat betreft wordt de mobiliteit en daarmee de vrijheid en het sociale en economische leven van de patiënt verbeterd. Door middel van deze, voornamelijk, translationele studie kan onderzocht worden of

het toepassen van het nieuwe dialyseapparaat, de 'draagbare kunstnier', een effectieve en veilig toepasbare techniek is en op (korte) termijn de translatie naar de kliniek kan maken. *Om de transleerbaarheid van resultaten te bevorderen wordt een nieuwe bijlage toegevoegd die het testen van het nieuwe dialyseapparaat in uremische honden beschrijft. Bij het opzetten van de grote proefdiermodellen zoals beschreven in de oorspronkelijke projectaanvraag is gebleken dat het transport van uremische toxines over het buikvlies van de geit en het varken veel lager is dan in de mens, waardoor de effectiviteit van het prototype draagbare kunstnier niet goed beoordeeld kan worden. Aangezien uit de literatuur bekend is dat de hond een geschikt model is voor onderzoek op het gebied van peritoneale dialyse (PD), en honden met acuut nierfalen in de reguliere praktijk succesvol behandeld kunnen worden met behulp van PD, lijkt de uremische hond een geschikt alternatief groot proefdiermodel. Het gaat hierbij om hondenpatiënten die in verband met acuut nierfalen aangeboden worden aan de Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren. Bij deze honden hoeft dus – anders dan bij de geiten en varkens uit de oorspronkelijke aanvraag – geen uremie geïnduceerd te worden.*

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De DEC is ervan overtuigd dat de aanvrager over voldoende expertise en voorzieningen beschikt om de projectdoelstelling met de gekozen strategie/aanpak binnen de gevraagde termijn te realiseren. *Door gebruik te maken van de patiënten en 10.2 .e. en g*
wordt gewaarborgd dat men over de juiste kennis en middelen beschikt om de aanvullende experimenten in honden op adequate wijze te kunnen uitvoeren.

5. 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)
- Gefokt voor dierproeven (11)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Huisvesting en verzorging
- Locatie: instelling vergunninghouder (10g)

De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd.

De geiten in bijlagen 1 en 2 worden individueel gehuisvest na het aanbrengen van de jugular katheter om te voorkomen dat de katheter losraakt door contact met andere geiten. De katheter blijft maximaal 4 weken zitten, waarna deze verwijderd wordt en de dieren weer gezamenlijk gehuisvest worden.

In bijlage 3 worden de geiten individueel gehuisvest gedurende 1 tot 3 dagen na operatie, totdat de dieren fit genoeg zijn om hun eigen natuurlijke rang in de sociale hiërarchie van de

groep weer in te nemen. Tevens stelt het de onderzoeker in staat de voedselinname goed te monitoren zodat eventuele tympanie vroegtijdig gesignaleerd kan worden.

De geiten in bijlage 4 worden 1 tot 2 dagen na embolisatie of nefrectomie individueel gehuisvest om de dieren bij te laten komen van de ingreep en na het aanbrengen van de jugular katheter, welke maximaal 6 weken blijft zitten. Voor alle bijlagen (1 t/m 4) geldt dat de geiten wel in dezelfde ruimte worden gehuisvest waardoor ze elkaar kunnen ruiken, zien en horen.

De grote meerwaarde van de voorliggende wijziging ligt in het feit dat gebruik gemaakt wordt van hondenpatiënten die lijden aan de aandoening waarvoor het te testen apparaat ontwikkeld wordt. Het betreft dus honden die niet gefokt werden om als proefdier gebruikt te worden, maar honden van particuliere eigenaren.

De honden (bijlage 6) worden individueel gehuisvest. Dit is in het kader van de patiëntenzorg op de afdeling 10.2 .e. en g , en specifiek voor de voorgenomen experimenten noodzakelijk, omdat manipulatie van de peritoneale katheter en de veneuze lijn door andere honden voorkomen dient te worden. De honden kunnen andere honden die in dezelfde ruimte worden gehuisvest wel ruiken, zien en horen.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. In alle bijlagen is het (cumulatieve) ongerief ingeschat als matig. In bijlage 1 is het ongerief matig als gevolg van het aanbrengen van de jugular katheter en de infusie experimenten en in bijlage 2 als gevolg van het aanbrengen van de jugular katheter en de dialyse experimenten. In bijlage 3 wordt het matige ongerief veroorzaakt als gevolg van de embolisatie of nefrectomie en het daarop ontstane nierfalen en in bijlage 4 eveneens als gevolg van de embolisatie of nefrectomie en het daarop ontstane nierfalen en door het aanbrengen van de jugular katheter en de dialyse experimenten. Met betrekking tot bijlagen 3 en 4 zal er geprobeerd worden een stabiel niveau van nierfalen met relatief hoge plasmaconcentraties van afvalstoffen (ureum ≥ 15 mM en creatinine ≥ 250 μ M) aan te houden en te voorkomen dat de nierinsufficiëntie zo ernstig is dat de dieren ernstig ongerief ervaren ten gevolge van het vasthouden van vocht, zoals benauwdheid ten gevolge van longoedeem, of dat er een ernstige hyperkaliemie ontstaat. Mocht dat onverhoopt toch gebeuren dan zal direct dialyse uitgevoerd worden, gevolgd door frequente (intermitterende) dialyse. In bijlage 5 wordt het ongerief veroorzaakt door de nefrectomie en het daarop ontstane nierfalen. De ratten ervaren matig ongerief ten gevolge van de ophoping van afvalstoffen. Ernstig ongerief kan optreden als gevolg van longoedeem door het vasthouden van vocht als gevolg van verminderde urineproductie. Dit treedt vrijwel nooit op (<1%). Mocht er toch ernstig ongerief optreden dan zullen de ratten worden gedood (humaan eindpunt). Gezien de handelingen is de DEC van mening dat de ongeriefsinschattingen realistisch zijn.

Het ongerief voor de honden in bijlage 6 wordt ingeschat als matig. Dit ongerief is voor een groot deel toe te schrijven aan de symptomen die gepaard gaan met acuut nierfalen (en de onderliggende pathologie). De experimentele handelingen leiden tot aanvullend ongerief (variërend van mild tot matig), maar dit is vergelijkbaar met het ongerief dat hondenpatiënten ondervinden wanneer ze behandeld worden met het gangbare dialyseapparaat. Bovendien is het

mogelijk dat de klinische toestand en het daarmee gepaard gaande ongerief verbeteren dankzij de experimentele behandeling.

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen. Voor het gehele projectvoorstel geldt dat voorafgaand aan de proefdierexperimenten uitgebreide in vitro testen naar de effectiviteit en veiligheid hebben plaatsgevonden. De situatie bij patiënten en proefdieren is echter wezenlijk anders dan de in vitro situatie. Voor een goede evaluatie van de in vivo kinetiek, de invloed op de hemodynamiek, de stofwisseling, de ademhaling en het zuur-base evenwicht en de effecten op het welzijn van de dieren, is in vivo onderzoek dan ook noodzakelijk. Ook om de translatie naar de kliniek te kunnen en mogen maken is een zorgvuldige beoordeling van de dialysetechniek op effectiviteit en veiligheid bij proefdieren helaas vereist.

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de vermindering van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De DEC is van mening dat het maximale aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en proportioneel is ten opzichte van de gekozen strategie en looptijd. Voor de infusie experimenten (bijlage 1) en de dialyse experimenten (bijlage 2) zullen, indien mogelijk, dezelfde (gezonde) dieren worden gebruikt. Afhankelijk van het aantal dialyse experimenten dat een dier heeft ondergaan zullen de dieren uit bijlage 2 ook in bijlage 3 gebruikt worden. Voor de experimenten in bijlage 4 zullen de dieren uit bijlage 3 worden gebruikt, mits er d.m.v. de embolisatie of nefrectomie een stabiel nierfalen is geïnduceerd en het ongerief niet meer dan matig bedraagt. De experimenten zijn zo opgezet dat met een zo klein mogelijk aantal dieren toch een betrouwbare vergelijking gemaakt kan worden tussen de nieuwe dialysetechnieken en de reeds bestaande behandeling. In bijlagen 2 en 4 zal een crossover design gebruikt worden om de variatie te verkleinen, waardoor minder dieren nodig zijn. Indien meerdere nieuwe technieken getest worden in een zelfde periode, dan zal geprobeerd worden gebruik te maken van dezelfde controle dieren. De chirurgische technieken voor het induceren van embolisatie en nefrectomie in bijlage 3 zijn vooraf geoefend op geiten in een terminaal experiment van een ander DEC-protocol. Door het opdoen van deze ervaring wordt de kans op uitval van de dieren verkleind. In de bijlage 1 t/m 4 zullen alleen vrouwelijke geiten gebruikt worden omdat vrouwelijke geiten beter trainbaar zijn en mannelijke geiten moeilijker gezamenlijk te huisvesten zijn, wat van negatieve invloed is op het ongerief voor de geit. Er zal eveneens alleen gebruik worden gemaakt van vrouwelijke biggen, omdat mannelijke biggen moeilijk te hanteren zijn. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. *De aanvrager heeft duidelijk toegelicht hoe de berekening van het benodigde aantal dieren (10 honden) tot stand gekomen is. In verband met de hoge mortaliteit (50%) bij honden met acuut nierfalen is het noodzakelijk om een relatief groot aantal extra dieren (10 additionele honden) te includeren om te kunnen compenseren voor de te verwachten uitval.*

