

Inventaris Wob-verzoek W21-04									
nr.	Wijzigingsdossier 20209446-6	wordt verstrekt				weigeringsgronden			
		reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Wijzigingsformulier, d.d. 17 maart 2021				x		x	x	
2	Project Proposal , d.d. 17 maart 2021				x			x	
3	Description Animal Procedures, d.d. 17 maart 2021				x			x	
4	Toelichting, d.d. 17 maart 2021				x		x	x	
5	Inkooporder, d.d. 17 maart 2021				x		x	x	
6	NTS versie 1			x					
7	Ontvangstbevestiging van wijzigingsaanvraag, d.d. 17 maart 2021				x		x	x	
8	E-mail inzake DEC- adviesaanvraag, d.d. 17 maart 2021				x			x	
9	Terugkoppeling CCD aan VGH inzake DEC- adviesaanvraag, d.d. 17 maart 2021				x		x	x	
10	Begeleidende e-mail van CCD aan VGH inzake ontvangstbevestiging van wijzigingsaanvraag, d d 17 maart 2021				x		x	x	
11	E-mail inzake DEC- advies, d.d. 24 maart 2020				x		x	x	
12	DEC-advies, d.d. 23 maart 2021				x		x	x	
13	Ontvangstbevestiging DEC-advies, d.d. 24 maart				x		x		
14	Aangepaste Description Animal Procedures, d.d. 24 maart 2021			x					
15	Begeleidende e-mail bij beschikking, d.d. 6 april 2021				x		x	x	
16	Beschikking, d.d. 6 april 2021				x		x	x	
17	Terugkoppeling van CCD aan DEC inzake vergunning van aanvraag, d.d. 12 april 2021				x		x	x	
18	NTS versie 2	x							
19	Terugkoppeling VGH, d.d. 6 april 2021				x		x		
20	Interne e-mail CCD, inzake ontvangst van wijzigingsaanvraag, d.d. 17 maart 2021				x		x		

21	Interne e-mail CCD, inzake ontvangst van factuur, d.d. 17 maart 2021				x		x	x	
22	Interne e-mail CCD, inzake behandeling van DEC, d.d. 23 maart 2021				x		x		x
23	Interne concept Adviesnota, d.d. 24 maart 2021				x		x		x
24	Interne Adviesnota, d.d. 24 maart 2021				x		x		x
25	Interne concept Beschikkingsbrief, d.d. 6 april 2021				x		x	x	
26	Interne e-mail van CCD inzake verzoek tot ondertekening van beschikking, d.d. 6 april 2021				x		x		
27	Interne e-mail van CCD secretaris inzake ondertekening van beschikking, d.d. 6 april 2021				x		x		
28	Interne e-mail CCD inzake verzoek tot publicatie NTS, d.d. 12 april 2021				x		x		

Aanvraag  
Projectvergunning Dierproeven  
Administratieve gegevens

1

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

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	40100
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde KvK-nummer	Stichting Wageningen Research dr. 10.2.e 09098104
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.	Straat en huisnummer Postbus Postcode en plaats Iban Tenaamstelling van het rekeningnummer	10.2.g Wageningen University & Research
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker	(Titel) naam en voorletters Functie Afdeling Telefoonnummer Email adres	10.2.e [ ] Dhr. [ ] Mw.
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) naam en voorletters Functie Afdeling Telefoonnummer Email adres	10.2.e [ ] Dhr. [ ] Mw.
1.6	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon	(Titel) naam en voorletters	[ ] Dhr. [ ] Mw.

die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.

Functie  
Afdeling  
Telefoonnummer  
Email adres

- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?  Ja > Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag  
 Nee

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project? 16-3-2020  
15-3-2025
- 3.2 Wat is de titel van het project? Novel Coronavirus SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting? Nieuw coronavirus SARS-CoV-2: Opzetten van een diermodel voor het testen van vaccins en medicijnen op werkzaamheid en veiligheid

3.4	Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?	Naam DEC	DEC Wageningen UR
		Postadres	Droevendaalsesteeg 4, 6708 PB Wageningen
		E-mailadres	10.2.g

#### 4 Betaalgegevens

4.1	Om welk type aanvraag gaat het?	<input checked="" type="checkbox"/> Nieuwe aanvraag Projectvergunning €
4.2	Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.	<input type="checkbox"/> Wijziging €
		<input checked="" type="checkbox"/> Na ontvangst van de factuur

#### 5 Checklist bijlagen

5.1	Welke bijlagen stuurt u mee?	Verplicht <input checked="" type="checkbox"/> Projectproposal (PP) inclusief Description animal procedures (DAP) <input checked="" type="checkbox"/> Niet-technische samenvatting
		Overige bijlagen, indien van toepassing <input checked="" type="checkbox"/> Toelichting wijziging 16MRT21 <input checked="" type="checkbox"/> inkoop order WUR1433514

#### 6 Ondertekening

6.1	Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:	Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart: <ul style="list-style-type: none"> <li>• dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.</li> <li>• dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.</li> </ul>
-----	--	---

Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

dr. 10.2.e

Functie

gemandateerd vergunninghouder

Plaats

Wageningen

Datum 17 maart 2021

Handtekening

10.2.e

**Form**

**Project proposal**• This form should be used to write the project proposal of 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.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.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'. | 40100   |
| 1.2 Provide the name of the licenced establishment.  | Stichting Wageningen Research   |
| 1.3 Provide the title of the project.  | Novel Coronavirus SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions |

**2 Categories**

- |   |   |
|---|---|
| 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project. | <input type="checkbox"/> Basic Research<br><input checked="" type="checkbox"/> Translational or applied research<br><input type="checkbox"/> Regulatory use of routine production<br><input type="checkbox"/> Research into environmental protection in the interest of human or animal health or welfare<br><input type="checkbox"/> Research aimed at preserving the species subjected to procedures<br><input type="checkbox"/> Higher education or training<br><input type="checkbox"/> Forensic enquiries<br><input type="checkbox"/> 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.

This proposed project aims at establishing a suitable animal model for a newly emerged virus. Using this animal model, therapeutic and preventive interventions will be trialled.

At the end of December 2019, the first cases of atypical pneumonia due to an unknown Coronavirus (CoV), were reported in China. This CoV, officially named SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2), is thought to initially originate from bats, and to have spread to humans via an intermediate host that was present on a live wildlife/seafood market in Wuhan, China. Previously, other bat CoVs evolved into human pathogens as well (e.g. SARS in 2002/2003 or Middle-Eastern Respiratory Syndrome (MERS) from 2012-ongoing surveillance). Even though human CoVs circulate in the human population and cause respiratory symptoms (common cold), these newly emerged CoVs (SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2) induce more severe and frequently lethal disease (case-fatality rate SARS-CoV: 10%, MERS-CoV: 34%).

Coronavirus Disease 19 (COVID-19) - the disease caused by SARS-CoV-2 - is a current outbreak with ongoing developments. So far, the observed incubation time is between 2 and 12 days, and the virus can spread between humans, most likely via droplets and aerosols. The clinical symptoms of COVID-19 can vary substantially, from asymptomatic to severe respiratory disease, pneumonia and death. The case-fatality rate of COVID-19 is currently around 2%. Interestingly, spreading of SARS-CoV-2 from a patient without clinical symptoms has been reported (DOI: 10.1056/NEJMc2001468).

Two weeks after the first detection of SARS-CoV-2, full genome sequences of several isolates were published. The sequences suggest a close genetic relation to SARS-CoV strains. However, while SARS-CoV infected around 8000 people during 9 months, at the moment of writing, more than 43000 cases of SARS-CoV-2 infections have been reported within two months of the first human case report. From China, the virus has spread to other countries, mostly via travellers and has been declared a Public Health Emergency of International Concern by the World Health Organization (WHO) end of January.

At the moment, there is no vaccine or antiviral treatment available. The outbreak already has dramatic consequences on international trade and travel, and so far, the number of cases continues to increase steadily. This project will contribute to a better understanding of the causative agent and disease pathogenesis. Moreover, therapeutic or preventive strategies will be tested utilizing experimental animal models, enabling mitigation of the current global outbreak.

References: All lastly checked on 12th of February 2020

<https://www.cdc.gov>

<https://www.ecdc.europa.eu>

<https://www.who.int>

At present, March 2021, the daily rate of new infections stagnates. It is estimated that worldwide 5-10k people die every day due to a SARS-CoV-2 infection (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>). There are four vaccines approved in the EU: Comirnaty (BNT162b2, Pfizer/BioNTech), Moderna COVID-19 Vaccine (mRNA-1273), COVID-19 Vaccine AstraZeneca (AZD1222); COVID-19 Vaccine **10.2.g** (JNJ-78436735; Ad26.COV2.S); and vaccine programs have started in many parts of the world (<https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/vaccines-covid-19/covid-19-vaccines-authorised>).

Even though the ongoing vaccinations are promising, new variants are arising at the same time. These variants pose new risks in the current pandemic, such as for instance:



- The exponential occurrence of mutations and variants of SARS-CoV-2. Currently, the Netherlands has increasing numbers of infections with variants like the B.1.1.7 (UK) variant, B.1.351 (South African) variant, P1 (Brazilian) variant, and additional variants will likely develop. (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-infographic-mutations-current-variants-concern>)
- It is still unknown if these recent SARS-CoV-2 variants spread differently than the previous SARS-CoV-2 variants, worst-case scenario more rapidly, and whether they cause similar clinical symptoms. It is also unknown if the severity of symptoms are different, and whether the (current) developed vaccines are protective against these variants.
- Escape variants of SARS-CoV-2. As we are trying to find strategies to solve the SARS-CoV-2 pandemic, the virus is evolving simultaneously. There is major concern that escape variants, thus variants against which an existing immunity (post infection or post vaccination) is ineffective, may arise. This would cause another dramatic increase of cases, because the virus would again meet a naïve population.

A recent study done by Garcia-Beltran et al. illustrates the phenomenon of escape variants and concludes:

- Numerous variants of SARS-CoV-2 harboring mutations in the spike protein and the receptor binding domain (RBD) have arisen globally
- mRNA vaccines elicit potent neutralizing activity against homologous pseudovirus
- There is poor cross-neutralization of strains with mutations in the RBD
- Both RBD and non-RBD mutations mediate escape from vaccine-induced humoral immunity

While the clinical impact of resistance to antibody-mediated neutralization remains uncertain, these conclusions highlight the potential of variants to escape from neutralizing humoral immunity and emphasize the need to develop broadly protective interventions against the evolving pandemic.

This license covers both the characterization of new variants (e.g. by pathogenesis and transmission studies) as well as efficacy studies of interventions against current and future SARS-CoV-2 variants.

Reference:

Garcia-Beltran et al., Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity; Cell 2021 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.013>

### 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 overall goal of the project is to contribute to reducing the global impact of COVID-19 by characterizing the virus and by testing the efficacy of various interventions for preventing disease (vaccines) or treating disease (antivirals, or other treatments).

There are two main goals:

First, this project shall contribute to a better understanding of COVID-19 by establishing an animal model and studying virulence of SARS-CoV-2 isolates. Since this is a newly emerged virus, the best animal model species cannot be chosen upfront. Based on the similarity of SARS-CoV-2 with SARS-CoV, it is likely that animal models that are suitable for SARS-CoV studies will also be useful for SARS-CoV-2 studies. Described animal models include inbred mouse strains, genetically modified mouse strains, Syrian hamsters and ferrets. Initially, the proposed animal models will be evaluated, and subsequently the one or two most suitable models will be chosen. These models will be further characterized by studying different inoculation doses or other variables such as inoculation routes. Our evaluation process will be informed by progress of other research. If new virus variants occur, these SARS-CoV-2 isolates shall be characterized in the established model(s). Ongoing research brought the role of domestic cats in the center of attention. For this reason, the pathogenesis of SARS-CoV-2 infections in cats shall be investigated, and their potential epidemiologic contribution to the ongoing pandemic. Moreover, infections in minks with SARS-CoV-2 were reported recently in the

Netherlands. Affected minks showed respiratory or gastrointestinal illness and increased death rates were reported on those mink farms. This suggests that minks are susceptible to SARS-CoV-2, and that they may be a suitable model for the human disease.

Second, interventions shall be tested in the best one or two animal models. Such interventions could include vaccines, antivirals or other preventive or therapeutic treatments. If cats can transmit the virus or develop clinical symptoms upon infection, vaccines for cats shall be tested in cats. The selection for suitability of a model will be based on either our own experimental data (first goal mentioned above) or on results from other research groups working with SARS-CoV-2 that are published in the meantime, and will depend on the specific research questions.

### **3.3 Relevance**

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

---

The current emerging outbreak of COVID-19 is characterized by rapidly evolving situations which requires ongoing simultaneous research that follows the latest developments. Based on current information, the global population is susceptible to SARS-CoV-2. There is a clear need for therapeutics and ideally a vaccine. At the end of January 2020, the WHO declared the situation a Public Health Emergency of International Concern. The impact on daily life in China is dramatic; many cities have been shut down, and factories closed. The US, for instance, advise to avoid all unnecessary travels to China. The short term economic consequences are evident and the long term consequences are yet unpredictable.

For Europe, the probability of a spreading disease is considered low, however, the impact of such for the population is high (<https://www.ecdc.europa.eu/en/current-risk-assessment-novel-coronavirus-situation-assessed-on-06th-of-february-2020>).

Currently, treatment options of infected individuals are limited to alleviation of symptoms. Antivirals and vaccines are powerful in combatting viral infections, either post infection or as a preventive measure. These compounds are typically designed specifically for the viral infection they target, and each new drug needs to be tested for safety and efficacy in experimental animals before they may be used in humans.

The proposed project aims at contributing to the control of SARS-CoV-2 spread, transmission and disease and is therefore highly relevant for public health, as well as for worldwide trade, travel, economy and the society. Even though it is still too early to draw final conclusions, the available data indicates that SARS-CoV-2 spreads more rapidly than SARS-CoV and some pandemic influenza strains. The observation that the virus can also be transmitted by asymptomatic patients further complicates this outbreak.

### **3.4 Research Strategy**

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

---

This project is based on two main development trajectories that may be performed in sequence to another, or independent of each other. The first part focusses on the evaluation of suitable animal models and the assessment of virulence of SARS-CoV-2 strains. The second part focusses on interventions, such as the efficacy and safety of vaccine candidates, antivirals or other compounds. Both parts could also include transmission studies by including non-challenged (transmission of SARS-CoV-2) or non-treated (safety of intervention compounds such as vaccines) animals.

The most suitable animal species to study COVID-19 is not known yet. The best model would be a model that develops respiratory illness, similar to the disease in humans. The minimum requirement for subsequent intervention studies would be viral replication in the respiratory tract of an infected animal.