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Vanwege de aard van de experimenten worden de dieren intensief gemonitord en zal adequate pijnbestrijding worden toegepast. Bij complicaties of bij constatering van mindere conditie van de dieren zal direct actie worden ondernomen. Tussen de experimenten zullen de dieren voldoende tijd krijgen om te herstellen. De dieren zullen getraind worden voor het ondergaan van het infusie- en dialyse-experiment zodat ze gewend raken aan de procedure. In de experimenten zullen geiten worden gebruikt omdat geiten beter trainbaar zijn, de vena jugularis goed toegankelijk is en ze het juiste gewicht hebben, wat ze goed vergelijkbaar maakt met de mens. In bijlage 3 en 4 worden eventueel varkens gebruikt ter vervanging van de geiten indien de inductie van nierfalen in geiten niet succesvol verloopt met tympanie als gevolg. Voor varkens geldt eveneens dat zij qua anatomie goed vergelijkbaar zijn met de mens. Ratten zullen gebruikt worden om de veiligheid bij langdurige blootstelling te evalueren. Voor een zorgvuldige beoordeling hiervan zal de behandeling gedurende tenminste 10% van de levensduur van een proefdier volgehouden moeten worden. Aangezien een dergelijk lange duur van een experiment niet goed haalbaar is bij grote proefdieren, zullen hiervoor ratten gebruikt worden.

In bijlage 6 (en in de schriftelijke reactie op vragen van de DEC) wordt helder beschreven op welke wijze het ongerief voor de dieren tot een minimum wordt beperkt. In de ogen van de DEC waarborgt de deskundigheid en ervaring van de betrokken dierenartsen dat de dieren nauwkeurig gemonitord worden en er tijdig ingegrepen zal worden wanneer zich complicaties voordoen en het ongerief meer dan matig dreigt te worden.

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

D. Ethische afweging

Op grond van de onder C, punt 3, genoemde overwegingen is de DEC van mening dat het belang van de doelstelling, namelijk het testen van de effectiviteit en veiligheid van nieuwe dialysetechnieken voor de behandeling van mensen met nierfalen, substantieel is.

Als gevolg van het aanbrengen van de jugular katheter en de infusie experimenten (bijlage 1), het aanbrengen van de jugular katheter en de dialyse experimenten (bijlage 2), de embolisatie of nefrectomie en het daarop ontstane nierfalen (bijlagen 3), de embolisatie of nefrectomie en het daarop ontstane nierfalen, het aanbrengen van de jugular katheter en de dialyse experimenten (bijlage 4) en de nefrectomie in bijlage 5 treedt weliswaar matig ongerief op, maar de DEC is van mening dat deze handelingen noodzakelijk zijn voor het bereiken van het gewenste doel.

Dit projectvoorstel is voornamelijk translationeel van aard. De dosis van de uremische toxines worden eerst bepaald en vervolgens zullen verschillende dialyse technieken getest worden in gezonde dieren, waarna een chronisch nierfalen model voor grote proefdieren zal worden

ontwikkeld en de dialyse technieken in zieke dieren worden getest. Bijlagen 4 en 5 zijn daarnaast nodig volgens de ISO standard 10993 'Tests for systemic toxicity' en voor de CE-certificering en daarmee wettelijk vereist onderzoek om de translatie naar de mens ook te mogen maken. Dit maakt dat de DEC van mening is dat gekozen is voor de juiste onderzoeksstrategie.

De onderzoekers hebben goed beargumenteerd waarom zij in dit onderzoek alleen vrouwelijke geiten en varkens willen gebruiken. De varkens worden alleen ingezet indien de studie met de geiten niet naar verwachting verloopt. Er is voldaan aan de vereisten van verfijning en vermindering. Het is nog niet mogelijk om dit onderzoek bij mensen uit te voeren en er zijn evenmin in vitro of ex vivo alternatieven beschikbaar.

Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het belang van de doelstelling opweegt tegen het ten hoogste matige ongerief dat de dieren in dit project zullen ondervinden. Zij acht gebruik van de dieren ethisch aanvaardbaar.

De DEC is unaniem van mening dat de voorliggende wijziging een waardevolle aanvulling is op de oorspronkelijke projectaanvraag en er in sterke mate aan bijdraagt dat de doelstelling van het project behaald kan worden. In de ogen van de DEC is het belang, net als in de oorspronkelijke aanvraag, substantieel en weegt dit substantiële belang op tegen het matige ongerief dat de honden zullen ondervinden. De oorspronkelijke en aanvullende onder C genoemde overwegingen brengen de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de honden voor de voorgenomen experimenten gerechtvaardigd is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden

De DEC adviseert de vergunning voor deze wijziging te verlenen.

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

UMC Utrecht
t.a.v. Prof.dr. F. Miedema
Postbus 80125
3508 TC UTRECHT

**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
AVD115002015226-3

Datum 4 juli 2019
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen
1

Geachte Prof. dr. Miedema,

Op 23 april 2019 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "In vivo validation of novel dialysis techniques" met aanvraagnummer AVD115002015226, waarvoor op 21 september 2015 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD115002015226-3. 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 "In vivo validation of novel dialysis techniques" 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 29 mei 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 17 juni 2019 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft op 3 juli 2019 antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op de wetenschappelijke motivering voor de gebruikte diersoort; het aantal dieren; en een aanpassing in de NTS. 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 21 september 2015 een vergunning is verleend.

Vergunning

Aan de vergunning worden de volgende dierproeven toegevoegd:

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
In vivo validation of a miniature artificial kidney device for peritoneal dialysis in a uremic dog model	Honden	20	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:

Drs. F. Braunstahl

10.2 .e. en g

- DEC-advies



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.

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.

Many of the birds that live in the Netherlands do not stay here year-round but migrate southwards each autumn to winter in warmer regions in southern Europe or Africa. In spring they move northwards again to lay eggs and raise their young, profiting from the abundance of food and the long daylight periods

during summer. Migratory birds can travel long distances, they may even cross the Sahara desert to wintering grounds in central and southern Africa. Other bird species, for example many goose, duck and waders species, do the opposite, they breed in arctic areas and winter in the Netherlands. Worldwide, bird migration is very common and there are several major global migration routes along which migration takes place.

In addition to seasonal migrations between breeding and wintering areas, birds may show irregular movements in response to food shortage or adverse weather. Movements just after the breeding season include moult-migrations and post-breeding dispersal of young birds and may deviate in direction and timing from the normal seasonal migration routes.

Birds are prone to become infected with a large number of diseases, many of which have a (sub) tropical origin. Due to their social behavior and group living in many species or during specific times of the year, diseases can spread easily between individuals, either in a direct way or through an intermediate host, frequently mosquitoes and ticks. When birds migrate from (sub-)tropical to temperate regions in spring, or show other movements later in the annual cycle, they can carry disease agents and vectors, and move them between different areas. An important group of disease agents that can be spread by migratory birds are viruses. It is known that infected migratory birds are involved in the spread of viruses over long distances (Pfeffer and Dobler, *Parasites & Vectors* 2010), particularly from Africa to Europe. Once introduced, these viruses can be further dispersed by short-distance migratory and resident bird species.

There are some well-studied examples of dispersal and amplification of viruses by birds. For example, migratory birds have long been suspected as the principal introductory hosts of West Nile Virus (WNV) into new regions. It has been shown that WNV can be spread through the dynamics of corvids (10.2.e.eng). Also, outbreaks in temperate regions generally coincide with the arrival of large concentrations of migratory birds and often occur among humans living in or near wetlands where high concentrations of birds come into contact with large numbers of mosquitoes. Antibodies to the virus have been found in the blood of many migratory bird species in Eurasia and WNV has been isolated from some species of actively migrating birds. The pattern of WNV outbreaks in southern Europe suggests that viremic migratory birds may contribute to movement of the virus (10.1.c.en 10.2.g, 10.2.e.eng). Because of its rapid spread and wide range of hosts, WNV has become a model system for understanding the ecological factors influencing the dynamics and impact of zoonotic diseases (10.2.e.eng). However, much less is known about the dynamics of other flaviviruses and the occurrence of flaviviruses and other arboviruses in north-western European countries (e.g. Netherlands, Belgium, Denmark). A monitoring study revealed that migratory birds arriving in southeastern Sweden in spring did carry antibodies to WNV (10.2.e.eng), suggesting at least that migratory birds residing partially in north-western Europe including the Netherlands can be involved in the spread of flaviviruses.