Readout parameters shall be clinical signs (if occurring), viral load and shedding, macroscopic and histologic examination of the lungs, and additionally for the evaluation of interventions measurement of immunological parameters and serological responses. However, since this is a

newly emerged virus, readout parameters may change according to ongoing research and new scientific insights.

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.

#### Establishment of an animal model and assessment of virulence

Animals will be challenged with SARS-CoV-2 strains, which may be isolated field strains, originating from infected patients, or genetically modified virus strains. Both SARS-CoV and SARS-CoV-2 use the same receptor to enter cells, ACE2. Therefore, it is expected that animal models used for SARS will also be appropriate models for COVID-19.

Virus replication of SARS-CoV has been shown in the airways of mice, hamsters and ferrets, and these three species are frequently used as models in which SARS interventions can be tested (e.g. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.030>). Ongoing experiments by other researchers confirm that SARS-CoV-2 also replicates in the airways of ferrets (unpublished data). Pigs were not previously used to study SARS, however, SARS-CoV could be isolated from blood and feces of a domestic pig (doi: 10.3201/eid1103.040824). Looking more closely at receptor properties, in silico analyses of the virus binding site of ACE2 predict that both pigs and ferrets have a similar receptor as humans (DOI: 10.1128/JVI.00127-20), with only one amino acid difference in the critical virus binding site of ACE2. Recently, infections of cats with SARS-CoV-2 were reported, both in cats that were kept as pets in households of SARS-CoV-2 infected patients (<https://promedmail.org/promed-post/?id=7151215>), as well as by experimental infection (doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.015347>). SARS-CoV-2 was furthermore detected in minks of two different mink farms, presenting clinically with respiratory or gastrointestinal disease (<https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksinstituten/Biovetinary-Research/show-bvr/COVID-19-geconstateerd-op-twee-nertsenbedrijven.htm>). Therefore, we want to evaluate the suitability of mice, hamsters, ferrets, pigs, cats and minks for COVID-19 studies:

#### a) Inbred and genetically modified mice

Several different mouse strains showed SARS-CoV replication in the lungs without clinical signs. 129S mice developed self-limiting bronchiolitis (DOI: 10.1128/JVI.78.20.11416-11421.2004) with rapid clearance of the virus. Older BALB/c or B6 mice (>12 months) developed clinical signs (weight loss, ruffled fur, dehydration) and showed histopathological changes similar to those observed in humans (DOI: 10.1128/JVI.79.9.5833-5838.2005). The aged mouse model has been used more extensively than the young mouse model in SARS-CoV studies. Genetically modified (GM) mice studies were varying in clinical disease and pathology, depending on the modification. Transgenic mice expressing the human receptor for SARS-CoV, for instance, had different pathological lesions if gene expression was under the control of K18 or CAG (DOI: 10.1128/JVI.02012-06 and 10.1128/JVI.01702-06). Other GM mouse models used for SARS-CoV studies included mice with targeted immune defects, resulting in histopathology similar to humans (DOI: 10.1128/JVI.78.20.11416-11421.2004 and 10.1371/journal.ppat.1000849).

#### b) Syrian hamster

Syrian hamsters are permissive to SARS-CoV infection with viral replication in lungs and nasal turbinates. In some animals, viremia and spread to other organs was observed. Even though no respiratory illness is observed, SARS-CoV infections reduce nocturnal activity which can be measured by automated counting of rotations of a running wheel (DOI: 10.1128/JVI.00304-08).

So far, March 2021, we have established a SARS-CoV-2 hamster model and tested several interventions using  $\pm$ 1500 Syrian hamsters. Our experiments and findings of other researchers overall conclude that hamsters are a suitable model to study the clinical-pathological, virological and immunological responses to SARS-CoV-2 infection. The efficacy and safety of potential therapeutics or prophylactics for humans can be studied well in hamsters.

The experiments that we performed until now led to currently three manuscripts for scientific publication, with additional manuscripts to follow:

- Precision-cut lung slices to test species susceptibility and characterization of our hamster model

- Vaccine enhanced diseases in hamsters
- Comprehensive comparison of SARS-CoV-2 pathology scoring schemes in hamsters

#### c) Ferrets

SARS-CoV replicates in ferret lungs, trachea and nasal turbinates. Histological changes in the lungs were observed, however, the development of clinical disease was inconsistent among studies (<https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.12.032>). Ferrets are frequently used as models for respiratory virus infections (e.g. influenza virus), because of the high similarity of respiratory disease in humans and ferrets.

#### d) Domestic pigs

*In silico* analysis of the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), the receptor employed by SARS-CoV-2 and SARS-CoV to enter host cells, revealed high homology between the porcine and human receptor, at least in the critical amino acid residues required for virus binding (DOI: 10.1128/JVI.00127-20). In addition, pigs are a valuable model for a broad spectrum of human diseases. Taken together, these facts prompt towards the use of domestic pigs to study SARS-CoV-2 infection.

#### e) Domestic cats

In cats, experimental infection with SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 was found to result in viral infection of the lower respiratory tract, the induction of neutralizing antibodies, and in some studies also pathological changes could be identified (doi: 10.1354/vp.45-4-551 and doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.015347>). It has been reported that cats can be infected by being exposed to SARS-CoV-2 in a household affected by COVID-19 (<https://promedmail.org/promed-post/?id=7151215>). Since humans and cats live closely together, the question arose whether cats can be a source of infection for humans.

#### f) Minks

Minks are closely related to ferrets, and ongoing research from scientists all over the world shows that ferrets can be infected and subsequently replicate SARS-CoV-2 in the airways. Recently, two Dutch mink farm, located in a region with a high human COVI/19 case load, reported respiratory and gastrointestinal symptoms in minks, as well as an increased number of deaths. Diagnostics of affected and dead minks revealed that the minks were infected with SARS-CoV-2 (<https://www.rijksoverheid.nl/documenten/kamerstukken/2020/04/26/kamerbrief-infectie-van-nertsen-met-sars-cov-2>). Most likely these minks acquired the virus by infected personnel. The fact that clinical symptoms were observed suggests that minks could be a susceptible and valuable animal model for COVID-19.

For all proposed models the optimal age cannot be chosen upfront and this will need to be tested experimentally. All animals will be allowed to acclimatize for 4-7 days and assessed daily for their general health throughout the study. Relevant parameters such as clinical disease observations, body weight, body temperature or other parameters will be measured at predefined time points. At the end of or throughout the study, animals will be euthanized for pathological evaluation and measurement of viral load in tissues.

There are Go/No-Go decision points applicable for the development of a preclinical model as outlined in Figure 1.

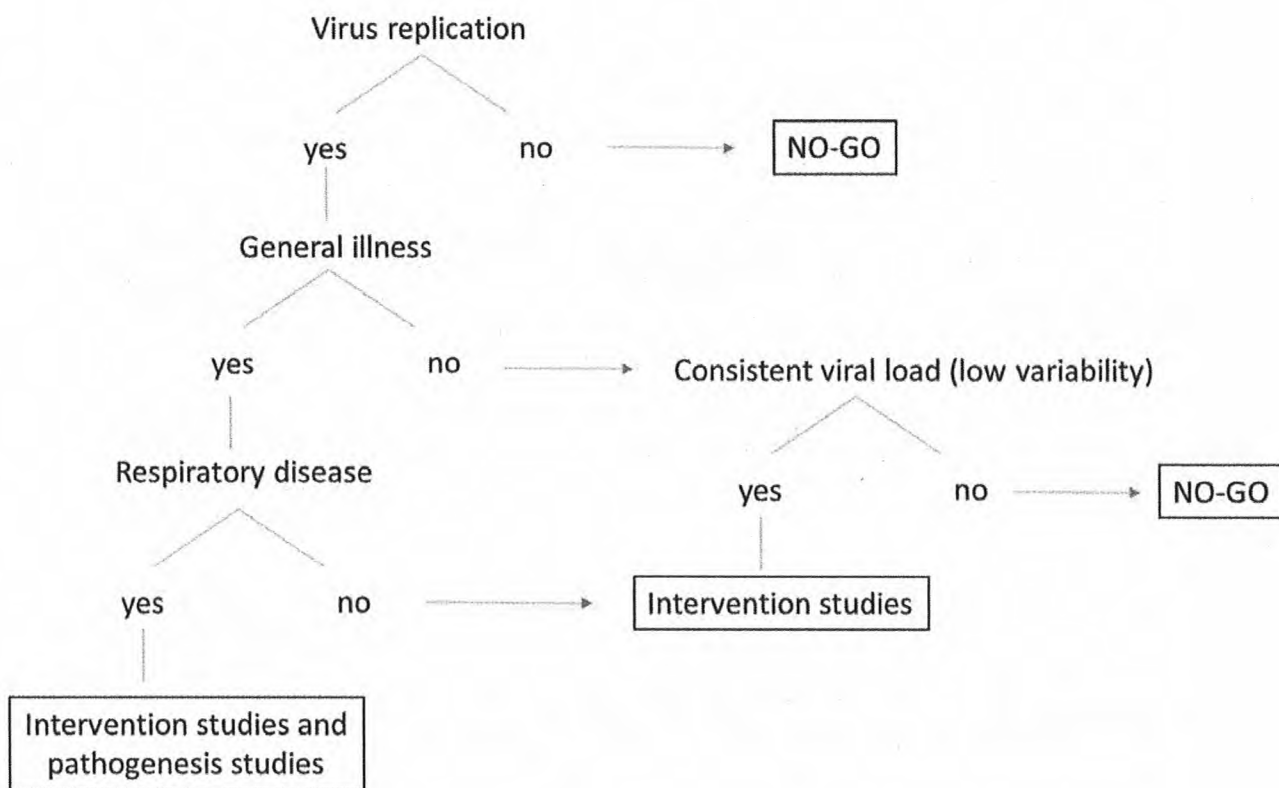


Figure 1. Decision tree for the development of an animal model for COVID-19.

#### Prophylactic or therapeutic interventions

This part of the project shall be performed in the one or two best animal models for COVID-19. Ideally, an animal model would develop a disease that reflects all aspects of human COVID-19 (coughing, increased respiratory rate, fever, no encephalitis, older animals more affected than younger ones, a.s.o.). However, if a (representative) respiratory disease model cannot be obtained, interventions can also be evaluated based on general illness, serological response, virological tests and/or macroscopic and histologic evaluation of the lungs. Such non-respiratory models were successfully used in studying SARS interventions (DOI: 10.1038/nature02463, DOI: 10.1086/500143, for instance).

The best models could be chosen based on the results from studies that were performed under the first part of this project, or based on data that is made available by research results of others. If, for instance, a certain animal model has been proven useful to study COVID-19, we will not test this ourselves anymore in a first pilot experiment but immediately evaluate if we can reproduce the model in our facilities to proceed with testing of interventions.

Experimental groups will receive a treatment (vaccine, antiviral compound or another relevant compound) whereas control groups receive either no or a mock treatment. For vaccines or other preventive compounds, immunogenicity in terms of antibodies and cellular responses will be evaluated, as well as reduction of viral replication and corresponding clinical and pathological findings post challenge. For antiviral compounds or other therapeutics, the effect on disease development after challenge will be monitored. The read-out parameters will be defined in advance based on data collected during the first phase of our studies or published by other researchers.

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 two development trajectories may be conducted independent of one another or in sequence, depending on the current state of knowledge on COVID-19. The assessment of virulence and the establishment of a suitable model is a prerequisite to test interventions. However, if reliable information is available from other research groups, testing of interventions may be performed without testing the challenge model ourselves.

We are in close contact with consortia and research groups working on animal models to study COVID-19. For instance, we are members of the WHO Ad hoc Expert Group on preclinical models of COVID-19 disease, and in a partnership with 10.2.g

10.2.g which are both coordinating the development of COVID-19 models. Embedded in 10.2.g 10.2.g we also participate in research on the role of cats in potential transmission of the SARS-CoV-2 and in a project studying the role of minks in SARS-CoV-2 epidemiology, both financed by the Dutch Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality (LNV). Next to this, we are following the latest literature published on COVID-19 in high-impact scientific journals (such as Nature, Science, Lancet, NEJM, JAMA and others) as well as the recommendations available at official website (WHO, CDC and ECDC). Key words for literature search include, but are not limited to: COVID-19, SARS-CoV-2, model, pathogenesis, vaccine, pig, ferret, mouse, hamster, cats, minks.

In the virulence studies, characteristics of SARS-CoV-2 isolates will be determined, as well as the optimal challenge dose, challenge route and read-out parameters. Also, the transmission between infected animals (especially cats) will be investigated.

The intervention studies evaluate the induced immunogenicity and the capacity to protect animals against SARS-CoV-2 infection, viral replication and potentially clinical disease.

The coherence of the different steps is represented by the aim of finding valuable strategies to combat SARS-CoV-2 infections. The variables in this project are the animal species and their immune status, characteristics of isolates, types of interventions and dosages.

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	Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates
2	Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19

Appendix  
Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.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'.	40100					
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Wageningen Research					
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="438 1019 917 1064">Serial number</th> <th data-bbox="917 1019 1386 1064">Type of animal procedure</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="438 1064 917 1283">1</td> <td data-bbox="917 1064 1386 1283">Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates</td> </tr> </tbody> </table>	Serial number	Type of animal procedure	1	Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates	
Serial number	Type of animal procedure						
1	Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates						

## 2 Description of animal procedures

### A. Experimental approach and primary outcome parameters

---

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

---

Since the most suitable animal model to study SARS-CoV-2 is not known yet, we set out to first evaluate mice, hamsters, ferrets and pigs as model species. Latest data brought cats and minks in the center of attention, which is why domestic cats as well as minks are added to the list of potential animal models to study SARS-CoV-2. This could be done (partially) in parallel, using small groups of animals. Ideally, respiratory disease would occur similar to humans. If such a model is not found, then signs of general disease (weight loss, fever, reduced activity, etc.) in combination with detectable viral replication in the airways and pathology would be preferred over a model without general disease or without pathology. The least preferred but still acceptable model would be a model in which viral replication in the airways occurs with a low variation between individuals. Additionally, the setup of an experimental model could also depend on the SARS-CoV-2 isolate that is used in the study. Therefore, one or more strains will be tested in one or up to three different dosages and in up to two application routes (intranasal or intratracheal). The primary outcome parameters are: signs of general disease; specific respiratory symptoms; viral replication and/or shedding as detected in nasal, pharyngeal and/or rectal swabs; viral load in organs and blood; and lung pathology. Secondary parameters are changes in body weight or relative body weight gain and body temperature.

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

---

All infection experiments have to be performed in hBSL3 level facilities. After arrival, the animals will be assigned into groups (if applicable), allowed to acclimatize for 7 days and monitored daily for general health. A subcutaneous chip can be placed to identify animals. On predefined study day 0, animals will be challenged with a SARS-CoV-2 strain of interest. Non-infected contact animals can be included in the experiment to evaluate the transmission between animals. Depending on the available data on this strain, one or more dosages will be applied, or one or more application routes will be compared. The animals will subsequently be followed for up to 21 days with daily clinical examinations. Alternatively, animals may be taken out of the study in time to follow pathogenesis more closely. Body weight will be measured regularly at predetermined time points. Blood samples and, if possible, oropharyngeal, nasal or rectal swabs will be taken on predetermined time points. At the end of the study, animals will be euthanized for post mortem examination and tissue collection. If a humane endpoint is reached, post mortem examination will be performed as soon as possible.

The following animal procedures will be performed:

#### Challenge infection

- Inoculation of virus in the nasal cavity or trachea (volume according to animal species, will be agreed upon with the AWB)
- Different doses (maximally three) of a virus strain of interest (maximally three) will be inoculated
- Dependent on the animal species and inoculation route, challenge will either be done in full consciousness of the animal or under general anaesthesia or sedation, following the advice of the AWB
- Challenge will be done once per experiment

At this moment, March 2021, we have set-up a hamster model that gives promising results. However, there is a need to refine and optimize this model further by:



1. Administration of test compounds without a challenge infection in a pilot experiment. Routes to be studied are: Intranasal, intratracheal, aerosol, oral, subcutaneously, intramuscular, intraperitoneal and intravenous. For instance, by administering a compound in either the nose, trachea or by aerosol in a pilot experiment, we can choose the best route of administration for a subsequent challenge experiment.
2. Compare different anesthesia protocols in hamsters to determine the optimal protocol during experiments (refinement)
3. Rechallenge animals and repeated exposure to SARS-CoV-2 (and/or variants). The goal is to collect additional data on the effect of repeated exposure during infection- and transmission studies, and the cross-protection antibodies.

#### Blood samples

- Blood will be extracted according to existing SOPs for the respective animal species
- The extracted blood volume will not exceed 10% of the circulating blood volume in 3 weeks
- Hamsters, cats, minks and ferrets will be sedated for blood sampling, mice and pigs can be blood-sampled without anaesthesia/sedation.
- Repeated blood samples are required to evaluate virus load and immunogenicity at different time points of the study
- Blood samples will be taken maximally once daily, on maximally 7 consecutive days, in total maximally 14 times per experiment

#### Nasal, oropharyngeal or rectal swabs (only hamsters, cats, minks, ferrets and pigs)

- Cats, hamsters, minks and ferrets will be sedated for taking nasal or oropharyngeal swabs, pigs can be sampled without anaesthesia/sedation
- Repeated swabs are required to evaluate virus shedding and virus load at different time points of the study
- Swabs will be taken maximally once daily, on maximally 7 consecutive days, in total maximally 14 times per experiment

#### Nasal or bronchoalveolar lavages (only cats, minks, ferrets and pigs)

- Cats, minks, ferrets and pigs will be sedated for taking nasal or bronchoalveolar lavages
- Repeated lavages are required to evaluate virus shedding and virus load at different time points of the study
- Lavages will be taken maximally once daily, on maximally 7 consecutive days, in total maximally 14 times per experiment

#### Body weight measurements

- Body weight measurements can be performed between once a day to once a week
- Body weight loss can be indicative of general illness

#### Body temperature measurements

- Rectal body temperature will be measured once or twice daily (cats, minks, ferrets and pigs)
- Body temperature loggers could be placed in the peritoneal cavity under general anaesthesia to collect continuous temperature data
- Body temperature increase correlates with general illness

#### Euthanasia

- Euthanasia will be performed after anaesthesia of animals at predetermined time points: throughout or at the end of the study, or if a HEP is reached
- Samples from tissues and blood for pathological and virological examination will be taken after euthanasia
- Euthanasia is required to collect tissues for scoring of tissue damage and evaluation of virulence of the applied strain

The frequencies and selection of animal interventions for each animal species and experiment will be discussed and agreed upon with the AWB.

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

No statistical assessment of animal numbers is possible, because the virulence of a new virus strain in an experimental animal is in principle unknown. The number of animals is based on published data on the characterization of (new) virus strains.

For the establishment of the animal model, small numbers of animals will be necessary per experiment. However, several doses or several isolates of SARS-CoV-2 will be tested, as well as different age groups or, for mice only, inbred or GM strain.

Since mice and hamsters need to be sacrificed throughout the study to collect data on viral kinetics, more animals are required of these two species. Pigs, cats, minks and ferrets could also be euthanized throughout the study to evaluate the pathological lesions and viral loads in organs, however, less time points will be required in comparison to mice and hamsters.

For cats, data from another research group was available to perform a sample size calculation (doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.015347>). The sample size calculation was used to determine the number of cats that shall be used for a pathogenicity study as well as for a transmission study.

If, based on our own results or on data published by other research groups, it is evident that a model is not suitable to study COVID-19, we will not proceed with this animal model. At this point it is not predictable which model will be most useful, which is why we are requesting the number of animals per model that would be needed if this is the most useful model.

## **B. The animals**

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

The choice of animals is based on studies that were performed with SARS-CoV (e.g. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.030>) and that were suggested by international research consortia or publications for the study of SARS-CoV-2.

Since several parameters need to be evaluated (different virus isolates, different dosages, different age groups and, for mice, different inbred strains), several groups or several experiments will likely be necessary. No animals will be used that are younger than their weaning age. Moreover, since the SARS-CoV-2 outbreak is still ongoing and the situation is constantly evolving, it may be possible that the virus further evolves which requires a new assessment. This situation now applies for the inclusion of cats and minks in this license.

Under the assumption that, over the course of 5 years, one SARS-CoV-2 isolate at a high dose in two age groups with mixed genders will be assessed in an initial pilot experiment (1 group x 1 dose x 2 ages; for mice three different strains x 3), followed by a more detailed determination of peak viremia at three different doses to further evaluate the model (1 group x 3 doses) and subsequently followed by studying two other SARS-CoV-2-isolates at three different doses (2 isolates x 3 doses) the total number of required experimental animals would be (2+3+6=11 groups; for mice 6+3+6=15 groups):

Mice (*Mus musculus*): 300 (20 mice/group x 15)

Hamsters (*Mesocricetus auratus*): 220 (20 hamsters/group x 11)

At this moment, March 2021, we need to perform additional studies in hamsters, such as virus characterization studies, transmission studies and refinement experiments to support our ongoing and planned experiments. For this reason, we estimate that an additional 600 extra hamsters are needed. This number is based on the following calculation: For instance, to characterize a new variant, one experimental group will receive the reference virus, and (for example) three groups receive different dilutions of the variant virus. Post infection, half of all hamsters will be sacrificed

during the peak infection (~DPI 5), and the remaining hamsters will be followed until recovery (DPI 10-14). To account for gender and individual variation, 16 hamsters per group will be needed, leading to an experiment of 64 hamsters. At the moment, there are three variants of particular interest, but it is expected that more variants will arise. If, for instance, five additional variants shall be tested, a number of  $5 \times 64 = 320$  hamsters will be necessary. Since variants may differ in their transmissibility, transmission studies are needed. Depending on the expected result, different transmission study designs could be chosen, with varying numbers of donor and acceptor animals. For instance, two donor groups of 8 animals and two acceptor groups of 16 animals would lead to  $2 \times 8 + 2 \times 16 = 48$  hamsters. If the transmission rate of five variants shall be tested, a number of  $5 \times 48 = 240$  hamsters will be necessary. To further refine the hamster model such as for optimization of anesthesia, not more than 40 hamsters will be needed. This sums up to  $320 + 240 + 40 = 600$  additional hamsters.

Ferrets (*Mustela putorius furo*): 88 (8 ferrets/group x 11)

Pigs (*Sus scrofa domesticus*): 88 (8 pigs/group x 11)

Minks (*Mustela lutreola* or *Neovison vison*): 88 (8 minks/group x 11)

For cats, a sample size calculation has been performed, which recommends experimental groups of 12 cats plus 2 non-inoculated cats as comparison for pathogenesis studies (14 cats). In case a second strain or another administration route shall be evaluated, another 14 cats would be needed. For transmission studies, 4 groups of 4 cats will be needed (16 cats):

Cats (*Felis catus*): 44 (14 + 14 + 16)

Animals of both genders can be used for the experiments in compliance with internal animal housing SOPs. High-health animals will either be purchased from a registered breeding company or supplier within the EU, from a commercial breeder (e.g. pigs), or from other research groups (e.g. GM mice). The absence of unrelated respiratory pathogens, as well as the status of coronavirus antibodies (if appropriate) will be determined upon study start.

### C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

### D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

Animal species are selected based on the similarity of SARS-CoV-2 with SARS-CoV, on current reports of infected animals (minks) or on reports of animal trials or virological and serological surveys of domestic animals (cats) from SARS-CoV-2-positive households, and on the similarity between the human and porcine ACE2 receptor. Using the available data available for this new virus, the choice of animal species could be restricted to six different species. The procedures are designed to balance the frequencies and severities of animal interventions with the number of data points necessary to obtain a comprehensive picture of the model. The numbers of animals are as low as

possible, while simultaneously account for individual variations and allowing sampling throughout the study.

Replacement is not possible because host-virus interactions can only partially be simulated in *in vitro* assays. To fully characterize new virus strains, animal models are the only tool (besides clinical data) to gain more knowledge about the viral pathogenicity, kinetics, shedding, transmission, pathology and immunogenicity.

To ensure reduction of animal numbers, a critical evaluation of every experiment will be performed. The number of animals will be adapted in the course of the project according to the results of previous experiments and new insights from the global research community and will be discussed with the AWB.

Regarding refinement, all animals will be housed in pens suitably enriched per animal species. Humane endpoints will be defined and applied accordingly. Blood sampling volumes will be as low as possible as highly sensitive PCR and virus isolation techniques will be available.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

The expected adverse effects described in this appendix are discomfort due to restraining, anesthetizing and manipulating the animals. Challenge infection can cause respiratory or general illness. Animals will be anesthetized before euthanasia to minimize pain and fear. To minimize the negative impact on the animals, only trained and experienced personnel will perform all animal handlings.

Adverse effects on the environment are not expected. All SARS-CoV-2-related work will be performed under hBSL3-conditions.

## Repetition and Duplication

### E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

The question is not applicable for this project because it is not regulatory required.

## Accommodation and care

### F. Accommodation and care

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

Animals will be housed according to SOPs under hBSL3 conditions. For hamsters, however, we do not have a species-specific SOP in place yet. Until a SOP exists, hamsters will be housed according to legal requirements (EU guideline 2016/63/EU).

### G. Location where the animals procedures are performed

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

## **G. Location where the animals procedures are performed**

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

## **Classification of discomfort/humane endpoints**

### **H. Pain and pain relief**

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Mice, hamsters, ferrets, pigs, minks and cats will be sedated for challenge infection, and ferrets, minks and cats will additionally be sedated for blood, swab or lavage samplings. Pigs will be sedated for lavage sampling. If temperature transponders will be used, they will be placed in the abdomen under general anaesthesia.

Blood sampling, oropharyngeal swab collection and challenge infection are considered to induce short, procedure-related stress.

Clinical signs of SARS-CoV-2 infection are depending on the isolate and the experimental model, and could vary between being asymptomatic to acute respiratory distress. Based on the data that is available for SARS-CoV, severe disease is not expected. Since the development of clinical signs would be a criterion for an ideal model for subsequent intervention studies, the application of pain-relieving therapies would impair the readout of the study.

### **I. Other aspects compromising the welfare of the animals**

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

Welfare could be impaired due to development of clinical disease, animal handlings and anaesthesia.

Explain why these effects may emerge.

Animals may develop respiratory disease or symptoms of general illness due to experimental infection with SARS-CoV-2. GM mice could develop a more pronounced form of disease (as observed in humans), and severe impairment of animal welfare will be prevented by closely monitoring animal health.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

All animals will be closely monitored post challenge infection on a daily base for general health and signs of respiratory distress.

In case of increased discomfort or illness, the responsible veterinarian will be consulted and upon reaching an humane endpoint, the animal will be euthanized.

#### **J. Humane endpoints**

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

All animals will be observed daily. Observation parameters will be defined before study start, and an applicable clinical scoring scheme per animal species will be used. Based on data available for SARS-CoV, the peak of viral replication is expected around day 3 to 5 post challenge infection. Monitoring frequency will be increased to two (early morning, late afternoon) or three (morning, afternoon, evening) times per 24 hour period during the most critical period, if moderate clinical symptoms occur to prevent severe discomfort. This will be discussed with the AWB before the start of the study.

Even though no severe clinical disease is expected, the humane endpoints will be defined as following:  
An humane endpoint is reached if an animal shows:

- severe respiratory distress, characterized by laboured breathing or open mouth breathing at one observation point
- severe neurological signs at one observation point
- lethargy or anorexia for more than 24h
- more than 15% body weight loss compared to the day of challenge

Animals that have reached a HEP will be immediately euthanized.

Indicate the likely incidence.

The likely incidence of reaching HEPs differs per animal species, but according to data available for SARS-CoV, it is not expected to exceed 5% in the most sensitive wildtype models.

The likelihood that GM mice will reach a HEP depends on details of the genetic modification (target gene, promotor, expression system, transgene or knockout, ...). For SARS-CoV GM mouse models, the incidence ranged from 0-100%. Lethality strongly correlated with the expression of hACE2 in the murine central nervous system.

#### **K. Classification of severity of procedures**

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe ).

The expected severity based on data available for SARS-CoV is moderate, and severe disease is not expected.

Handlings of animals are considered to present mild discomfort and if necessary, animals will be sedated or anesthetised (as stated above).

### **End of experiment**

#### **L. Method of killing**

Will the animals be killed during or after the procedures?

**L. Method of killing**

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures. \_\_\_\_\_

Two of the primary readout parameters of this project are the measurement of viral load in the airways and the evaluation of (histo)pathological specimens of the lungs. Therefore, animals need to be euthanized and necropsied.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU? \_\_\_\_\_

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice. \_\_\_\_\_

Yes \_\_\_\_\_

Appendix  
Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.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'.	40100	
1.2	Provide the name of the licenced establishment.	Stichting Wageningen Research	
1.3	List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 2	Type of animal procedure Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19



## 2 Description of animal procedures

### A. Experimental approach and primary outcome parameters

---

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

---

Preventive or therapeutic interventions such as vaccines, antivirals, and other compounds are important tools to combat virus infections. This is also true for newly emerged viral diseases such as COVID-19. Before compounds may be applied in humans, they need to be tested for their efficacy and safety in experimental animal models. Also the optimal dosage need to be determined in animal models. Compounds could be applied oral, intramuscular, subcutaneous, intraperitoneal or intravenous.