Zoonoses can spread from birds to humans directly, for example via feces containing the virus, or via vectors as ticks, mosquitoes, midges and sandflies. In recent years a number of arboviruses that are spread by such vectors, particularly those belonging to the family *Flaviviridae* (e.g., dengue virus, West Nile virus (WNV), zika virus, Usutu virus, Japanese encephalitis virus), *Bunyaviridae* (e.g., Crimean Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, Toscana virus, tahyna virus, batai virus), and *Togaviridae* (chikungunya virus, Sindbis virus, Ross River virus), have emerged in new geographic regions. The expanding geographic distribution of these viruses is likely the result of a combination of factors such as the global human population increase, increased mobility, habitat degradation and climate change (reviewed in: 10.2.e.eng). Some of these zoonotic viruses are maintained in a bird-mosquito-bird transmission cycle, with mosquitoes as the vector and birds as amplifying hosts. Wild birds serve as major reservoirs of these viruses and can potentially spread these diseases during migration or other movement. Often, birds do not show overt disease symptoms. The fact that birds do not (always) show disease symptoms makes it difficult to monitor the presence of these disease agents. The only way to investigate the exposure to and the occurrence of zoonotic viruses in birds therefore is to analyse, randomly selected, live migratory birds.

Some of the zoonotic viruses residing in birds can constitute serious health hazards as they can infect and cause disease and death of humans, although humans have no significance for the epidemiology of the viruses. The infection of humans is in most cases caused by the bite of an infected mosquito. This is true for many flaviviruses, but of these WNV has been studied in most detail (10.2.e.eng [redacted]). WNV is of particular concern as following its emergence in the United States in 1999 it has rapidly spread across North America, and has recently been reported in Mexico, South America, and the Caribbean. WNV has also spread into South-eastern Europe where it is now endemic and further spread is likely, especially due to increasing climate warming in more northern regions. Wild birds may play a role in these rapid spreads, but firm evidence is still lacking. Currently, no specific therapy or vaccine has been approved for use against WNV infection in humans (10.2.e.eng [redacted]).

There is still a considerable gap in our knowledge about the role that different bird species play in the ecology and transmission mechanisms of zoonotic viruses. Epidemiological surveys of bird populations at various geographical scales can clarify key aspects of the eco-epidemiology of these viruses. Current knowledge about the bird species that are particularly involved in the spread of zoonotic viruses is limited. Potentially, all species of birds may be involved. In Research question 1 we will investigate which species carry zoonotic viruses in the Netherlands. In addition, it is unknown whether the migratory birds only carry the virus from southern regions to the Netherlands (vector function) or whether resident birds can also have a reservoir function (Research question 3 and 4).

It is also important to understand the temporal (Research questions 2) and spatial (Research question 3) dynamics of the zoonotic viruses that migratory birds carry. This is important because many viruses are in a mosquito-bird transmission cycle, with mosquitoes as the vector and birds as amplifying hosts. One of the determining factors for establishment of a virus in naïve areas is the spatio-temporal co-presence of competent vectors and competent reservoir birds carrying the virus with sufficient viremia. For WNV it is known that the mosquitoes that can transmit WNV are present in the Netherlands, although no infected mosquitoes have yet been observed (10.2.e.eng [redacted]). To assess the risks for introduction and establishment of zoonotic bird-borne arboviruses in the Netherlands both vector and host dynamics should be fully understood. Once temporal and spatial dynamics of viruses in birds are known, entomological studies and studies in resident birds in key areas can provide information on the risk of a virus becoming endemic. Entomology studies are not part of this project.

The exact timing and volume of movements, both migratory and non-migratory, may vary from year to year. Also the level to which birds may be exposed to viruses in different areas may vary from year to year. Mosquito vectors become active when ambient temperatures reach a certain threshold. The level of vector activity, vector abundance, the level of virus replication in the vectors and, hence, the rate at which birds can become infected with virus, will thus depend amongst others on (micro) climatic conditions and will vary between years. It is therefore necessary to perform studies over a period of several years to investigate the effect of these sources of variation on the transfer of viruses by birds. Moreover, due to rapid climatic change both patterns of bird migration and the distribution of flaviviruses and other arboviruses is expected to change in northern Europe in the future. In order to be able to predict the temporal trends in the occurrence of bird-driven zoonotic virus circulation in the Netherlands it is necessary to study this over multiple years (Research question 5).

This research plan falls within the larger scope of (10.2.e.eng [redacted]) that (10.2.e.eng [redacted]) is conducting. (10.2.e.eng [redacted]) aims at unravelling the mechanisms of pathogenesis, cross-species transmission and spread of disease, and to developing effective intervention strategies. (10.2.e.eng [redacted]) develops a science-based generic sampling protocol for early detection of emergence of top 3 mosquito-borne and tick-borne viruses in ecological hot-spots. (10.2.e.eng [redacted]) at designing a ready-to-use multiplex surveillance test that detects exposure to multiple viruses, and eventually develop an early warning system. Within this framework, (10.2.e.eng [redacted]) organises the surveillance project for wild birds More information and [http://www.10.2.e.eng \[redacted\]](http://www.10.2.e.eng [redacted]). The proposed surveillance project will generate important knowledge about the spread of arboviral disease by birds in Europe that is much needed and

of great international significance. We expect the outcomes of this project to have a large scientific as well as public impact.

To date, our surveillance has greatly increased our knowledge about the occurrence of arboviruses in the Netherlands and led to two major discoveries:

In April 2016, Usutu virus (USUV) was detected for the first time in The Netherlands in a live blackbird *Turdus merula*. USUV is a flavivirus, related to West Nile Virus, and also capable of infecting humans. Disease associated with USUV infection in humans appears to be milder and only limited number of cases have been identified. Emphasis of the surveillance partly shifted towards blackbirds and other resident birds, and since, we have detected the disease in c. 150 individual birds of 12 species. Five months after the detection of USUV in the surveillance, a major outbreak of the disease occurred in September 2016, and further outbreaks followed in 2017 and 2018, showing the value of the surveillance as an early warning system. The outbreaks killed an estimated half million birds in the Netherlands at least, and infected 2% of the human population in the Netherlands, although to date no cases of USUV-related severe illness in humans have been found. Meanwhile, seroconversion and presumed immunity increased to c. 15% in blackbirds up to the end of 2018.

In August 2020, West Nile Virus (WNV) was isolated from a live common whitethroat *Curruca communis* for the first time outside [redacted] in The Netherlands. Follow-up sampling showed that the virus could also be detected in mosquitos from the same location during at least a whole month of sampling. As of 15 October 2020, three additional birds have been found positive for WNV, of which one was a house sparrow *Passer domesticus* caught in a [redacted]. On 15 October 2020, one case of West Nile virus infection has been reported in a [redacted]. This is the first time that a locally-acquired human case of WNV infection has been reported in The Netherlands. Like USUV, West Nile virus (WNV) infection is a mosquito-borne zoonosis. The disease, which has spread across the Northern Hemisphere in the past three decades, is now found on an annual basis in many European countries where the centre of gravity lies in Southern-European countries. Recently, WNV was reported for the first time in Germany. The virus is transmitted among birds through the bite of infected mosquitoes and incidentally infects humans and other mammals. About 80% of human WNV infections are asymptomatic. West Nile fever (WNF) is the most common clinical presentation but, older people and immunocompromised persons are at higher risk of developing West Nile neuroinvasive disease (WNND). There are no specific prophylaxis or treatment against the disease in humans.

After the discovery of WNV in birds and mosquitos outside [redacted], the discovery of a WNV-positive house sparrow in a [redacted], and the first human case linked to the outbreak near [redacted] are reasons for serious concerns. In the [redacted] where the positive house sparrow was caught, domestic chicken are being kept, as is rater common in many residential areas in the Netherlands. Because domestic chicken are a known WNV-host, and can potentially serve as an important reservoir in residential areas, we have asked a veterinarian to sample the chicken in the [redacted], and in a [redacted]. Samples have been and will be taken on 17 and 24 October 2020. Chicken are used as sentinel animals for WNV in for example Greese.

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?

The main aim of this project is to understand the role of wild, migratory birds in the spread of zoonotic viruses (in the Netherlands). The specific research questions that will be answered in this proposal are:

1. Which bird species carry zoonotic arboviruses in the Netherlands?
2. At what time of year and at which locations do birds carry these viruses?
3. Are migratory birds important vectors for zoonotic arboviruses?
4. Is there scope for breeding populations of migratory and resident birds to become local reservoirs for zoonotic arboviruses?
5. What are the temporal dynamics of, and possible trends in the occurrence of zoonotic arbovirus in the

Netherlands?

The proposed research is achievable, because [10.2.e.eng]

[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted] Details on these projects are provide further down. Since 2002, a training program for [10.2.e.eng] is in place in which [10.2.e.eng] are trained and already licensed [10.2.e.eng] are regularly reviewed. [10.2.e.eng] is world-leading in the study of zoonoses and the role of wild birds in virus dynamics. They have ample experience in the analyses of the avian blood and swab samples, and all samples will be analysed within the [10.2.e.eng] program. There is a good research infrastructure at and between all cooperating institutes which include within the [10.2.e.eng] besides [10.2.e.eng]

3.3 Relevance

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

Scientific relevance

The project will provide insights into the eco-epidemiology of zoonotic arboviruses and their avian hosts and clarify the role migratory birds play in the spread of these viruses into new areas.