Based on data generated in the first part of this project (Establishment of a model and assessment of virulence of strains) or made available by the research community, animal models will be selected. As experimental animals to test human interventions we will use mice, hamsters, ferrets, minks or pigs.

If it becomes evident that cats can be a source of infection for humans, or if cats themselves can get sick from infection with SARS-CoV-2, vaccines that are designed to protect cats can be tested under this appendix, following a similar study design as proposed for the other animal species.

For testing the effect of vaccines or other preventive compounds, the test substances will be administered in animals once or repeatedly before challenge with a SARS-CoV-2 strain. For the effect of antivirals or other therapeutic compounds, animals will be challenged with a SARS-CoV-2 strain first before subsequent administration of the test substance.

A number of approved drugs are currently tested for their use in treating COVID-19 both in vitro as well as in clinical trials. In parallel, many scientists and companies worldwide devote their efforts to developing new drugs against COVID-19. Such drugs will first extensively be studied in vitro. The most promising candidates subsequently have to be tested for safety and efficacy in preclinical animal models before they can enter human clinical trials. We are part of an international coalition and want to offer our animal facilities and expertise to other partners that cannot perform preclinical studies themselves. As a matter of course, only the most promising drug candidates based on in vitro analyses will be tested in animals. Promising therapeutic drug candidates, for instance, should reduce viral replication or virus release of cells, whereas promising preventive candidates such as vaccines should be derived from platforms that are successful for other pathogens.

Data on primary outcome parameters will be collected from observations of specific respiratory disease, general health, viral replication and/or shedding as detected in nasal, saliva, pharyngeal and/or rectal swabs or lavages; viral load in organs and blood; lung pathology (macroscopy and histology); and serological or immunological responses (if applicable for the type of intervention strategy).

Secondary parameters are changes in body weight or relative body weight gain and body temperature.

---

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

---

The best animal species for studying SARS-CoV-2 interventions is not known yet. This will be determined by pilot experiments performed under the first appendix of this project, or selected based on data that might have been published in the meantime.

All experiments will be performed under hBSL3 conditions from challenge with SARS-CoV-2 onwards. Before challenge animals may be housed under lower biosafety conditions depending on the pre-requisites of the specific intervention.

Following arrival, animals will be randomly assigned into groups and allowed to acclimatize for 7 days. A subcutaneous chip can be placed to identify animals.

Depending on the type of intervention (preventive or therapeutic), two different study scenarios could occur:

a) Efficacy and safety of preventive interventions

Animals will receive a test item once or repeatedly and will be challenged with SARS-CoV-2 at a later time point in the study.

b) Efficacy and safety of therapeutic interventions

Animals will be challenged with SARS-CoV-2 and thereafter be treated once or repeatedly with a test item.

All animals will be monitored for general health throughout the study, and for specific clinical disease from challenge onwards. Body weight can be measured regularly at predetermined time points. Blood samples and, if possible in the animal species, oropharyngeal, nasal or rectal swabs will be taken on predetermined time points. Animals will be euthanized for post mortem examination and tissue collection either throughout the study or at the study end. If a humane endpoint is reached, post mortem examination will be performed as soon as possible.

The following animal procedures will be performed:

#### Test article administration

- Test substances can be administered in the oral or nasal cavity, via aerosol, intratracheal, subcutaneous, in the muscle, in the peritoneum or in the blood stream
- One of several doses will be administered: maximally three times per day if administration can be performed without the use of anesthesia: intramuscular, intraperitoneal, intravenous, subcutaneous, per oral and via aerosol; maximally once per day if anesthesia is required
- Depending on the animal species and the administration route, this can either be done in full consciousness of the animal or under general anaesthesia or sedation, following the advice of the AWB
- All administrations will be performed according to existing SOPs or guidelines for the respective animal species
- The choice of administration route will depend on the test substance

#### Challenge infection

- Inoculation of virus in the nasal cavity or trachea or via aerosol (volume according to animal species, will be agreed upon with the AWB)
- Dependent on the animal species and inoculation route, challenge this can either be done in full consciousness of the animal or under general anaesthesia or sedation, following the advice of the AWB
- Challenge will be done once per experiment or several times for the purpose of rechallenge or cross-protection studies (does post-exposure acquired immunity protect animals from a subsequent challenge with the same virus or a variant of the virus?)

#### Blood samples

- Blood will be extracted according to existing SOPs for the respective animal species
- The extracted blood volume will not exceed 10% of the circulating blood volume in 3 weeks
- Ferrets, hamsters, minks and cats will be sedated for blood sampling, mice and pigs can be blood-sampled without anaesthesia/sedation
- Repeated blood samples are required to evaluate virus load and immunogenicity at different time points of the study
- Blood samples will be taken maximally once daily, on maximally 5 consecutive days, in total maximally 24 times per experiment

#### Nasal, oropharyngeal or rectal swabs (only cats, minks, hamsters, ferrets and pigs)

- Ferrets, minks and cats will be sedated for taking nasal or oropharyngeal swabs, pigs and hamsters can be sampled from the oropharynx without anaesthesia/sedation

- Repeated swabs are required to evaluate virus shedding and virus load at different time points of the study
- Swabs will be taken maximally once daily, on maximally 5 consecutive days, in total maximally 24 times per experiment

#### Nasal or bronchoalveolar lavages (only cats, minks, hamsters, ferrets and pigs)

- Ferrets, minks, cats, hamsters and pigs will be sedated for taking nasal or bronchoalveolar lavages
- Repeated lavages are required to evaluate virus shedding and virus load at different time points of the study
- Lavages will be taken maximally once daily, on maximally 5 consecutive days, in total maximally 24 times per experiment

#### Body weight measurements

- Body weight measurements can be performed between once a day to once a week
- Body weight loss can be indicative of general illness

#### Body temperature measurements

- Rectal body temperature will be measured once or twice daily (cats, minks, ferrets and pigs)
- Body temperature loggers could be placed sc or in the peritoneal cavity under general anaesthesia to collect continuous temperature data
- Body temperature increase correlates with general illness

#### Euthanasia

- Euthanasia will be performed after anaesthetizing animals at predetermined time points, either throughout or at the end of the study, or if a HEP is reached
- Samples from tissues and blood for pathological and virological examination will be taken after euthanasia
- Euthanasia is required to collect tissues for scoring of tissue damage and evaluation of virulence of the applied strain

The frequencies and selection of animal interventions for each animal species and experiment will be discussed and agreed upon with the AWB.

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The expected animal numbers depend on the variation of clinical scores or viral titers after challenge. This will be defined in previous experiments.

The exact number will be calculated based on the observed variation of clinical scores or viral titers in previous experiments, and it will be aimed for reducing the virus titer by the intervention for at least 50% with a power of 0.8 and a p-value of <0.05. The group sizes will be discussed with the AWB.

## **B. The animals**

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

The animal model will be selected in experiments performed under appendix 1, or based on results from other research groups working on COVID-19. One or two models will be chosen from the following five species: mice (inbred or genetically modified (GM)), hamsters, ferrets, minks or pigs to test human interventions. Recent data indicate that the golden Syrian hamster is an easy to handle experimental animal model suitable for SARS CoV-2 [1-3]. Cats will be studied as target

animals of interventions in case an epidemiological role can be attributed to cats, or in case cats develop clinical disease upon SARS-CoV-2 infection. **Animal species that are less suitable based on previous work will not be used for intervention studies for application in humans. No animals will be used that are younger than their weaning age.**

[1] Sin Fun Sia, Li-Meng Yan, Alex W. H. Chin, Kevin Fung, Ka-Tim Choy, Alvina Y. L. Wong, Prathanporn Kaewpreedee, Ranawaka A. P. M. Perera, Leo L. M. Poon, John M. Nicholls, Malik Peiris & Hui-Ling Yen. **Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. Nature (2020).** <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5>.

[2] Jasper Fuk-Woo Chan, Anna Jinxia Zhang, Shuofeng Yuan, Vincent Kwok-Man Poon, Chris Chung-Sing Chan, Andrew Chak-Yiu Lee, Wan-Mui Chan, Zhimeng Fan, Hoi-Wah Tsoi, Lei Wen et al. **Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility.** Clinical Infectious Diseases (2020) <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325>.

[3] Masaki Imai, Kiyoko Iwatsuki-Horimoto, Masato Hatta, and Yoshihiro Kawaoka et al. **Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development.** PNAS (2020) <https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117>

To test 5 different interventions over the course of five years, in three different dosages and a non-treated control group (4 groups), the following animal numbers would be required (5 interventions x 4 = 20 groups):

Mice (*Mus musculus*): 400 (20 mice/group x 20)

Ferrets (*Mustela putorius furo*): 160 (8 ferrets/group x 20)

Pigs (*Sus scrofa domesticus*): 160 (8 pigs/group x 20)

Minks (*Mustela lutreola* or *Neovison vison*): 160 (8 minks/group x 20)

In case 2 different interventions in cats shall be tested, we require 2 interventions x 4 groups = 8 groups:

Cats (*Felis catus*): 64 (8 cats/group x 8)

15 experiments are performed in the course of this year and again in the next year to assess the efficacy of coronavaccines and antiviral compounds (small molecules and human neutralizing antibodies) in the hamster model. Each experiment consists of on average 8 groups of 8 animals per group = 64 x 15 = 960 animals per year:

Hamsters (*Mesocricetus auratus*): 1920 (2 x 15 x 64) during the first 2 years of the license (until 15/03/2022).

At this moment, March 2021, we need to continue with studies in hamsters to manage all our planned and future experiments, especially in response to the new variants. In March/April 2021 only, we have used (or plan to use) over 600 hamsters. These large experiments are performed to support the vaccine development for our clients **10.2.g** In anticipation of the emerging SARS-CoV-2 variants, our partners requested us to perform additional studies to determine the efficacy of their vaccines against these variants.

For this reason, we estimate that 2080 additional hamsters are needed. This number is based on the following calculation: From June 2020 until March 2021, we performed 20 experiments to test interventions against SARS-CoV-2 in hamsters. Not all experiments have equal numbers of animals, however, frequently, 5-8 groups of 8 hamsters/group are appropriate group sizes for an experiment. If ten experiments per year will be performed in the coming four years of this license, we need 40x (5x8=1920) to 40x (8x8=2560) animals. Assuming we perform 20 experiments with 5 groups of 8 hamsters =40 animals and 20 experiments with 8 groups of 8 hamsters =64 animals, 2080 hamsters will be needed additionally.

Animals of both genders can be used for the experiments in compliance with internal animal housing SOPs. High-health animals will either be purchased from a registered breeding company or supplier within the EU, from a commercial breeder (e.g. pigs), or from other research groups (e.g. GM mice). The absence of unrelated respiratory pathogens, as well as the status of coronavirus antibodies (if appropriate) will be determined upon study start.

### C. Re-use

Will the animals be re-used?

### C. Re-use

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

### D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

The principles of 3R will be applied based on the outcome of Appendix 1, and on available data by other research groups. Before testing a treatment in an animal, the compound will first extensively be studied in the laboratory. Only the most promising treatment candidates will be tested in animals. This step, however, cannot be replaced yet. The complex interaction between the virus and the host can only be studied in a living animal, and the same is true if the efficacy and safety of a treatment needs to be assessed. To reduce animal numbers, every experimental setup will be statistically assessed and will be adapted according to available data on animal experiments with SARS-CoV-2. The number of animals will be as low as possible.

To ensure refinement of animal experiments, all animals will be group-housed in pens suitably enriched per animal species, and humane endpoints will be defined and applied accordingly. Only those animal procedures that are minimally required to fully assess a treatment candidate will be performed.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

Adverse effects for the animals can be caused by restraining, manipulating and anaesthetizing them. Test article administration can cause local irritation or discomfort. Challenge infection with SARS-CoV-2 can cause respiratory or general illness.

Only experienced and trained personnel will perform all animal handlings. No adverse effects for the environment are expected due to preventive measures applicable for hBSL3 animal experiments.

## Repetition and Duplication

### E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

The question is not applicable for this project because it is not regulatory required.

## Accommodation and care

### F. Accommodation and care

**F. Accommodation and care**

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

Animals will be housed according to SOPs under hBSL3 conditions. For hamsters, however, we do not have a species-specific SOP in place yet. Until a SOP exists, hamsters will be housed according to legal requirements (EU guideline 2016/63/EU).

**G. Location where the animals procedures are performed**

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

**Classification of discomfort/humane endpoints****H. Pain and pain relief**

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

Mice, hamsters, ferrets, minks and cats will be sedated for challenge infection, and hamsters, ferrets, minks and cats will additionally be sedated for blood, swab or lavage samplings. Pigs will be sedated for lavage sampling. If temperature transponders will be used, they will be placed in the abdomen under general anaesthesia. If necessary, animals will be anaesthetized to apply the test substance intravenously. Administration of challenge virus and test substances, blood sampling and nasal, oropharyngeal or rectal swab collection are considered to induce short, procedure-related stress.

Clinical signs of SARS-CoV-2 infection could vary between being asymptomatic to acute respiratory distress, depending on the experimental setup. Signs of respiratory or general illness is a critical parameter for evaluating the effect of an intervention. Therefore, pain-relieving treatment would impair the readout of the study.

**I. Other aspects compromising the welfare of the animals**

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

Welfare could be impaired due to development of clinical disease, adverse effects due to test article administration, animal handling and anaesthesia.

Explain why these effects may emerge.

Adverse effects can occur due to test article administration or challenge infection with SARS-CoV-2. Genetic modification of mice may cause more pronounced clinical signs after challenge compared to inbred strains.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

All animals will be closely monitored post test article administration or challenge infection. If increased discomfort or illness occurs, the responsible veterinarian will be consulted. If a HEP is reached, this animal will be euthanized.

#### **J. Humane endpoints**

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

All animals will be observed daily according to a clinical scoring scheme that was established during previous experiments. Monitoring frequency will be increased to two (early morning, late afternoon) or three (morning, afternoon, evening) times per 24 hour period during the most critical period, if moderate clinical symptoms occur to prevent severe discomfort. This will be discussed with the AWB before the start of the study.

Even though no severe clinical disease is expected, the humane endpoints will be defined as following:  
An humane endpoint is reached if an animal shows:

- severe respiratory distress, characterized by laboured breathing or open mouth breathing at one observation point
- severe neurological signs at one observation point
- lethargy or anorexia for more than 24h
- more than 15% body weight loss compared to the day of challenge

Animals that have reached a HEP will be euthanized immediately.

Indicate the likely incidence.

The likely incidence of reaching HEPs will depend on the animal model. According to data available for SARS-CoV, it is not expected to exceed 5% in the most sensitive models.

The likelihood that GM mice will reach a HEP depends on details of the genetic modification (target gene, promotor, expression system, transgene or knockout, ...). For SARS-CoV GM mouse models, the incidence ranged from 0-100%. Lethality strongly correlated with the expression of hACE2 in the murine central nervous system.

#### **K. Classification of severity of procedures**

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe ).

Data available for SARS-CoV suggests that the disease severity in studies with SARS-CoV-2 will be moderate. Severe disease is not expected.

Mild discomfort can arise due to animal handlings and administration of substances. If necessary, animals will be sedated or anaesthetised (as stated above).

## End of experiment

### L. Method of killing

---

Will the animals be killed during or after the procedures?

---

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

---

Viral load in airway tissues as well as pathological changes induced by SARS-CoV-2 are important parameters to evaluate the efficacy and safety of an intervention. This information can only be obtained by sacrificing the animals.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

---

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

---

Yes

---





The Netherlands

Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

Geachte leden van de CCD,

Middels deze brief willen wij toestemming vragen om opnieuw aanpassingen door te voeren in de projectdocumenten van vergunning AVD4010020209446 "Novel Coronavirus SARS-Cov-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions", te weten bijlage 3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates en bijlage 3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19.

Wij beseffen ons dat er reeds een reeks aan wijzigingen zijn geweest op deze vergunning. Graag lichten wij dit hieronder verder toe.

Om de herleidbaarheid van alle meldingen en wijzigingen te vergroten hebben wij in de projectdocumenten (projectvoorstel, bijlage 3.4.4.1 en 3.4.4.2 en de NTS) de volgende kleurscheiding aangebracht:

Oorspronkelijke aanvraag AVD4010020209446  
Wijziging 8 mei 2020 AVD4010020209446-1  
Melding 18 mei 2020 AVD4010020209446-2  
Melding 4 juni 2020 AVD4010020209446-3  
Melding 3 juli 2020 AVD4010020209446-4  
Wijziging 23 juli 2020 AVD4010020209446-5  
Huidige wijzigingsverzoek

### **Inleiding**

Anticiperend op de COVID-19 pandemie die eind 2019 is begonnen hebben wij in de oorspronkelijke projectdocumenten van AVD4010020209446 (vergund op 16 maart 2020) getracht een voorspelling te maken van de relevante en benodigde diermodellen, alsmede *in vivo* strategieën om COVID-19 onderzoek uit te voeren. Onze inschattingen in de oorspronkelijke vergunning waren gebaseerd op een grote mate van aannames. Er was op dat moment namelijk nog weinig bekend over de biologie en het gedrag van het virus. Het aantal SARS-CoV-2 gerelateerde onderzoeksvragen voorgelegd door onze opdrachtgevers het afgelopen jaar is ongekend hoog en daarmee staat

10.2.g

DATE  
March 16, 2021

POSTAL ADDRESS  
The Netherlands

INTERNET  
10.2.g

CC NUMBER  
09098104

HANDLED BY  
10.2.e

TELEPHONE  
10.2.e

EMAIL  
10.2.e

10.2.g

onze huidige vergunning onder constante druk. De diverse meldingen en wijzigingen reflecteren dit.

Een niet onbelangrijk detail is dat *in vivo* onderzoek met SARS-CoV-2 in ons instituut uitgevoerd wordt omdat wij verschillende diersoorten onder Humaan Biological Safety Level 3 (hBSL-3) omstandigheden kunnen huisvesten tijdens experimenten. Deze ingeperkte huisvestingsvorm met een hoog veiligheidsniveau is vereist voor het werken met virussen als SARS-CoV-2. In Nederland zijn er slechts 2 andere proefdierfaciliteiten die ook onder hBSL-3 omstandigheden *in vivo* onderzoek voor derden kunnen doen. Ons instituut heeft deze faciliteit om onderzoek naar hoog besmettelijke dierziekten en zoonosen te kunnen uitvoeren en nu dus ook SARS-CoV-2 *in vivo* onderzoek te faciliteren.

Het afgelopen jaar zijn er diverse samenwerkingen ontstaan om dit onderzoek uit te voeren. Momenteel voeren we opdrachten uit voor 10.2.g 10.2.g direct gelinked aan de WHO), en voor 10.2.g als groot farmaceutisch bedrijf, maar ook voor kleinere biotech en farma bedrijven.

#### Huidige opbrengsten

Op basis van de reeds uitgevoerde experimenten onder deze vergunning schrijven wij momenteel de volgende artikelen:

- R0 in cats, submitted to mBio
- Precision-cut lung slices in het hamster model
- experimentele infecties en veldstudies in varkens
- vaccine enhanced diseases in hamsters
- beoordeling van SARS-CoV-2 pathologie in hamsters
- SARS-CoV-2 transmissie in katten

Verder is een van onze medewerkers 10.2.e onderdeel van de WHO-review betreffende 10.2.e

10.2.e

#### Aantallen en Ongerief

Wij hebben tot nu toe de volgende experimenten uitgevoerd:

Naam experiment	Bijlage	Datum	Diersoort	Aantal Dieren	Ongerief
2020.D-0007.001	1	April 2020	Syrische hamsters	40	Matig
2020.D-0007.001	1	April 2020	Varkens	10	Matig
2020.D-0007.002	1	Mei 2020	Muizen	60	Matig
2020.D-0007.003	2	Juni-September 2020	Syrische hamsters	99	Matig
2020.D-0007.004	2	Juli-Augustus 2020	Syrische hamsters	60	Matig

2020.D-0007.005	2	Juli 2020	Syrische hamsters	72	Matig
2020.D-0007.006	2	Juli 2020	Syrische hamsters	22	Matig
2020.D-0007.007	2	Augustus 2020	Syrische hamsters	40	Matig
2020.D-0007.008	2	September- Oktober 2020	Syrische hamsters	64	Matig
2020.D-0007.009	2	Oktober- December 2020	Syrische hamsters	70	Matig
2020.D-0007.010	1	September 2020	Katten	14	Matig
2020.D-0007.011	1	November 2020	Katten	16	Matig
2020.D-0007.012	2	September- November 2020	Syrische hamsters	64	Matig
2020.D-0007.013	2	December 2020 – februari 2021	Syrische hamsters	56	Matig
2020.D-0007.014	2	Oktober- December 2020	Syrische hamsters	60	Matig
2020.D-0007.015	2	November- December 2020	Syrische hamsters	22	Matig
2020.D-0007.016	2	November- December 2020	Syrische hamsters	36	Matig
2020.D-0007.017	2	November- December 2020	Syrische hamsters	64	Matig
2020.D-0007.018	2	Januari- Maart 2021	Syrische hamsters	32	Matig
2020.D-0007.019	2	Januari 2021	Syrische hamsters	64	Matig
2020.D-0007.020	2	Januari- Maart 2021	Syrische hamsters	40	Matig
2020.D-0007.021	2	Februari- Maart 2021	Syrische hamsters	30	Matig
2020.D-0007.022	1	Maart 2021	Syrische hamsters	48	Matig
2020.D-0007.023	2	Maart-April 2021	Syrische hamsters	79	Matig
2020.D-0007.024	2	Maart 2021	Syrische hamsters	30	Matig
2020.D-0007.025	1	Maart 2021	Syrische hamsters	180	Matig
2020.D-0007.026	2	Maart-April 2021	Syrische hamsters	272	Matig

DATE  
March 16, 2021

PAGE  
3 of 6

*Bijlschrift Tabel 1* Er is grote belangstelling voor ons hamstermodel. Het grote aantal hamsterexperimenten komt tot stand door de twee opdrachtgevers 10.2.g. In opdracht van 10.2.g hebben wij twee proeven in katten uitgevoerd. Op dit moment zijn er geen additionele kattenstudies gepland. Wij hebben 10 varkens in bijlage 3.4.4.1 gebruikt (varkens repliceren het virus niet maar kunnen een serologische respons ontwikkelen), en wij verwachten niet dat er meer proeven met varkens zullen worden gedaan. De proef met muizen heeft tot interessante adapties van het SARS-CoV-2 virus geleid, wat misschien in de toekomst nog een vervolgstudie zal krijgen. Op dit moment is er echter geen groot belangstelling voor onderzoek in muizen. Met nertsen en fretten zijn nog geen studies gedaan en staan ook niet in de planning.

#### Nieuwe varianten van het SARS-CoV-2 virus

De mutaties van het SARS-CoV-2 virus en daarmee het ontstaan van nieuwe varianten van het virus maakt dat de vraag naar transmissieproeven en het karakteriseren van deze nieuwe varianten exponentieel groeit. De nieuwe varianten kunnen misschien sneller verspreiden, een mildere of ernstigere ziekte veroorzaken of andere behandelingen nodig hebben dan de oude varianten (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/scientific-brief-emerging-variants.html>). Om dit te bevestigen zijn additionele proeven nodig. Ook is het aannemelijk dat er zogenaamde escapemutanten ontstaan waartegen de vaccins niet werken.

Het 10.2.g vaccin heeft onlangs een Europees advies tot registratie gekregen, maar gezien de varianten hebben zij veel extra experimenten bij ons COVID-19-onderzoeksteam aangevraagd. Een ander vaccin dat wij voor 10.2.g testen is nu in fase III beland en ook hier zullen nog extra studies nodig zijn vanwege de varianten.

Ook is er van uit te gaan dat er nieuwe varianten gaan ontstaan die nu nog onbekend zijn. Het (langzame) vaccineren zou het ontstaan van varianten nog verder kunnen bevorderen, en het einde van de pandemie is niet in zicht. Het aantal nieuwe besmettingen stagneert, en er overleiden wereldwijd dagelijks tussen 5-10k personen aan het SARS-CoV-2 virus.

#### **Gevraagde wijzigingen**

De hamster blijft op dit moment het beste diermodel om onze onderzoeksvragen te beantwoorden (zie ook toelichting AVD4010020209446-5). Dit model is momenteel volop in ontwikkeling, namelijk door het verbeteren van anesthesie, verfijnen en uitbreiden van de biotechnische handelingen en kooiverrijking. Zoals eerder gezegd blijft het ingewikkeld een goede inschatting te maken van het benodigde aantal dieren. In wijziging AVD4010020209446-5 hebben wij de CCD verzocht 1520 extra hamsters toe te voegen aan de vergunning. Op dat moment verwachtten wij dat deze extra dieren voldoende zouden zijn voor experimenten tot de zomer van 2022. Echter, komen wij tot de conclusie dat voor de geplande/verwachte experimenten van o.a. 10.2.g

nogmaals **2680 hamsters** nodig zijn, naast de dieren die reeds vergund zijn.

DATE  
March 16, 2021

Ook willen wij graag een aantal aanpassingen doorvoeren die geen toename geven van het cumulatieve ongerief ingeschat als matig.

PAGE  
5 of 6

#### 3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates

Aantal hamsters verhogen met **600 dieren** t.b.v. het opzetten/verfijnen van modellen voor de varianten die gekarakteriseerd moeten worden en transmissieproeven.

De aanpassingen in deze bijlage betreffen allemaal modelverfijningen om de set-up van de experimenten te optimaliseren:

- Toedieningsroutes verfijnen zonder challenge infectie: Intranasaal, intratracheaal, aerosol, oraal, Subcutaan, Intramusculair, Intraperatoriaal en intraveneus.
- Optimaliseren/vergelijken van anesthesie protocollen bij hamsters
- Challengeschema's voorbereiden naar meerdere challenges per dier (Het betreft rechallenge, maar ook herhaaldelijk blootstellen aan verschillende varianten, via directe inoculatie en/of contact transmissie)
- Afnemen van keelwabs bij hamsters, ten behoeve van het aantonen van virus in de bovenste luchtwegen. Een hamster zal dagelijks voor een periode van maximaal 7 aaneengesloten dagen gesampled worden.

#### 3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19

Aantal hamsters verhogen met **2080 dieren** om de interventies tegen de nieuwe varianten te testen, en om nieuwe behandelingsmethoden te testen.

- Toevoegen intratracheale toediening teststoffen (max. 1/dag)
- Challengeschema's voorbereiden naar meerdere challenges per dier (Het betreft rechallenge, maar ook herhaaldelijk blootstellen aan verschillende varianten, via directe inoculatie en/of contact transmissie)
- Uitbreiden toediening teststoffen tot maximaal 3x per dag i.p.v. 2x per dag.
  - a. Het betreft routes die zonder sedatie van de dieren uitgevoerd kunnen worden, namelijk intramusculaire, Intraperatoriale, intraveneuse, Subcutane, per orale en aerosole toediening.
  - b. Toedieningsroutes die sedatie nodig hebben zoals intranasaal of intratracheaal worden maximaal 1x per dag uitgevoerd

#### **Onderbouwing wijzigingen:**

Het doel is om met de extra dieren de volgende onderzoeksvragen te beantwoorden:

-Werkt een bepaalde behandeling lokaal in de luchtwegen? Is er een verschil tussen de werking in de upper and lower respiratory tract?

- Zijn hamsters na infectie met een virusvariant daarna beschermt tegen infectie met een ander variant? Zijn de antistoffen kruisreactief?
- Sommige teststoffen hebben een korte werkingsduur en is het nodig om ze herhaaldelijk toe te dienen (bijvoorbeeld neusspray). Werken deze teststoffen als zij 3x/dag worden toegediend?

Het aantal dieren per experiment is moeilijk in te schatten en hangt af van de vraagstelling en de verwachte resultaten af.

Op dit moment staan er nog ongeveer 10 experimenten met hamsters in de planning tot einde Q3 2021. De doelen van deze studies zijn variërend, van het verfijnen van het hamstermodel, het karakteriseren van virusvarianten, tot verdere testen van vaccins om meer zekerheid te krijgen over de beschermende werking tot het testen van nieuwe antivirale middelen.

### Samenvatting

Naam proef	Diersoort/Stam	Aantal dieren	Ongerief
<b>3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates</b>			
	Muizen	300	100% matig
	Syrische goudhamster	220 <b>+ 600</b>	100% matig
	Fretten	88	100% matig
	Varkens	88	100% matig
	Katten	44	100% matig
	Nertsen	88	100% matig
<b>3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19</b>			
	Muizen	400	100% matig
	Syrische goudhamster	400 + 1520 <b>+ 2080</b>	100% matig
	Fretten	160	100% matig
	Varkens	160	100% matig
	Katten	64	100% matig
	Nertsen	160	100% matig

Wij hopen dat jullie kunnen instemmen met de hierboven voorgestelde aanpassingen.