Social relevance

Viruses that birds carry may constitute a hazard for human health. Knowledge about how birds spread viruses that are of concern and how transmission of viruses from birds to humans can be prevented are of enormous societal significance. The results of this project can be developed into an early warning signaling system with which risk levels in time and space can be predicted, and the vectors and diseases they transmit controlled ([10.2.e.eng])

3.4 Research strategy

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

The main aim of this project is to understand the role of wild migratory birds in the spread of zoonotic viruses in the Netherlands.

To answer the related research questions, wild birds and domestic chicken ('hobbykippen', when referring to wild birds hereafter wild birds *and* domestic chicken are meant) will be sampled and their samples will be screened for the presence of a range of zoonotic arboviruses. The viruses that we screen for are of the family *Flaviviridae*, *Bunyaviridae* and *Togaviridae*. These families carry viruses that are of significance for veterinary and public health. To do this we will take blood and swab samples from wild birds. For blood samples we will use a novel multiplex diagnostic test that allows testing for antibodies against multiple viruses with a very small amount of blood collected on filter cards ([10.2.e.eng]). In addition, in case swabs are not available e.g. when sampling small birds, molecular detection methods will be used on small amounts of blood collected on filter cards ([10.2.e.eng])

The blood samples are used to detect *antibodies* to specific viruses, which is an indicator for a recent/past exposure of the bird to the virus. The swabs are used to detect the presence of *virus genomes* in birds. When available, blood collected on filter cards will be used for molecular detection as well. Antibody testing in blood allows for a broader time-frame of analysis than detection of viral genomes. In the latter case most likely only acute infections will be identified while a combination with antibody testing offers the possibility to measure past exposures as well. The latter is very important as to identify the exact bird species that can be infected by the viruses of interest. This information can be used to target more dedicated sampling and later surveillance efforts to specific bird genera or species. The rate of waning of virus specific antibodies in birds is thought to be quite non-uniform and will largely depend on the age of the birds and the specific bird-virus combinations (10.2.e.eng [REDACTED]). The information about antibody decay rates is scarce as most experimental infections are terminated in acute phase of infection (10.2.e.eng [REDACTED]).

The wild birds from which the samples are taken are caught and sampled by certified bird 10.2.e.eng [REDACTED] catch and handle large amounts of birds year-round at many locations in the Netherlands for general monitoring (see above). We will focus on migratory birds that breed in the Netherlands and can be caught during migration, upon arrival at breeding sites, and during the post-breeding period. After an exploration phase, we will focus on key species and areas, and may also include resident bird species in such areas to study the possibility of local establishment of viruses.

Years 1+2: Screening of many bird species

The project will start with an extensive exploration phase. In this exploration phase we will investigate which bird species carry evidence of (past) infection with which zoonotic arboviruses in the Netherlands. Initial screening of a large number of bird species over a large geographical area is therefore necessary in the first phase. Depending on the origin of the birds when they migrate to the Netherlands they can be infected with different zoonotic viruses. Sampling will be done between March and September, as these are the months during which migratory birds arrive from their wintering grounds and are present in the Netherlands. Therefore the project will start on 1 March 2016 (and not 1 January).

More specifically, in these first two years the focus will be on four groups of bird species (see table 1). These groups differ in the region where they winter, their migration route and general ecology of the species involved. In each species group several target species are selected. These target species are migratory birds and they migrate from regions where zoonotic arboviruses are present towards the Netherlands. These species are also regularly observed and caught in the Netherlands (Table 1). In addition to target species, other species may be sampled. The results of the exploration phase will answer research question 1.

Years 3-5: Stratified sampling

Based on the results of the exploration phase, a smaller number of target species will be selected (high N per species, fewer species) to set up a stratified sampling program in subsequent years.

In this stratified sampling project the criteria for species selection are (1) that bird species had evidence of high virus exposure/prevalence in the exploration phase. In addition, (2) that the selected species should be observed in sufficiently high numbers in the Netherlands.

In these target species we will focus on the more in depth research questions 2, 3, 4, 5, focusing on within-year, between-year variation and spatial variation. Resident bird species in selected areas may be sampled in years 3-5 as well to gain knowledge about the potential for local establishment.

In addition to resident wild birds, domestic chicken will be sampled in a selection of areas. This may involve repeated sampling of the same individuals. Since, in contrast to wild birds, domestic chicken do not have to be captured using specific catching techniques but can be taken by hand, repeated sampling does not have to lead to increased discomfort.

It is highly likely that our sampling will continue after the 5 year period, but since 5 years is the maximum time period for which dispensation from the law on Animal Experimentation can be received the project is limited to 5 years in this project proposal. We will submit a new project in 2020.

Table 1. Overview of the species groups, their main wintering location, target species, and the approximate number of sampled birds per group or species that we aim for in the exploration years per year. The number of birds newly [redacted] in 2014 is given as an indication of the total number of birds that can potentially be caught. For some groups, an increase in catching effort is desirable. Species are divided into two size categories; large (> 25g) and small (< 25g). Note that deviations from these numbers may occur due to variation in catching efficiency, weather and other factors. The total number of sampled birds in the exploration year will not exceed 5000. Species in red are considered interesting based on their ecology and migratory habits, but it may not be possible to collect the desired number of samples in those species.

Species group	Winter in	Target species	Dutch names	Number of sampled birds [redacted] for	Number of adult birds newly [redacted] in 2014	Size category
Waterfowl (<i>Anseriformes</i>) Watervogels	Africa and Southern Europe	Northern pintail, Eurasian wigeon, Eurasian teal, garganey	Pijlstaart, smient, winteren zomertaling,	644	350	Large
fowl	n.a.	Domestic chicken	hobbykip	p.m.	n.a.	Large
Birds of prey (<i>Accipitriformes</i>) Roofvogels	Africa and Southern Europe	European honey buzzard, Montagu's harrier, marsh harrier, Eurasian hobby	Wespendief, Grauwe en bruine kiekendief, boomvalk	161	20	Large
Waders (<i>Charadriiformes</i>) Steltlopers	Africa and Southern Europe	Avocet, little [redacted] plover, [redacted] plover, Kentish plover, black-tailed godwit	kluut, kleine plevier, bontbekplevier, strandplevier, grutto	805	156	Large
Passerines (<i>Passeriformes</i>) zangvogels	West Africa ¹ (southern Europe)	bluethroat northern wheatear common redstart Eurasian reed warbler common whitethroat garden warbler blackcap European pied flycatcher <i>other species</i>	Blauwborst Tapuit Gekraagde roodstaart kleine karekiet grasmus Tuinfluiter Zwartkop Bonte vliegenvanger	64 64 161 458 298 458 458 161 161	147 37 202 3417 627 949 6399 383	small small small small small small small small
	East Africa ¹	Marsh warbler lesser whitethroat red-backed shrike <i>other species</i>	bosrietzanger braamsluiper grauwe klauwier	298 458 p.m. 298	518 1122 2	small small small small
	Asia ²	unknown		p.m.		small
all large species				1610		
all small species				3337		
all species				4947		

¹ passerine species that winter in western Africa usually migrate along a westerly route during spring towards the Netherlands, entering Europe via the Iberian peninsula. Some birds follow a more easterly route and cross the Mediterranean near Italy or Greece.

² there are no regularly occurring passerine species that winter in Asia. However, these species do visit the Netherlands as vagrants.

Catching and handling of birds

This project makes use of the extensive network of [redacted] in the Netherlands who catch birds on regular basis for a number of monitoring projects, coordinated by [redacted] (see [https://www.\[redacted\]](https://www.[redacted])). Currently, there are 540

certified [10.2.e.eng] with an active [10.2.e.eng] permit. Circa 300.000 birds are caught and [10.2.e.eng] annually in the Netherlands with the purpose of monitoring avian demography and movements using a capture – recapture / recovery approach. [10.2.e.eng]

[10.2.e.eng]. In addition, birds are caught in a standardized way during migratory seasons in a chain of mainly coastal [10.2.e.eng]. Finally, specific [10.2.e.eng] projects of owls, raptors and many colonial-breeding species are in place to monitor reproduction and survival. These activities do not include animal procedures but only involve catching, marking, measuring and releasing birds using standard techniques. Within the current project, we take advantage of this existing infrastructure, while simultaneously increasing efforts in certain areas or for certain species to meet target numbers. A selection of [10.2.e.eng] will take part in the surveillance project. We will preferably work with [10.2.e.eng] already authorized as article 9 or 12 officers, and organise specific training for non-authorized [10.2.e.eng]. Participating [10.2.e.eng] will be instructed to take proper hygienic measures during procedures. To achieve this, [10.2.e.eng]

Birds are caught by certified [10.2.e.eng] who use approved techniques for the species they are allowed to catch including mist-netting, clap-traps, rounding-up techniques, and taking birds from nests or nest boxes. The chosen method depends on the bird species. Which species a [10.2.e.eng] is allowed to catch is specified in the [10.2.e.eng]. Every newly captured individual is [10.2.e.eng] and sex, age, weight, and wing length are determined. Procedures and measurements may differ depending on species. [10.2.e.eng] ([10.2.e.eng]) for techniques, aims and results of scientific [10.2.e.eng] in Europe.