Met vriendelijke groeten,

10.2.e

10.2.e



CENTRALE COMMISSIE DIERPROEVEN  
BEZUIDENHOUTSEWEG 73 GANG D-6  
2594 AC DEN HAAG  
Nederland

**Inkooporder/Purchase order**

Pagina 1 van 1

Datum/Date 17-3-2021  
Ordernr./Purchase order No. \* **WUR1433514**  
Klantnr./Customer No.  
Raamovereenkomst/Framework contract  
BTW-nummer NL811383696B08

Contact  
Telefoon/Telephone  
E-mail  
KVK  
VAT number NL806511618B01

**10.2.e**

- \* Inkoopordernummer op pakbon, indien van toepassing, en factuur vermelden. Facturen zonder inkoopordernummer worden niet in behandeling genomen.
- \* Do quote the purchase order number on packing list, if applicable, and invoice. Invoices lacking purchase order number will not be considered.
- \* Facturatie: Wageningen University & Research accepteert uitsluitend digitale facturen in PDF formaat.
- \* Invoicing: Wageningen University & Research will only accept digital invoices in PDF format.

Artikelnr/ Stock no	Omschrijving product / dienst/ Product / service description	Eenheid/ Unit	Aantal/ Amount	Prijs per eenheid/ Price per unit	Totaal/ Total price	Leverdatum/ Delivery date
x	wijziging AVD4010020209446-6 Novel Coronavirus SARS-CoV-2 Establishing a COVID-19 model and testing of interventions	Stuk	1	889,00 EUR	889,00 EUR	

<b>Totaalbedrag excl. BTW/Total amount due excl. VAT</b>	<b>889,00 EUR</b>
--	-------------------

Afleveradres/Delivery address	Factuuradres/Invoice address
10.2.g t.a.v. 10.2.e <b>10.2.g</b> Nederland	10.2.g T.a.v. crediteurenadministratie <b>10.2.g</b> Nederland As PDF-file to: 10.2.g

Voor deze inkooporder gelden de volgende opmerkingen./The following remarks apply to this order.

Met vriendel jke groet,/Kind regards,

**10.2.e**

Op de dienst zijn van toepassing: de Algemene Rijksvoorwaarden voor Diensten (ARVODI) 2018. Klik [hier](#) voor de ARVODI 2018.

Op het product zijn van toepassing: de Algemene Rijksvoorwaarden voor Producten (ARIV) 2018. Klik [hier](#) voor de ARIV 2018.

Op het werk zijn van toepassing: de Uniforme Administratieve Voorwaarden voor de uitvoering van werken en van technische installatiewerken 2012 (UAV 2012), behoudens indien opdrachtgever schriftelijk andere algemene voorwaarden of een rangregeling van toepassing verklaart, bijvoorbeeld in een offerte-uitvraag, aanbesteding, overeenkomst e d..

Opdrachtgever/koper wijst (leverings- en betalings-) voorwaarden van opdrachtnemer, zijn onderaannemers, leveranciers, fabrikanten e d. wat betreft deze opdracht en nadere opdrachten die daar uit voortvloeien, uitdrukkelijk van de hand.

General Government Terms and Conditions for Public Service Contracts (ARVODI) 2018 are applicable to purchases of services. Click [here](#) for the ARVODI 2018.

The General Government Purchasing Conditions (ARIV) 2018 are applicable to purchases of products. Click [here](#) for the ARIV 2018.

Format  
Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven.
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Nieuw coronavirus SARS-CoV-2: Opzetten van een diermodel voor het testen van vaccins en medicijnen op werkzaamheid en veiligheid
1.2	Looptijd van het project	16-3-2020-15-3-2025
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	Nieuw coronavirus, vaccins, infectie, diermodel, medicijnen

## 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 Projectbeschrijving



<p>3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)</p>	<p>Sinds einde december 2019 is er een uitbraak van een nieuw coronavirus (SARS-CoV-2) in mensen, en het virus veroorzaakt de ziekte COVID-19. In 2003/2004 was er een uitbraak van een vergelijkbaar coronavirus (SARS-coronavirus) en in 2012 het MERS coronavirus. Beide coronavirussen (SARS en MERS) komen naar alle waarschijnlijkheid oorspronkelijk van vleermuizen en zijn door een tussentijdse drager van het virus op de mens overgedragen. De virussen hebben zich vervolgens van mens tot mens kunnen verspreiden, en hebben hoge sterftecijfers tot gevolg gehad (SARS: 11% en MERS: 34%). Ook het nieuwe coronavirus komt oorspronkelijk mogelijk van vleermuizen. Het nieuwe coronavirus lijkt op het SARS virus, echter verspreidt het nieuwe virus zich sneller dan SARS. Het nieuwe coronavirus lijkt minder dodelijk dan het SARS of het MERS virus (rondt 2% van geïnfecteerden sterft), maar de bestrijding wordt bemoeilijkt doordat het virus ook door mensen kan worden overdragen die geen symptomen hebben.</p> <p>Er zijn inmiddels enkele goedgekeurde vaccins op de markt die helpen om de pandemie te bestrijden. Het is duidelijk geworden dat er ook een opmars van nieuwe SARS-CoV-2 varianten is die misschien sneller verspreiden, een mildere of ernstigere ziekte veroorzaken of andere behandelingen nodig hebben dan de oude varianten. De huidige vaccins werken wellicht niet (goed genoeg) voor deze nieuwe varianten. Om dit te bestuderen is meer onderzoek nodig.</p> <p>Het doel van dit project is het ontwikkelen van een diermodel voor COVID-19. Veel dieren hebben dezelfde organen die dezelfde functies op dezelfde manier uitvoeren zoals in mensen. Met een diermodel kan worden gekeken welk schade het virus in het dier veroorzaakt, om vervolgens vaccins of medicijnen tegen de ziekte te testen op werkzaamheid en veiligheid.</p>
<p>3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?</p>	<p>Het project zal belangrijke kennis leveren over COVID-19 door de gevolgen van een besmetting met het nieuwe coronavirus in een dier aan te tonen. Hiervoor moet eerst het beste diermodel worden gekozen. Vervolgens is het essentieel middelen te testen in diermodellen om de werkzaamheid en de veiligheid te kunnen inschatten voordat het middel in dieren of mensen wordt gebruikt. Deze middelen zijn noodzakelijk om besmette dieren of mensen te behandelen of om te voorkomen dat meer dieren of mensen besmet raken met het nieuwe coronavirus.</p> <p>Daarnaast zijn aanvullende studies nodig (zoals bijvoorbeeld zogenaamde transmissieproeven) om te begrijpen of het huidige virus en de nieuwe varianten verschillend snel verspreiden en/of verschillende verschijnselen veroorzaken.</p>
<p>3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?</p>	<p>Muizen: 700  Hamsters: 220 + 400 + 1520 + 2680 = 4820  Fretten: 248  Varkens: 248  Nertsen: 248  Katten: 108</p>

3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De dieren kunnen ziek worden door infectie met het nieuwe coronavirus. Op basis van kennis over andere coronavirussen is te verwachten dat de meeste dieren geen tot milde ademhalingsproblemen of niet specifieke ziekteverschijnselen (minder activiteit, minder eetlust, etc.) zullen vertonen. Negatieve gevolgen voor het welzijn ontstaan daarnaast door het hanteren van de dieren voor de bemonsteringen (bloed, swabs en luchtweg spoelingen) en de behandelingen (injecties van middelen of virussen).
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	De mate van ongerief wordt ingeschat op matig. Ondanks dat het een nieuw virus is en de gevolgen voor een dier niet te voorspellen zijn, wordt, op basis van ervaringen met het SARS virus, ervan uit gegaan dat de dieren niet ernstig ziek zullen worden.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden gedood om vervolgens de organen te onderzoeken.

## 4 Drie V's

4.1	<b>Vervanging</b> Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Proefdieren zijn nodig voor dit project, omdat de complexe samenhang tussen het virus en de drager van de infectie alleen in een levend model onderzocht kan worden. Helaas zijn er geen dierproefvrije alternatieven voor dit onderzoek beschikbaar. Alleen de kansrijkste vaccins of medicijnen, zoals voorafgaand onderzocht is in het laboratorium, zullen in het dier worden getest.
4.2	<b>Vermindering</b> Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Het aantal dieren is ingeschat onder voorwaarde dat deze diersoort het beste model is. Omdat na de eerste experimenten alleen de een of twee meest geschikte modellen voor verder onderzoek gebruikt gaan worden, zullen geen verdere studies in minder geschikte diermodellen worden gedaan. Experimenten in katten worden gedaan om te bepalen of zij van het virus ziek kunnen worden en of zij het virus kunnen verspreiden. Indien dit het geval is kunnen er ook vaccins voor katten in katten worden getest. De vaccins of medicijnen worden zorgvuldig geselecteerd in het laboratorium om alleen de meest veelbelovende middelen in dieren te testen. Het aantal benodigde dieren zal statistisch doorgerekend worden per experiment.

- 4.3 **Verfijning**  
Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diemodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.
- Er zijn zes verschillende diersoorten genoemd, waarvan een of twee meest geschikte modellen worden gekozen om medicijnen voor mensen te testen. De keuze van deze zes diersoorten (muis, hamster, fret, varken, nerts en kat) is gebaseerd op berichten van zieke dieren, eerder onderzoek naar ziekteverschijnselen bij dieren en op vergelijkbare eigenschappen van mens en dier. Recent onderzoek laat zien dat hamsters na besmetting ziek worden en symptomen krijgen die vergelijkbaar zijn met een gematigde vorm van Covid-19 bij de mens. Het maakt de hamster geschikt voor het testen van vaccins en antivirale medicijnen.  
Doordat we nu meer studies hebben gedaan kunnen we de vervolgonderzoeken met hamsters verder verfijnen en verbeteren door bijvoorbeeld anesthesie protocollen te optimaliseren.
- 4.4 Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.
- Alle dieren worden dagelijks onderzocht om de gezondheidstoestand te bepalen. De dieren worden in groepen gehuisvest met kooiverrijking. Als een dier onverwacht ernstig ziek wordt, worden vooraf gedefinieerde humane eindpunten toegepast en dit dier geëuthanaseerd. Na elk experiment wordt geëvalueerd of er nieuwe mogelijkheden zijn om het dierenwelzijn verder te verbeteren.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum \_\_\_\_\_

Beoordeling achteraf \_\_\_\_\_

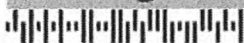


> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Stichting Wageningen Research

Dr. 10.2.e

10.2.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

AVD4010020209446-6

**Bijlagen**

2

Datum 17 maart 2021

Betreft Ontvangstbevestiging Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte Dr. 10.2.e

Wij hebben op 17 maart 2021 een wijziging ontvangen op uw projectvergunning dierproeven. Het gaat om uw project "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" met aanvraagnummer AVD4010020209446, waarvoor op een vergunning is afgegeven. Uw wijziging is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD4010020209446-6.

**Wacht met de uitvoering van uw wijziging**

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw wijziging is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw wijziging. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. Als u goedkeuring krijgt op uw wijziging, kunt u daarna de wijzigingen doorvoeren in uw project.

**Factuur**

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw wijziging in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan kan uw wijziging buiten behandeling worden gesteld. Dit betekent dat uw wijziging niet beoordeeld wordt en u de wijzigingen niet mag doorvoeren in uw project.

**Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

**Datum:**

17 maart 2021

**Aanvraagnummer:**

AVD4010020209446-6

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

**Bijlagen:**

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



**Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 40100  
Naam instelling of organisatie: Stichting Wageningen Research  
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: Mevr. Dr. 10.2.e  
Straat en huisnummer: 10.2.g  
Postbus:  
Postcode en plaats:

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: Mevr. 10.2.e  
Functie: 10.2.e  
Afdeling:  
Telefoonnummer:  
E-mailadres:

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: Mevr. dr. 10.2.e  
Functie: 10.2.e  
Afdeling:  
Telefoonnummer:  
E-mailadres:

Gegevens verantwoordelijke uitvoering proces

Naam: Dhr. Dr. 10.2.e  
Functie: 10.2.e  
Afdeling:  
Telefoonnummer:  
E-mailadres:

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag  
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn  
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Het vergunde  
aanvraagnummer:

AVD4010020209446

**Over uw project**

Geplande startdatum:

16 maart 2020

Geplande einddatum:

15 maart 2025

Titel project:

Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions

Titel niet-technische  
samenvatting:

Nieuw coronavirus SARS-Cov-2: Opzetten van een diermodel voor het testen van vaccins en medicijnen op werkzaamheid en veiligheid.

Naam DEC:

DEC Wageningen UR

E-mailadres DEC:

10.2.g

**Betaalgegevens**

De leges bedragen:

€ 889,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:

- Projectvoorstel  
 Beschrijving Dierproeven  
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- Brief

**Ondertekening**

Naam:

Dr. 10.2.e

Functie:

Gemandateerd vergunninghouder

Plaats:

Wageningen

Datum:

16 maart 2021





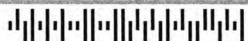
Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g

T.a.v. Crediteurenadministratie

10.2.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  
AVD4010020209446-6

**Bijlagen**

2

Datum 17 maart 2021

Betreft Factuur wijziging projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 17 maart 2021

Vervaldatum: 16 april 2021

Factuurnummer: 2094466

Ordernummer: WUR1433514

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft wijziging AVD4010020209446-6	€ 889,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven te 's Gravenhage.

**Van:** [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)  
**Aan:** 10.2.g  
**Onderwerp:** Verzoek om advies over projectvergunningsaanvraag AVD4010020209446-6  
**Datum:** woensdag 17 maart 2021 13:26:48  
**Bijlagen:** [AVD401002020\\_9446\\_6\\_DAP\\_ontsmet.pdf](#)  
[AVD401002020\\_9446\\_6\\_PP\\_ontsmet.pdf](#)  
[AVD401002020\\_9446\\_6\\_PV\\_ontsmet\\_tek.pdf](#)  
[AVD401002020\\_9446\\_6\\_NIS\\_ontsmet.pdf](#)

8

---

Geachte leden van DEC Wageningen UR

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van wijziging van een vergunning advies te geven over het project met als titel: "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" en aanvraagnummer: AVD4010020209446-6.

Uw commissie wordt verzocht op grond van artikel 10.a.2 van de Wet op de dierproeven de aanvraag te beoordelen en een ethische toetsing uit te voeren waarbij wordt afgewogen of de doelstelling van het project, de verwachte voordelen voor mens, dier of milieu en de haalbaarheid van de doelstellingen, het gebruik van dieren en de schade die zal worden toegebracht aan de dieren in de vorm van lijden, pijn en angst kan rechtvaardigen.

Graag ontvangen wij van u bericht dat deze e-mail goed is ontvangen en wanneer u dit advies in de vergadering gaat bespreken.

Voor het in te dienen advies dient de DEC gebruik te maken van de meest actuele versie van het op de website van de CCD gepubliceerde Format DEC-advies en de toelichting daarbij. U dient deze aanvraag vertrouwelijk te behandelen. Voor de communicatie met de CCD dient u gebruik te maken van FileSecure.

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 17-03-2021, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommegaande per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager wordt de termijn opgeschort en geeft u in uw advies aan wanneer dit is geweest. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt. Mocht u verwachten door een andere reden dan opschorting uw advies later dan 20 werkdagen na 17-03-2021 bij de CCD in te dienen, dan verzoeken wij u dit direct aan de CCD te melden.

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,  
Centrale Commissie Dierproeven

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

.....  
T: 0900 2800028  
E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Aan:** 10.2.g  
**Cc:** 10.2.e  
**Onderwerp:** Verzoek om advies AVD4010020209446-6 verstuurd aan DEC  
**Datum:** woensdag 17 maart 2021 13:29:08

9

---

Geachte meneer, mevrouw,

Op 17-03-2021 hebben wij uw wijziging op een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" met aanvraagnummer AVD4010020209446-6.

Uw wijziging is naar DEC Wageningen UR gestuurd. Zij zal hierover advies aan de CCD uitbrengen. Als de DEC vragen heeft, zal zij contact met u opnemen.

Mocht u vragen hebben, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag  
.....

T: 0900 2800028  
E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Van:** 10.2.e amens Info-zbo  
**Aan:** 10.2.g  
**Cc:**  
**Onderwerp:** Ontvangstbevestiging en factuur AVD4010020209446-6  
**Datum:** woensdag 17 maart 2021 13:34:00  
**Bijlagen:** OntvangstBevestiging AVD4010020209446-6.pdf

---

Geachte Dr. 10.2.e

In de bijlage treft u de ontvangstbevestiging van uw **wijziging** AVD4010020209446-6 aan, waarnaar wij gemakshalve naar verwijzen.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

**Centrale Commissie Dierproeven** [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)  
**Nationaal Comité advies dierproevenbeleid** [www.ncadierproevenbeleid.nl](http://www.ncadierproevenbeleid.nl)

.....  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

**T: 0800-7890789**

**E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)**

**Van:** DEC WUR  
**Aan:** "Info-zbo (info@zbo-ccd.nl)"  
**Onderwerp:** DEC-advies AVD4010020209446-6  
**Datum:** woensdag 24 maart 2021 08:39:07  
**Bijlagen:** DEC advies BRIEF AVD9446-6.pdf  
Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19-DAP.pdf  
Toelichting wijziging 16MRT21 v2.docx

---

Geachte CCD,

Hierbij stuur ik het DEC-advies en de aangepaste documenten van aanvraag AVD4010020209446-6. De niet meegestuurde documenten zijn onveranderd gebleven.

Met vriendelijke groeten,

10.2.e

secretaris DEC-WUR

10.2.e

bezoekadres: 10.2.g

e-mail: 10.2.g

intranet: <https://intranet.wur.nl/umbraco/nl/weten-regelen/onderzoek-onderwijsupport/dierproeven/>

aanwezig: ma+di:8-16:30, wo+do: 8-14:30

Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van 10.2.g is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen, wordt u verzocht het te vernietigen en ons te i

Postbus 65 | 8200 AB Lelystad  
 Centrale Commissie Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

Wageningen  
 University & Research

Dierexperimenten  
 Commissie WUR

Geachte CCD,

Onderstaand het advies dat de DEC-WUR geeft aangaande het project "Novel Coronavirus SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions". De rode aanvullingen hebben betrekking op de nu aangevraagde wijziging.

#### A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: **AVD4010020209664-6**
2. Titel van het project: Novel Coronavirus SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions
3. Titel van de NTS: Nieuw coronavirus SARS-CoV-2: Opzetten van een diermodel voor het testen van vaccins en medicijnen op werkzaamheid en veiligheid
4. Type aanvraag: wijziging projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:  
 DEC-WUR  
 10.2.e  
 Secretaris: 10.2.g
6. Adviestraject  
 Ontvangen door DEC: 15-07-2020 (opgemerkt wordt dat de IvD de DEC toen i.v.m. de spoed van de wijziging de op de hoogte heeft gesteld van de komst van deze aanvraag. De CCD heeft het project 23-07-2020 ontvangen en direct doorgestuurd naar de DEC).  
 Aanvraag compleet: 15-07-2020  
 In vergadering besproken 20-07-2020  
 Termijnonderbreking(en) : n.v.t.  
 Besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen: n.v.t.  
 Aanpassing aanvraag: n.v.t.  
 Advies aan CCD: zie datum brief
7. De Instantie voor Dierenwelzijn heeft een positief oordeel over de kwaliteit van de aanvraag uitgebracht en de DEC heeft dit in haar overweging betrokken.
8. Eventueel horen van aanvrager  
 N.v.t.

DATUM  
 23 maart 2021

ONDERWERP  
 aanvraag wijziging  
 projectvergunning  
 AVD4010020209446-6

ONS KENMERK  
 AVD4010020209446-6

POSTADRES  
 10.2.g

BEZOEKADRES  
 10.2.g

INTERNET  
 www.wur.nl

KvK NUMMER  
 09098104

CONTACTPERSOON  
 10.2.e

TELEFOON  
 10.2.e

E-MAIL  
 10.2.g

9. Correspondentie met de aanvrager

Voor de gestelde vragen en de antwoorden daarop van het advies voor de oorspronkelijke vergunning verwijst de DEC naar het advies van 09-03-2020.

Tevens verwijst de DEC naar het advies van wijzigingen AVD4010020209446-1 van 18-05-2020 en AVD4010020209446-5 van 27-07-2020.

De onderzoeker is gevraagd of de mogelijkheid bestaat dat er dan minder andere dieren gebruikt zullen worden? Er is geantwoord dat inderdaad is overwogen om deze dieren in plaats van andere dieren op te nemen in de aanvraag, maar er is op dit moment nog zoveel dynamiek in het werkveld dat niet is te voorzien hoeveel andere dieren men in de toekomst nog nodig heeft voor het onderzoek. Er is wel een geschikte ggo-muis maar hier is een groot tekort aan. Op dit moment is de hamster het meest geschikt als modeldier voor vaccinontwikkeling. Vanwege de lastige voorspelbaarheid geven de onderzoekers aan nu in eerste instantie het aantal dieren dat men voor 2 jaar wil gebruiken aan te vragen. Daarna is er waarschijnlijk meer overzicht en kan men indien nodig een nieuwe wijziging aanvragen.

De onderzoeker is gevraagd de wijziging te anonimiseren en persoonsnamen en namen van opdrachtgevers te verwijderen. De onderzoeker heeft aan dit verzoek voldaan.

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

N.v.t.

**B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. De DEC heeft vastgesteld dat het project vergunningplichtig is (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag is een wijziging op een bestaande vergunning. De DEC-beoordeling (C) en het DEC-advies (D) zijn onveranderd gebleven t.o.v. de oorspronkelijke adviezen d.d. 09-03-2020, 18-05-2020 en 27-07-2020, met uitzondering van de rode tekst die betrekking heeft op de nu aangevraagde wijziging.
3. De DEC is competent om over de aanvraag te adviseren vanuit het oogpunt van onafhankelijkheid, onpartijdigheid en beschikbare expertises.
4. Eén van de DEC-leden is de aanvrager van deze wijziging en is, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.

**C. Beoordeling (inhoud)**

1. De DEC heeft vastgesteld dat de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. Bijlage 1 bestaat uit het opzetten van de meest geschikte diermodellen voor humaan en veterinaire gebruik waarna in bijlage 2 interventies tegen SARS-CoV-2 getest kunnen worden in de voor dat doel meest geschikte model(len).
2. De DEC heeft geen tegenstrijdige wetgeving, gericht op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort, signaleerd die het uitvoeren van de proef in de weg kan staan.
3. De DEC heeft vastgesteld dat de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie in overeenstemming is met de hoofddoelstelling.

*Belangen en waarden*

4. Het directe doel van de aanvraag is het ontwikkelen van diermodellen voor het nieuwe coronavirus SARS-CoV-2 en het testen van interventies zoals vaccins en medicijnen tegen dit virus in het betreffende model. Het uiteindelijke doel van de aanvraag is een bijdrage leveren aan de bestrijding en behandeling van deze voor de mens en dier nieuwe ziekteverwekker.

- De DEC heeft vastgesteld dat er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen en dat het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld.
5. De belanghebbenden en hun morele waarden in het project zijn:
    - Proefdieren: zij ervaren maximaal matig ongerief door de handelingen en de ziekteverschijnselen. De DEC schat dit in als een reëel belang van grote morele waarde.
    - De mens heeft een gezondheidsbelang van grote morele waarde. Het COVID-19 virus is nieuw voor de mens. Het verspreidt zich snel wereldwijd en de mortaliteit wordt op 2% geschat. De DEC schat het gezondheidsbelang voor de mens in als groot.
    - Doeldieren hebben een gezondheidsbelang van reële morele waarde. Er zijn een klein aantal infecties bij dieren gemeld. De DEC waardeert dit als een reëel belang.
    - De maatschappij heeft een economisch belang. Bedrijven sluiten tijdelijk en de economie staat onder druk. De DEC schat dit in als een groot belang met reële morele waarde.
    - De onderzoekers: hebben een wetenschappelijk en economisch belang. De DEC schat het wetenschappelijk belang in als een belang van grote morele waarde gezien het feit dat dit een voor de mens volkomen nieuw virus is. Het economisch belang voor de onderzoekers waardeert de DEC als een reëel belang van beperkte morele waarde.
    - Farmaceutische bedrijven: hebben een groot maatschappelijk en potentieel economisch belang bij het ontwikkelen van interventies tegen COVID-19. De DEC waardeert dit als grote waarde voor het maatschappelijk belang, maar voor het economische belang van beperkte morele waarde.
  6. Voor zover de DEC dat kan inschatten is er geen aanleiding om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken. Experimenten worden in High Containment (hBSLIII) uitgevoerd.

#### *Proefopzet en haalbaarheid*

7. De DEC heeft vastgesteld dat de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven, afgaande op het geschreven voorstel en het oordeel van de IvD, voldoende gewaarborgd zijn. Het geeft vertrouwen te lezen hoe zeer de onderzoekers ingebed zijn in de internationale onderzoekswereld op dit gebied. Afstemming met de IvD en het wetenschappelijke veld lijken gewaarborgd. Dat in Nederland de deze instelling beschikt over de vereiste High Containment geeft ook een morele plicht om op verantwoorde manier bij te dragen aan dit mondiale probleem door hier adequate dierproeven mogelijk te maken.
8. De DEC heeft vastgesteld dat het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstelling. De gekozen strategie en experimentele aanpak kan in de ogen van de DEC leiden tot het behalen van de doelstellingen binnen het kader van het project. Het nu te onderzoeken virus heeft grote verwantschap aan SARS en het is aannemelijk dat een analoge opzet tot resultaat kan leiden.

#### *Welzijn dieren*

9. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:
  - voor wat betreft de varkens en nertsen: niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)De keuze hiervoor is realistisch ingeschat en geclassificeerd.
10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen om bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, ook binnen de beperking van een High Containment omgeving.
11. De DEC stelt vast dat een cumulatieve inschatting van ongerief als "matig" realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Ongerief in de experimenten zal bestaan uit: ziekteverschijnselen van COVID-19 waaronder ademhalingsproblemen, biotechnische handelingen (al dan niet onder sedatie) ter verkrijging van monstermateriaal zoals bloedafname, longspoelingen en swabben, plaatsen van temperatuurtransponders onder

DATUM  
23 maart 2021

ONS KENMERK  
AVD4010020209446-6

PAGINA  
3 van 6



narcose, toediening van virus, potentiële vaccins en teststoffen, stress van hanteren, euthanasie. Niet alle voorgenoemde bronnen van ongerief zullen voor alle dieren van toepassing zijn. Omdat het een nieuw ziektemodel betreft is het van belang dat humane eindpunten en momenten van observaties zorgvuldig worden afgestemd met de IvD om ernstig ongerief te voorkomen.

12. Naast ongerief is er geen sprake van aantasting van integriteit van het dier anders dan als gevolg van de proefbehandelingen. Aantasting van integriteit bestaat uit biotechnische handelingen en euthanasie.
13. De DEC heeft vastgesteld dat, na toelichting door de onderzoeker, de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en dat goed in ingeschat welk percentage van de dieren een humaan eindpunt zal bereiken. Zie hiervoor de laatste bullet onder A.9.

### 3 V's

14. De DEC heeft vastgesteld dat de onderzoeker voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen alternatieven zijn om de doelstelling van het project te realiseren. Er zijn geen dierproefvrije modellen die de complexe host-virus-interacties goed kunnen nabootsen.
15. De DEC heeft vastgesteld dat de onderzoeker voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er optimaal tegemoet gekomen wordt aan de vereiste van vermindering van dierproeven. Ieder experiment zal vooraf statistisch onderbouwd en getoetst worden.
16. De DEC heeft vastgesteld dat het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven. De dieren worden gehuisvest en verzorgd volgens de richtlijn en er worden HEP's toegepast. De DEC ziet geen extra mogelijkheden voor verfijning, anders dan die de onderzoeker nu toepast. Humane eindpunten en observatiemomenten moeten met de IvD worden afgestemd om ernstig ongerief te voorkomen.
17. Er is geen sprake van wettelijk verplicht onderzoek; de vraag over duplicatie is niet van toepassing.

### *Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef*

18. De DEC gaat er van uit dat dieren van beide geslachten in gelijke mate worden ingezet in de proeven. De onderzoeker geeft in de aanvraag niet aan dat er dieren van 1 geslacht ingezet zouden moeten worden.
19. De dieren worden gedood in het kader van het project omdat men longmateriaal nodig heeft voor (histo)pathologisch onderzoek. De dieren worden gedood volgens een passende methode die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU.
20. Herplaatsing of hergebruik van landbouwhuisdieren is daarom niet van toepassing.

### NTS

21. De NTS is naar het oordeel van de DEC een evenwichtige weergave van het project, begrijpelijk geformuleerd en voldoet aan de vereisten in de herziene Wod Art. 10.a.1.7.