In this project we are interested in the presence of zoonotic arboviruses in bird species that breed or summer in the Netherlands. Therefore, we will take a random sample of all birds caught, and not focus on for example birds that show signs of disease. Birds of pullus age (nestlings) are excluded in the first year, as these have not migrated yet, and hence have not been exposed to non-local viruses. After the exploration phase, we may include nestlings, depending on the selected species. This will then give additional information about the potential for spread from parents to offspring and the local establishment of virus (Research questions 2, 3, 4, 5).

Virus identification

In this project two types of samples will be taken to identify the presence or exposure to zoonotic arboviruses in wild birds. For the detection of *antibodies* against the relevant viruses and molecular detection of viral genomes blood samples are collected from all birds. To detect presence of *viruses* in birds, oropharyngeal and cloacal swabs are taken from all larger (>25g) birds (see 3.4.2). In years 3-5, oropharyngeal swabs may also be taken in some smaller birds, but cloacal swabs are only taken from larger birds to minimize the risk of injury to the intestines of smaller birds due to swabbing. In these cases a few extra blood drops might be collected on FTA cards to allow molecular detection in blood. However molecular detection via swabs is preferred for sensitivity and possibility to repeat testing.

Additional training program for participating [10.2.e.eng]

In order to minimise animal suffering, pain and fear, all handling of the birds is done by experienced and certified [10.2.e.eng]. [10.2.e.eng] will select [10.2.e.eng] depending on the species they are allowed to catch and the location of their activities. All [10.2.e.eng] participating in this project need to be authorized as article 9 or 12 officers.

Participating [10.2.e.eng] that are not currently authorized to perform animal experiments will receive additional training in practicalities, techniques, ethics & legislation, biosafety, and materials involved in taking blood samples in and oropharyngeal and cloacal samples. This will lead to a license to perform these animal experiments on basis of the exemption described in article 6.2 of the Ministerial order on Animal experiments (Dierproeven regeling).

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 project consists of two types of animal procedures: blood sampling and taking swabs from wild birds. Both are taken to investigate the presence and/or exposure to zoonotic arboviruses in these birds. All procedures are performed by certified [10.2.e.eng](#) on birds that are caught as part of other scientific monitoring projects.

- Blood sampling:

From all birds, a blood sample will be collected to detect virus antibodies and if possible, viral genomes. Blood samples are taken from the brachial vein using a clean syringe needle to puncture the vein and subsequently collecting a few drops of blood on a filter paper (type to conserve antibodies) or in a test tube (only for large birds). If possible some additional drops will be collected on a filter paper (type to conserve nucleic acids). During the exploration phase max. 5000 individual birds from a large number of species (see Table 2 in Appendix) will be sampled. During years 3-5 we will also take max. 5000 samples, but we will focus on a smaller number of species for in depth analyses of temporal and spatial dynamics of virus prevalence. All samples will be sent to [10.2.e.eng](#) for analyses. See appendix for more detailed information about these analyses

- Oropharyngeal and cloacal swabs:

From all larger species (>25g) oropharyngeal and cloacal samples will be taken using sterile cotton swabs and stored individually in transport medium (see Munster *et al.* 2007 for details). These swabs can be used to detect viruses. Samples are preserved at 4 °C for short periods or frozen when stored for a week or more. All samples will be sent to [10.2.e.eng](#) for analyses. In years 3-5 oropharyngeal swabs may also be taken in some smaller birds.

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 sampling strategies is that they will all give information about which bird species carry zoonotic viruses, and the temporal and spatial occurrence of viruses in migratory birds. After the first phase, a number of bird species (will be selected on which we will focus in the subsequent years, to answer the research questions in more detail (see details 3.4.1).

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	Collection of swabs and blood samples from wild birds and domestic chicken
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de bijbehorende toelichting, waarin elke stap in het beoordelingsproces wordt toegelicht

Herzien DEC-advies over wijziging oktober 2020

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD [redacted] 2015342
2. Titel van het project: A surveillance project for zoonotic viruses in wild birds and domestic chicken in the Netherlands.
3. Titel van de NTS: Surveillanceproject voor ziekteverwekkers in wilde vogels en hobbykippen in Nederland.
4. Type aanvraag:
 - ✓ wijziging van vergunning met nummer AVD [redacted] 2015342-1
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [redacted]
 - telefoonnummer contactpersoon: [redacted]
 - mailadres contactpersoon: [redacted]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ✓ ontvangen door DEC: 10-12-2015; wijziging: 23-10-2020
 - ✓ aanvraag compleet: 15-01-2016; wijziging: 23-10-2020
 - ✓ in vergadering besproken: 17-12-2015 wijziging: schriftelijke spoedafhandeling
 - ✓ anderszins behandeld: n.v.t.
 - ✓ termijnonderbreking(en): n.v.t. wijziging: geen
 - Y besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen: n.v.t.
 - Y aanpassing aanvraag: n.v.t.
 - ✓ advies aan CCD: 28-01-2016; wijziging: 26-10-2020
7. Eventueel horen van aanvrager
 - Datum: n.v.t.; wijziging: n.v.t.
 - Plaats:
 - Aantal aanwezige DEC-leden:
 - Aanwezige (namens) aanvrager:
8. Correspondentie met de aanvrager:
 - Datum 21-12-2015; wijziging: n.v.t.
 - Strekking: completering van de aanvraag
 - Datum antwoord 15-01-2016
 - Strekking van de antwoorden: de aanvraag is gecompleteerd
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): geen

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig. Het omvat dierproeven in de zin der wet.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om over deze projectvergunningsaanvraag te adviseren. De benodigde expertise op dit wetenschappelijk terrein is aanwezig binnen de DEC. Geen van de DEC-leden is betrokken bij het betreffende project noch lid van de betrokken IvD.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering: n.v.t.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is wetenschappelijk verantwoord.
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling van het project.
3. Het uiteindelijke doel van dit project is om te bepalen of er een risico bestaat voor de volksgezondheid door de aanwezigheid van voor de mens ziekte veroorzakende (zoönotische) virussen (van de klasse de arbovirussen als veroorzakers van ondermeer West-Nijlziekte en knokkelkoorts) in trek- of standvogels in Nederland. De gegevens van belang voor de beslissing of het al dan niet noodzakelijk is om een waarschuwingssysteem op te zetten om zo de risico's van door vogels verspreide zoönotische virussen te monitoren en of eventuele controlerende maatregelen nodig zijn.

Over de wijziging: De uitgebreide beschrijving van recente bevindingen rondom het aantreffen van het westnijlvirus in vogels en zelfs een besmetting van een mens laten zien dat de doelstelling van het project gerechtvaardigd is en dat het belang onverminderd groot is en zelfs aan belang heeft gewonnen.

De wijziging betreft het toevoegen van de kip (*Gallus gallus*), i.h.b. hobbykippen, aan het project. Hobbykippen zijn relevant omdat ze relatief onbeschermd buiten leven en lopen daarmee een veel grotere kans op besmetting via de steek van een mug dan industrieel gehouden kippen. Besmette kippen kunnen het westnijlvirus verspreiden als ze opnieuw gestoken worden door een mug, maar niet direct. Het gevaar voor de kippenindustrie wordt daarom klein geacht en dat een reden dat er, volgens de aanvrager, zelfs niet op gescreend wordt in Nederland door de NVWA (deze bewering heeft de DEC niet geverifieerd). In Griekenland worden kippen gebruikt als sentinels. Daarnaast lenen hobbykippen zich goed voor herhaalde bemonstering om zo ontwikkelingen in de tijd te volgen.

De geschatte aantallen van het totaal aantal dieren dat ten hoogste (25.000) zal worden bemonsterd binnen het project wordt niet hoger door de inclusie van een beperkt aantal kippen. Het betreft hier hobbykippen en het vangen zal naar verwachting geen bovendrempelig ongerief opleveren; het afnemen van bloed en de keel- en cloacaswab zijn conform de eerdere inschatting gering ongerief. Een bijzonderheid is dat de kippen meerdere malen, met een groot interval (meerdere weken), zullen worden bemonsterd. Dit kan het moment in de tijd bepalen waarop de besmetting plaats heeft gevonden bepalen. De herhaalde handeling zal niet leiden tot een stapeling van ongerief en blijft derhalve binnen de classificatie gering ongerief.

De directe doelstellingen van het project zijn: Het bepalen van de aanwezigheid van levend virus of antilichamen tegen virussen in de in het wild levende vogels in Nederland. Subdoelen zijn het beantwoorden van de vragen: 1) welke vogelsoorten drager kunnen zijn van arbovirussen, 2) in welke tijd van het jaar en op welke locaties, 3) zijn in het bijzonder trekvogels een mogelijke vector, 4) kunnen de broedende trek/standvogels en hobbykippen een reservoir vormen voor virussen, 5) wat zijn de veranderingen over verschillende jaren?

Het project dient een groot maatschappelijk belang. Vogels en hobbykippen kunnen worden geïnfecteerd met zoönotische virussen en het is aangetoond dat migrerende vogels virussen over een grote afstand kunnen verspreiden. Recentelijk zijn dergelijke virussen aangetroffen in verschillende nieuwe geografische gebieden en het is onduidelijk in hoeverre trekvogels, naast andere factoren, hierbij een rol spelen. Kennis over de mogelijke aanwezigheid van zoönotische virussen in vogels en hobbykippen in Nederland is belangrijk om te kunnen bepalen of er een potentieel risico voor de volksgezondheid bestaat.

Het project heeft tevens een groot wetenschappelijk belang. Er is weinig bekend over de rol die trekvogels spelen in de verspreiding van zoönotische virussen en welke soorten het betreft en of er sprake is van de aanwezigheid van een reservoir van zoönotische virussen in standvogels en hobbykippen.

4. De gekozen strategie, experimentele aanpak en ervaring van de betrokken onderzoekers bieden een realistisch uitzicht op het behalen van de beoogde doelstellingen binnen gevraagde looptijd van 5 jaar van het project. De exacte condities zullen van jaar-tot-jaar sterk variëren ondermeer t.g.v. klimatologische verschillen, fluctuaties in de mate van aanwezigheid van virussen in het migratiegebied etc. Dit rechtvaardigt een vergunningsperiode van 5 jaar. De DEC merkt op dat, afhankelijk van de behaalde resultaten, het project mogelijk zal worden gecontinueerd na 2020. In de uitvoering maken de onderzoekers gebruik van de bestaande infrastructuur zoals die is opgebouwd voor het op grote schaal ^{10.2.e. en g} van vogels in het wild in Nederland onder de hoede van het ^{10.2.e. en g} Hierbij wordt gebruik gemaakt van erkende ^{10.2.e. en g}. De verzamelde samples zullen worden geanalyseerd door de afdeling ^{10.2.e. en g} van het ^{10.2.e. en g} Het project kent verder een inbedding in een bestaand ^{10.2.e. en g} (^{10.2.e. en g}).

De DEC onderkent dat gedurende de eerste exploratieve fase van het project het noodzakelijk is om veel verschillende vogelsoorten te screenen om zo informatie te krijgen over vogelsoorten met verschillende overwinteringsgebieden en verschillende habitats. De aantallen en de verschillende soorten worden nader gespecificeerd in een tabel in de aanvraag maar exacte aantallen zijn voorafgaand aan de uitvoering niet precies te geven. De criteria voor de selectie van de soorten voor de tweede fase zijn afdoende beschreven. De DEC is van mening dat verschuivingen in de uiteindelijke exacte aantallen en soorten geen grote gevolgen heeft voor de doelstelling van het project of voor het te verwachten ongerief en dat een ethische afweging mogelijk is op basis van de ingediende aanvraag.

De verkregen gegevens zullen resulteren in verwezenlijking van de geformuleerde directe doelen en daarmee het behalen van het uiteindelijke doel.

5. Er is sprake van dieren uit het wild. Er is geen sprake van euthanasie in het kader van de proef of na afloop van de proef. De dieren blijven in het wild. De hobbykippen zijn geen dieren uit het wild en worden niet als proefdieren gehuisvest onder de vereiste condities. DEC signaleert dit; de wettelijke implicaties zijn voor de DEC niet in te schatten maar voor de ethische afweging speelt dit geen rol van betekenis. Volgens de begeleidende brief worden de hobbykippen in overleg en met toestemming van de eigenaar. Bij positief testen dan wordt in overleg met de eigenaar besloten of er actie ondernomen dient te worden. De Wet dieren en de Wet publieke gezondheid spelen in dit kader een rol.
6. Het cumulatieve ongerief gepaard gaande met de dierproeven, zoals beschreven in de bijlage type dierproef, wordt door de indieners geclassificeerd als mild (16%) of matig (84%). De DEC komt tot een overeenkomstige classificatie van het cumulatief ongerief. De DEC heeft in haar overwegingen meegenomen dat er sprake is van ongerief ten gevolge van het vangen in het wild, het nemen van een bloedmonster en het nemen van uitstrijkjes. De gebruikte methode van vangen wordt bepaald door de soort en het niveau van ongerief veroorzaakt door het vangen is geschat als mild of matig ongerief. Voor verschillende vogelsoorten is in een tabel de vangmethode benoemd en het daar bijbehorende verwachte ongeriefsniveau. De vervolprocedure, de eigenlijke bemonstering, is in alle gevallen mild ongerief. Voor de hobbykippen is het ongerief van het vangen als onderdrempelig ingeschat. De DEC is het hiermee eens. Het cumulatief ongerief voor de hobbykippen is ingeschat als gering; de DEC is het hiermee eens.

De inschatting van het ongerief door de onderzoekers is gebaseerd op ervaringen met de met eerder uitgevoerde vergelijkbare dierproeven.

7. Binnen het project zijn 4 groepen vogelsoorten in Nederland onderwerp van studie. Het **vervangen** van de wilde dieren door andere manieren van het

verzamelen van gegevens m.b.t. de aanwezigheid van zoönotische virussen in trek- en standvogels is niet mogelijk. Naar het oordeel van de DEC zijn er geen alternatieven beschikbaar voor het voorgestelde gebruik van intacte dieren om te doelstelling van dit project te realiseren. De toevoeging van een relatief beperkt aantal hobbykippen verandert hier niets aan; de nadruk blijft liggen op vogels in het wild met de hobbykippen als uitbreiding om specifieke lokale resultaten te kunnen bevestigen en nader te preciseren.

8. In het project wordt tegemoet gekomen aan de vereisten van **vermindering** van dierproeven. Het aantal van 5000 dieren per jaar is een maximum. In de eerste fase zullen veel soorten worden bemonsterd en in de tweede fase zal op basis van de resultaten een beperkt aantal soorten gericht worden gescreend. De onderzoekers geven een realistische statistische onderbouwing van het aantal benodigde dieren per soort en een overzicht van de soorten die zullen worden bemonsterd in de eerste fase van het project. Gegeven de doelstelling van het project is het onvermijdelijk dat de aantallen en de soorten voor de tweede fase vooraf niet precies te geven zijn. Technieken en procedures worden zorgvuldig toegepast. Dit alles is gebaseerd op ervaring in dit type werk. Voor de training van de betrokken **10.2.e.eng** wordt een afdoende onderbouwd aantal koolmezen gebruikt
9. De uitvoering van het project is in overeenstemming met de vereisten van **verfijning** van dierproeven en is zo opgezet dat de dierproeven met zo min mogelijk ongerief worden uitgevoerd. Bij de opzet wordt rekening gehouden met dierenwelzijn en wel op de volgende manieren: 1) er is ervaring met de gebruikte vangmethodes en er wordt gebruik gemaakt van de bestaande infrastructuur van het **10.2.e.eng** voor het vangen van vogels in het wild in het kader van bestaande grootschalige **10.2.e.eng**, 2) de betrokken medewerkers zijn ervaren of krijgen vooraf een gedegen (aanvullende) training, 3) gevangen dieren worden snel na het vangen bemonsterd en weer losgelaten, 4) het afgenomen volume bloed is maximaal 1% van het gewicht van de vogel, 5) van kleine vogels (<25 gram) wordt geen cloaca uitstrijkje genomen om orgaanschade te voorkomen, 6) vogels die door het vangen dusdanig gewond raken met weinig kans op spontaan herstel worden gedood door een veterinaire of naar een vogelopvang gebracht (naar schatting zijn dit 150 dieren in 5 jaar; 0.6%). Gevallen van gewonde dieren worden geregistreerd en na twee jaar met de **10.2.e.eng** geëvalueerd.
Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting en de wijziging is een evenwichtige weergave van het project en is geformuleerd in begrijpelijke taal. De NTS voldoet daarmee aan de eisen zoals gesteld in artikel 10.a.1.7 van de Wod.

D. Ethische afweging

De centrale vraag is of het belang van het doel van dit experiment het ongerief dat

de dieren ondergaan kan rechtvaardigen.

Het directe doel van de dierproef is het verkrijgen van bloedmonsters en uitstrijkjes van vogels in het wild en hobbykippen in Nederland. Uit de verzamelde samples zal duidelijk worden welke vogelsoorten drager zijn of in contact zijn geweest met zoönotische virussen en of er sprake is van een reservoir van zoönotische virussen in vogels in het wild in Nederland.

De verkregen kennis zullen bijdragen aan het beantwoorden van de vraag of zoönotische virussen in vogels in het wild en hobbykippen een risico vormen voor de volksgezondheid van de Nederlands bevolking en om vast te stellen of het noodzakelijk is om een waarschuwingssysteem op te zetten voor het monitoren van de risico's van door vogels verspreide zoönotische virussen. Het maatschappelijke belang van het project is naar mening van de DEC groot en heeft aan belang gewonnen door de recente bevindingen. Het project kent ook een groot wetenschappelijke belang namelijk het vergroten kennis vergroten van de verspreiding van zoönotische virussen door trekvogels in het wild en of er sprake is van een reservoir in standvogels in het wild en/of hobbykippen.

Het onderzoek in dit project is van hoge kwaliteit. De onderzoekers beschikken over ruime ervaring met de gekozen onderzoeksstrategie en met het voorgestelde type dierproef.

Tegenover dit belang staat dat de dieren die worden gebruikt maximaal matig ongerief ondervinden door het vangen en maximaal mild door de vervolgpcedure van het afnemen van de monsters. Bij het uitvoeren van de dierproef wordt een adequate invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de vervanging, vermindering en verfijning van de dierproeven op een manier zoals hierboven onder punten 7, 8 en 9 zijn beschreven. De DEC onderschrijft dat de doelstellingen niet zonder het gebruik van proefdieren kunnen worden behaald.

De DEC komt tot de conclusie dat de doeleinden van het project het voorgestelde gebruik van de proefdieren en het daarmee samenhangende ongerief van de dieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

- ✓ De DEC adviseert de vergunning te verlenen en de wijziging te accepteren en te vergunnen.
- 2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
- 3. Er zijn geen knelpunten of dilemma's gesignaleerd tijdens het beoordelen van de aanvraag of het formuleren van het advies.



> 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 2015342-1
Bijlagen
3

Datum 30 oktober 2020
Betreft Beslissing Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2 .e. en g

Op 23 oktober 2020 hebben wij uw aanvraag voor een wijziging op een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "A surveillance project for zoonotic viruses in wild birds and domestic chicken in the Netherlands" met aanvraagnummer AVD 2015342-1. 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 15 maart 2016 tot en met 28 februari 2021.

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

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie Dierexperimentencommissie 10.2 .e. en g (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 26 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:

30 oktober 2020

Aanvraagnummer:

AVD 2015342-1

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

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 15 maart 2016 tot en met 28 februari 2021, voor het project "A surveillance project for zoonotic viruses in wild birds and domestic chicken in the Netherlands" met aanvraagnummer AVD^{10.2.e.en.g} 2015342-1, na advies van dierexperimentencommissie Dierexperimentencommissie^{10.2.e.en.g}.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Hoofd.

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

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 23 oktober 2020
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 26 oktober 2020;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 26 oktober 2020;
 - c Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 26 oktober 2020.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief	Overige opmerkingen
3.4.4.1 Collection of swabs and blood samples from wild birds and domestic chicken				wilde dieren
	Andere vogels (andere Aves) / wilde vogels en wilde koolmezen in-gevangenschap / wilde vogels, wilde koolmezen in gevangenschap en (hobby)kippen	24.944	100,0% Matig / 84,0% Matig 16,0% Licht	

Voorwaarden

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.

Aanvraagnummer:

AVD [REDACTED] 2015342-1

- 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 2015342-1

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 [REDACTED] 2015342-1

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.

Locatie

De vergunning wordt verleend voor een project waarbij dierproeven geheel of gedeeltelijk worden verricht buiten een inrichting van een gebruiker (artikel 10g van de wet).

Wilde dieren

Het vangen van wilde dieren moet volgens artikel 10f van de wet door een deskundig persoon gedaan worden waarbij dieren zo min mogelijk pijn, lijden, angst of blijvende schade ondervinden. Gewonde dieren moeten onderzocht worden en behandeld, tenzij er een wetenschappelijke motivering is om niet te behandelen.



Format

Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).

- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Dit is een wijzigingsvoorstel voor project AVD116002015271. Het betreft een specifieke uitbreiding op dit project waarbij alleen bijlage 1, 2 en 3 gebruikt zullen worden. Het gevolg van deze wijziging is een toename van het aantal dieren met 3000 muizen, maar niet een toename van het ongerief.

Immuuntherapie van kanker maakt op dit moment een stormachtige ontwikkeling door. Sinds een paar jaar is immuuntherapie doorgebroken in de kliniek en worden steeds meer kankersoorten behandeld met immuuntherapie. Bijna maandelijks verschijnen er persberichten over FDA- en EMA-erkenningen voor immuun behandelingen van nieuwe typen kanker of behandelingen in een eerder stadium van kanker of behandelingen in combinatie met chemotherapie. De winnaar van de nobelprijs voor geneeskunde 2018, Dr Honjo, die aan de wieg heeft gestaan van immuuntherapie, heeft deze ontwikkeling vergeleken met de ontdekking van penicilline. Dit heeft de behandeling van infectie ziekten totaal veranderd.

De meest bekende vorm van immuuntherapie is de zogenaamde checkpoint therapie waarbij patiënten antistoffen krijgen toegediend die de T-cel afweer versterkt. In feite worden remmende moleculen op de T-cellen geblokkeerd waardoor deze actiever de tumor cellen kunnen aanvallen. Het onderzoek naar de werkingsmechanismen van deze antistoffen is van groot belang, omdat ontdekkingen hierin aanleiding geven tot verbetering in de efficiëntie. Recent hebben we een aantal principes achter deze therapie in proefdier modellen ontdekt en zullen we deze proberen te vertalen naar de kliniek (1, 2). Verder hebben we in muis tumor modellen een nieuwe checkpoint ontdekt en blokkerende antistoffen hiertegen verbeteren het effect van kanker vaccins. Deze ontdekking is recent gepubliceerd in het toptijdschrift ^{10.1 c en 10.2 g} [redacted]. In het kader van deze ontwikkelingen zijn we bezig om een knockout muis te genereren van deze receptor (^{10.1 c en 10.2 g} onder de huidige vergunning. Deze muis zal binnenkort beschikbaar komen voor uitgebreid onderzoek. Ook andere knockout muizen zoals de constitutief ^{10.1 c en 10.2 g} [redacted] knockout en een conditionele knockout van het ligand ^{10.1 c en 10.2 g} zijn van belang voor dit onderzoek en willen we graag genereren. Tenslotte hebben we recent een publicatie over activerende checkpoints ^{10.1 c en 10.2 g} [redacted] (bispesifieke antistoffen), die veelbelovend zijn als aanvulling op de reeds toegepaste PD-1/PD-L1 en ^{10.1 c en 10.2 g} [redacted] antistoffen (4). Ook hiermee willen we extra onderzoek doen. Dit onderzoek is beschreven in ons onderzoeksvoorstel onder nummer: 'Verbeteren van 'immune checkpoint' therapie', waarbij we handelingen zoals beschreven in bijlage 1, 2 en 3 zullen uitvoeren.

We hebben voor bovenstaande vragen aanvullende financiering gekregen en ook personeel aangesteld, zodat ook dit nieuwe onderzoek uitgevoerd kan worden in de resterende twee jaar. De extra onderzoekers zijn allen gefinancierd uit verkregen externe middelen van peer-reviewed grants. De kwaliteit is dus gecontroleerd door internationale top-wetenschappers.

Graag zouden we een uitbreiding van onze vergunning willen aanvragen van 3.000 muizen die specifiek nodig zijn voor experimenten rond deze onderzoeksvraag over immuun checkpoint therapie. Hierbij zullen alleen bijlage 1, 2 en 3 gebruikt worden, waardoor de dieren hooguit licht ongerief zullen ervaren.

1. ^{10.2 .e. en g} [redacted]



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 2016561-8

Datum 3 mei 2019

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte 10.2 .e. en g

Bijlagen

1

Op 25 februari 2019 hebben wij uw aanvraag voor wijziging van een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Research on new swine vaccines" met aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 2016561, waarvoor op 1 september 2016 een vergunning is afgegeven. Uw wijzigingsaanvraag is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD 10.2 .e. en g 2016561-8. Met de aangevraagde wijziging van de eerder verleende vergunning beoogt u Broncho Alveolar Lavage toe te voegen aan Bijlage Dierproeven 3.4.4.2. 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 "Research on new swine vaccines" 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 10.2 .e. en g (hierna: de DEC). Dit advies is opgesteld op 8 maart 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 25 maart 2019 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op het verwerken van de antwoorden naar aanleiding van vragen van de DEC en het betalen van de leges. Uw antwoord is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Op grond van de bovenstaande stukken zijn wij van mening dat de toevoegen dierproeven toelaatbare wijzigingen betreffen van het project, waarvoor op 1 september 2016 een vergunning is verleend.

infection. If BAL could be used instead of lung tissues, then the same animal could be sampled twice thereby reducing the number of animals required for a study by 50%.

11) For respiratory infection studies with mild severity scores, severity levels will now be increased to moderate when including BAL. But for studies with moderate severity scores are not increased to severe when including BAL. The authors should provide some information on how the score severity of taking lavages.

This scoring has been done based on "the guidance discomfort scores" table. Challenge with no / mild clinical symptoms gets the "mild" discomfort score & > 1x lung lavage falls under the discomfort score of "moderate". When both handlings are combined, it obvious that the discomfort score will be moderate (the highest discomfort score of both handlings). On the other hand, the combination of experimental infection with moderate clinical symptoms and > 1x lung lavage will not cause long term distress or make the animals suffer more and hence the total score has remained moderate.

12) BAL sampling might be performed twice. What will be the interval between samplings? This will depend on the goal of the experiment. If BAL collected for quantify the pathogen load in lungs after experimental infection then BAL will be collected at 24hr post challenge and followed by 3 days or 5 days. If the study aim is to evaluate the immune correlate of protection, the first sampling may be done 1 to 2 weeks post vaccination and will be repeated once more with an interval of 1 to 2 weeks.

Dat 1 dier dus meerdere longwassingen moet ondergaan, heeft ook als voordeel dat het effect van vaccinatie/challenge over tijd gemeten kan worden zonder de dier tot dier variatie als extra parameter in de test.

6) Om welke immunologische parameters gaat het?

A) suggereert "• Immunological parameters (blood sampling or BAL)", maar bloedmonsters worden al genomen, wat voegen de meerdere BALS toe, die eerder niet voorzien waren?

Het gaat om lokale cellulaire immuniteit, deze kan niet in bloedmonsters gemeten worden. Het is bekend dat de immuunrespons in bloed geen representatief beeld geeft voor de lokale immuniteit. Effectiviteit van de meeste luchtweg infecties moet gemeten worden in de longen en niet op andere luchtweg/slijmvliezen in de luchtwegen zoals neus- of keelwabs.

7) Ondergaan alle dieren in een experiment een longspoeling? Of ondergaat slechts een kleine subgroep de BAL? Om dat helder te maken zou dat beter in een aparte groep duidelijk gemaakt moeten worden in de tabel. De nu gekozen oplossing met een * per model aangeven is zeer ongebruikelijk.

Dit is sterk afhankelijk van de uitkomsten van de metingen op BAL vloeistof. Indien een duidelijke beschermende parameter gemeten kan worden, zullen minder dieren nodig zijn. De BAL procedure zou van toepassing kunnen zijn op alle luchtwegpathogenen. Bij het indienen van deze wijziging, heb ik samen met de AWB besloten om de oplossing met een * te gebruiken in de tabel. Ik wil deze natuurlijk wijzigen in de manier zoals wel gebruikelijk/duidelijk is. Willen jullie dan een rij toegevoegd hebben waarin geen pathogeen genoemd staat (vermelding 'all respiratory pathogens?'), met daarbij de BAL procedure en bijbehorende ongeriefscore van 'moderate'?

n.b: hier adviseert de DEC om het advies van de IvD te volgen met de aantekening dat de IvD de resultaten goed volgt.

8) The authors claim that performing BAL might allow for a reduction in numbers of animals. However, this is not reflected in the numbers of animals they are still intending to use. It would be helpful if they could anticipate in Appendix on a possible reduction.

This will depend on the outcome of the BAL results and the type of pathogen tested, in case longitudinal data post challenge can be obtained, a reduction of 50% of animals can be realized. For most pathogens, further research is needed to find out if BAL is a good alternative for challenge infection or other invasive investigational methods.

9) Performing BAL leads to additional and early data on onsets of infection. Could BAL eventually be used as an early and humane endpoint?

This is a possibility if a clear correlation for vaccine efficacy can be found and can be used to make humane endpoint decision.

10) The authors indicate that BAL could be helpful for evaluation of vaccine efficacy. Is BAL data required for regulatory approval? If not, do they expect that the data will help registration of their product or is it 'just' and academic interest?

So far BAL parameters are not listed as one of parameters in the European Pharmacopeia. If there is a very good correlation with the efficacy of a vaccine and the approach significantly reduces the total number of animals needed for a study, regulatory authorities will accept such data for registration purposes. The first intention to use BAL is for 10.1 c en 10.2 g vaccines and 10.1 c en 10.2 g vaccine. 10.1 c en 10.2 g vaccine efficacy can only be evaluated by measuring protection against experimental infection. If a good immune correlate of protection can be found, this will reduce the number of animals that need to undergo experimental infection. With regard to 10.1 c en 10.2 g vaccine, the present regulatory requirement is that the 10.1 c en 10.2 g vaccine efficacy has to be measured using lung tissue samples collected at two time points (24 and 72 hours) post experimental

DEC vragen en antwoorden n.a.v. wijziging AVD 10.2, e. en g 2016561-III

1) Why was BAL not included in the previous version of DAP 2?

BAL was not included in the previous version of DAP, because of lack of appropriate assays/tools to measure either immunological parameters or pathogen load in BAL samples and laborious nature of BAL collection. In the recent years, we are putting more effort to identify immune-correlates of protection to minimize or to eliminate the need for challenging the vaccinated animals to measure the vaccine efficacy. As immune parameters measured in the peripheral blood do not correlate with the level of protection against some of the airway pathogens and the literature data suggest that the measure of immunity at the local tissue level using BAL samples would be better option to find such correlates. Therefore, we would like to include BAL sampling in some of the experiments. Furthermore, there is an European regulatory requirement to demonstrate the vaccine efficacy in terms of reducing the pathogen load in the lungs after multiple time points (for e.g. 24h and 72 hr for 10.1 c en 10.2 g) post challenge. In such cases, BAL sampling is a very good alternative to lung tissue sampling and can be used to reduce the number of animals needed for such experiments by 50%. Collection of such longitudinal data from the same animals at different time points instead of different animals will reduce the animal to animal variation due to differences in genetic background and will yield the data with high statistical power that in turn also reduce the number of animals the total costs of such studies.

2) Is it possible to speculate the number of animals that will be used for BAL and the implications for the overall discomfort shifting from mild to moderate?

During the initial orientation phase only a small groups of (5-6) animals per treatment group will be used for BAL sampling. Only if BAL sampling do not significantly affect the level of discomfort to the experimental animals and the measured parameters using BAL found to be a robust replacement for the conventional method of tissue sampling or provide a good alternative for challenge experiments, this method will be applied to bigger groups. We agree that BAL sampling under anesthesia will cause slightly more discomfort to the experimental animal than the experimental handling described in the presently approved DAP. However, this method if successful would significantly (more than 50%) reduce the number of animals needed for certain studies and will also eliminate the need for experimental infection (no discomfort).

3) How many animals would be saved from killing in order to take lung samples?

More than 50% of animals needed in studies where vaccine efficacy has to be demonstrate at multiple time points post challenge. In other cases, a complete elimination of the need for experimental infection (no suffering from infection and animals don't have to be sacrificed for the experimental purposes and can remain part of husbandry practices).

4) Although obvious to people in the field perhaps, it is good to add the type of anesthesia used (we presume injection anesthesia), and will there be any analgesia to reduce pain when animals recover from anesthesia?

Indeed, injection anesthesia. It is not expected that the animal will experience pain due to collection or will experience pain during the recovery from anesthesia.

5) Graag een verdere onderbouwing van die uitbreiding van handelingen (meerdere malen moderate discomfort) zien onder D en wegen de meerdere longwassing en bij één dier op tegen het doden van dieren die verder geen last hebben van de BAL post-mortem?

Dit is deel van het onderzoek, er zal uitgezocht moeten worden op welk moment na vaccinatie/challenge de BAL procedure toegepast moet worden om een goed beeld van de vaccin effectiviteit of bescherming te krijgen. Indien dat juiste moment gevonden wordt, acht ik de kans groot dat slechts 1 maal BAL van toepassing is, en necropsy niet meer in alle gevallen noodzakelijk is.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

■ De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

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 voor deze wijziging III is 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*

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

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*). De onderzoekers willen bij een deel van de dieren een Brocho-alveolaire lavage (BAL) kunnen uitvoeren met matig ongerief voor deze handeling omdat in het spoelsel immunologische parameters kunnen worden bepaald die relevant zijn voor de effectiviteit van het onderzochte vaccin. De handeling brengt maximaal matig ongerief met zich mee maar het totale ongerief blijft ongewijzigd. De centrale morele vraag met betrekking tot deze wijziging is of de uitbreiding van het project met de longspoelingen een voldoende wetenschappelijk belang bijdrage zal opleveren om het ongerief van deze handelingen te rechtvaardigen? De DEC is overtuigd van de reële bijdrage aan de vraagstelling om deze handelingen te rechtvaardigen. Daarom blijft het oorspronkelijk DEC advies onveranderd, zie hiervoor advies bij de oorspronkelijke aanvraag.

22.2. 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*). De wijziging heeft geleid tot de discussie op welke wijze de longspoelingen toegevoegde waarde hebben aan de vraagstelling en of het totale ongerief dan nog tot matig beperkt blijft. Daarbij is het antwoord van de onderzoeker de vraag van de DEC over de toegevoegde waarde van de spoelingen het antwoord belangrijk geweest. De onderzoekers hopen een goede correlatie te kunnen aantonen tussen de immunologische parameters in het spoelsel en de effectiviteit van vaccinatie en / of aantallen pathogenen in BAL en longweefsel bij autopsie. Met de beantwoording van die vragen en het advies van de IvD om per werkprotocol de noodzaak van de BAL onderzoeken te rechtvaardigen per experiment heeft de DEC een afweging kunnen maken. De DEC is van mening dat het belang en het ingeschatte ongerief bijdragen tot de vraagstelling zoals geformuleerd in het 1^e advies en komt voor deze wijziging niet tot een andere ethische afweging.

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 van mening dat het reële belang van de longspoelingen om immunologische parameters in longspoelingen te kunnen bepalen en het ingeschatte ongerief bijdragen op weegt tegen het matige ongerief van de handeling. Het totale ongerief zoals geformuleerd in het 1^e advies wijzigt niet en de DEC komt voor deze wijziging niet tot een andere ethische afweging.