### **D. Ethische afweging**

1. De centrale morele vraag van het project is: weegt het vergaren van kennis omtrent SARS-CoV-19 door het opzetten van diermodellen en het daarin testen van interventies hiertegen op tegen het maximaal matige ongerief dat maximaal 700 muizen, 4820 hamsters, 248 fretten, 248 varkens, 248 nertsen en 108 katten zullen ondervinden?
2. De DEC constateert dat het hier gaat om een aanvraag met voldoende samenhang. De DEC heeft in haar afweging meegewogen dat, wanneer het project zijn uiteindelijke doel haalt, dit een bijdrage kan leveren aan het voorkomen en bestrijden van ziekte, veroorzaakt door het nieuwe COVID-19 virus, in mens en dier.  
De DEC is van mening dat het van groot belang is dat er zo snel mogelijk een goed model worden gedefinieerd voor het onderzoek naar het

voorkomen en behandelen van ziekte veroorzaakt door het COVID-19 virus, zowel voor het testen van antivirale middelen, het maken van vaccins als voor het bestuderen van de pathogenese. Er zijn al veel antivirale middelen beschikbaar (zoals o.a. protease-inhibitoren, anti-HIV- middelen, Tamiflu) die op korte termijn getest zouden kunnen worden voor toepassing bij door COVID-19 veroorzaakte infecties.

Voor de nu voorliggende wijziging heeft de DEC geconstateerd dat de extra aangevraagde hamsters passen in de doelstelling van het project. Het project over onderzoek en bestrijding van COVID-19 evolueert mee met het verloop van de huidige pandemie. Het risico van virusvarianten met (enigszins) andere eigenschappen qua besmettelijkheid en pathogeen vermogen vraagt om aangepaste dierexperimentele modellen. De wereldwijde bedreiging van de volksgezondheid is onveranderd al zijn in de rijkere gebieden bruikbare vaccins beschikbaar gekomen. Dat katten en nertsen door mensen besmet kunnen worden (en vice versa mogelijk ook) geeft aanleiding tot verder onderzoek. De resultaten tot nu toe tonen dat het hamster diermodel zeer bruikbaar is, maar nog verder kan worden verfijnd en geoptimaliseerd.

De argumenten om meer dieren te mogen gebruiken en de extra gevraagde dieren zijn helder omschreven en goed navolgbaar in de losse toelichting die de onderzoeker heeft bijgevoegd in schrijven naar de CCD. Hoe men tot de gewenste extra aantallen hamsters komt is duidelijk omschreven in het projectplan.

Er staan nog 10 experimenten gepland tot kwartaal 3 van 2021. Dit betreft excl. deze aanvraag. De berekening van de extra aantallen is gebaseerd op 5 varianten bij het aantal van 600 in appendix 1 en 40 extra experimenten met in totaal 2080 dieren bij appendix 2 voor de komende 4 jaren van deze projectaanvraag. De DEC gaat ervan uit, dat dit de laatste aanvraag voor aanvullende dieren is binnen dit project en is van mening dat nogmaals een wijziging dan een gedegen onderbouwing in de vorm resultaatbevindingen zal moeten bevatten.

De belanghebbenden, hun morele waarden en de weging ervan is vermeld onder C.5.

Tot slot zijn de waarden van de proefdieren in het geding. Zij ervaren maximaal matig ongerief als gevolg van de handelingen binnen het project. De integriteit van de proefdieren in dit project wordt niet sterker aangetast dan gebruikelijk bij het uitvoeren van een dierproef.

3. Op basis van bovenstaande overwegingen is de DEC van mening dat het ethisch verantwoord is om onderzoek te doen naar het ontwikkelen van COVID-19 diermodellen en het testen van interventies met maximaal matig ongerief voor maximaal 700 muizen, 4820 hamsters, 248 fretten 248 varkens, 248 nertsen en 108 katten. De DEC ziet in dit stadium geen mogelijkheden op het terrein van vervanging, vermindering van het aantal dieren en verfijning van de aanvraag.  
De centrale morele vraag kan met "ja" beantwoord worden.

## E. Advies

1. Advies aan de CCD:
  - De DEC adviseert de wijziging op de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden:
    - Humane eindpunten en HEP's dienen zorgvuldig met de IvD te worden afgestemd om ernstig ongerief te voorkomen.
    - Bijlage 2 mag alleen uitgevoerd worden wanneer uit bijlage 1 goed werkende diermodellen ontwikkeld voor de te onderzoeken interventies. Het is daarbij te begrijpen dat verschillende modellen aan dit criterium kunnen voldoen, en dat de te onderzoeken interventie de modelkeuze bepaalt. De IvD kan daar op toezien.
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.

DATUM  
23 maart 2021

ONS KENMERK  
AVD4010020209446-6

PAGINA  
5 van 6

DATUM  
23 maart 2021

ONS KENMERK  
AVD4010020209446-6

PAGINA  
6 van 6

Met vriendelijke groet,

10.2.e  
secretaris DEC WUR

**Van:** 10.2.e namens Info-zbo  
**Aan:** "DEC WUR"  
**Onderwerp:** RE: DEC-advies AVD4010020209446-6  
**Datum:** woensdag 24 maart 2021 10:30:00

13

Beste 10.2.e

De documenten zijn in goede orde ontvangen.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

**Centrale Commissie Dierproeven [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)**

Prinses Beatrixlaan 2 | 2595 AL | Den Haag  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

T: 0800 7890789

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Van:** DEC WUR

**Verzonden:** woensdag 24 maart 2021 08:39

**Aan:** 'Info-zbo (info@zbo-ccd.nl)'

**Onderwerp:** DEC-advies AVD4010020209446-6

Geachte CCD,

Hierbij stuur ik het DEC-advies en de aangepaste documenten van aanvraag AVD4010020209446-6. De niet meegestuurde documenten zijn onveranderd gebleven.

Met vriendelijke groeten.

10.2.e

*secretaris DEC-WUR*

tel: 10.2.e

bezoekadres: 10.2.g

e-mail: 10.2.g

intranet: <https://intranet.wur.nl/umbraco/nl/weten-regelen/onderzoek-onderwijssupport/dierproeven/>

aanwezig: ma+di:8-16:30, wo+do: 8-14:30

Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van 10.2.g is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen, wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

11

Appendix  
Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.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'.	40100	
1.2 Provide the name of the licenced establishment.	WR	
1.3 List the different types of animal procedures. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.	Serial number 2	Type of animal procedure Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19

## 2 Description of animal procedures

### A. Experimental approach and primary outcome parameters

---

Describe the general design of the animal procedures in relation to the primary outcome parameters. Justify the choice of these parameters.

---

Preventive or therapeutic interventions such as vaccines, antivirals, and other compounds are important tools to combat virus infections. This is also true for newly emerged viral diseases such as COVID-19. Before compounds may be applied in humans, they need to be tested for their efficacy and safety in experimental animal models. Also the optimal dosage need to be determined in animal models. Compounds could be applied oral, intramuscular, subcutaneous, intraperitoneal or intravenous.

Based on data generated in the first part of this project (Establishment of a model and assessment of virulence of strains) or made available by the research community, animal models will be selected. As experimental animals to test human interventions we will use mice, hamsters, ferrets, minks or pigs.

If it becomes evident that cats can be a source of infection for humans, or if cats themselves can get sick from infection with SARS-CoV-2, vaccines that are designed to protect cats can be tested under this appendix, following a similar study design as proposed for the other animal species.

For testing the effect of vaccines or other preventive compounds, the test substances will be administered in animals once or repeatedly before challenge with a SARS-CoV-2 strain. For the effect of antivirals or other therapeutic compounds, animals will be challenged with a SARS-CoV-2 strain first before subsequent administration of the test substance.

A number of approved drugs are currently tested for their use in treating COVID-19 both in vitro as well as in clinical trials. In parallel, many scientists and companies worldwide devote their efforts to developing new drugs against COVID-19. Such drugs will first extensively be studied in vitro. The most promising candidates subsequently have to be tested for safety and efficacy in preclinical animal models before they can enter human clinical trials. We are part of an international coalition and want to offer our animal facilities and expertise to other partners that cannot perform preclinical studies themselves. As a matter of course, only the most promising drug candidates based on in vitro analyses will be tested in animals. Promising therapeutic drug candidates, for instance, should reduce viral replication or virus release of cells, whereas promising preventive candidates such as vaccines should be derived from platforms that are successful for other pathogens.

Data on primary outcome parameters will be collected from observations of specific respiratory disease, general health, viral replication and/or shedding as detected in nasal, saliva, pharyngeal and/or rectal swabs or lavages; viral load in organs and blood; lung pathology (macroscopy and histology); and serological or immunological responses (if applicable for the type of intervention strategy).

Secondary parameters are changes in body weight or relative body weight gain and body temperature.

---

Describe the proposed animal procedures, including the nature, frequency and duration of the treatment. Provide justifications for the selected approach.

---

The best animal species for studying SARS-CoV-2 interventions is not known yet. This will be determined by pilot experiments performed under the first appendix of this project, or selected based on data that might have been published in the meantime.

All experiments will be performed under hBSL3 conditions from challenge with SARS-CoV-2 onwards. Before challenge animals may be housed under lower biosafety conditions depending on the pre-requisites of the specific intervention.

Following arrival, animals will be randomly assigned into groups and allowed to acclimatize for 7 days. A subcutaneous chip can be placed to identify animals.

Depending on the type of intervention (preventive or therapeutic), two different study scenarios could occur:

a) Efficacy and safety of preventive interventions

Animals will receive a test item once or repeatedly and will be challenged with SARS-CoV-2 at a later time point in the study.

b) Efficacy and safety of therapeutic interventions

Animals will be challenged with SARS-CoV-2 and thereafter be treated once or repeatedly with a test item.

All animals will be monitored for general health throughout the study, and for specific clinical disease from challenge onwards. Body weight can be measured regularly at predetermined time points. Blood samples and, if possible in the animal species, oropharyngeal, nasal or rectal swabs will be taken on predetermined time points. Animals will be euthanized for post mortem examination and tissue collection either throughout the study or at the study end. If a humane endpoint is reached, post mortem examination will be performed as soon as possible.

The following animal procedures will be performed:

Test article administration

- Test substances can be administered in the oral or nasal cavity, via aerosol, intratracheal, subcutaneous, in the muscle, in the peritoneum or in the blood stream
- One of several doses will be administered: maximally three times per day if administration can be performed without the use of anesthesia: intramuscular, intraperitoneal, intravenous, subcutaneous, per oral and via aerosol; maximally once per day if anesthesia is required
- Depending on the animal species and the administration route, this can either be done in full consciousness of the animal or under general anaesthesia or sedation, following the advice of the AWB
- All administrations will be performed according to existing SOPs or guidelines for the respective animal species
- The choice of administration route will depend on the test substance

Challenge infection

- Inoculation of virus in the nasal cavity or trachea or via aerosol (volume according to animal species, will be agreed upon with the AWB)
- Dependent on the animal species and inoculation route, challenge this can either be done in full consciousness of the animal or under general anaesthesia or sedation, following the advice of the AWB
- Challenge will be done once per experiment or several times for the purpose of rechallenge or cross-protection studies (does post-exposure acquired immunity protect animals from a subsequent challenge with the same virus or a variant of the virus?)

Blood samples

- Blood will be extracted according to existing SOPs for the respective animal species
- The extracted blood volume will not exceed 10% of the circulating blood volume in 3 weeks
- Ferrets, hamsters, minks and cats will be sedated for blood sampling, mice and pigs can be blood-sampled without anaesthesia/sedation
- Repeated blood samples are required to evaluate virus load and immunogenicity at different time points of the study
- Blood samples will be taken maximally once daily, on maximally 5 consecutive days, in total maximally 24 times per experiment

Nasal, oropharyngeal or rectal swabs (only cats, minks, hamsters, ferrets and pigs)

- Ferrets, minks and cats will be sedated for taking nasal or oropharyngeal swabs, pigs and hamsters can be sampled from the oropharynx without anaesthesia/sedation

- Repeated swabs are required to evaluate virus shedding and virus load at different time points of the study
- Swabs will be taken maximally once daily, on maximally 5 consecutive days, in total maximally 24 times per experiment

#### Nasal or bronchoalveolar lavages (only cats, minks, hamsters, ferrets and pigs)

- Ferrets, minks, cats, hamsters and pigs will be sedated for taking nasal or bronchoalveolar lavages
- Repeated lavages are required to evaluate virus shedding and virus load at different time points of the study
- Lavages will be taken maximally once daily, on maximally 5 consecutive days, in total maximally 24 times per experiment

#### Body weight measurements

- Body weight measurements can be performed between once a day to once a week
- Body weight loss can be indicative of general illness

#### Body temperature measurements

- Rectal body temperature will be measured once or twice daily (cats, minks, ferrets and pigs)
- Body temperature loggers could be placed sc or in the peritoneal cavity under general anaesthesia to collect continuous temperature data
- Body temperature increase correlates with general illness

#### Euthanasia

- Euthanasia will be performed after anaesthetizing animals at predetermined time points, either throughout or at the end of the study, or if a HEP is reached
- Samples from tissues and blood for pathological and virological examination will be taken after euthanasia
- Euthanasia is required to collect tissues for scoring of tissue damage and evaluation of virulence of the applied strain

The frequencies and selection of animal interventions for each animal species and experiment will be discussed and agreed upon with the AWB.

Describe which statistical methods have been used and which other considerations have been taken into account to minimise the number of animals.

The expected animal numbers depend on the variation of clinical scores or viral titers after challenge. This will be defined in previous experiments.

The exact number will be calculated based on the observed variation of clinical scores or viral titers in previous experiments, and it will be aimed for reducing the virus titer by the intervention for at least 50% with a power of 0.8 and a p-value of <0.05. The group sizes will be discussed with the AWB.

### **B. The animals**

Specify the species, origin, estimated numbers, and life stages. Provide justifications for these choices.

The animal model will be selected in experiments performed under appendix 1, or based on results from other research groups working on COVID-19. One or two models will be chosen from the following five species: mice (inbred or genetically modified (GM)), hamsters, ferrets, minks or pigs to test human interventions. Recent data indicate that the golden Syrian hamster is an easy to handle experimental animal model suitable for SARS CoV-2 [1-3]. Cats will be studied as target



animals of interventions in case an epidemiological role can be attributed to cats, or in case cats develop clinical disease upon SARS-CoV-2 infection. **Animal species that are less suitable based on previous work will not be used for intervention studies for application in humans. No animals will be used that are younger than their weaning age.**

[1] Sin Fun Sia, Li-Meng Yan, Alex W. H. Chin, Kevin Fung, Ka-Tim Choy, Alvina Y. L. Wong, Prathanporn Kaewpreedee, Ranawaka A. P. M. Perera, Leo L. M. Poon, John M. Nicholls, Malik Peiris & Hui-Ling Yen. **Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. Nature (2020).** <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5>.

[2] Jasper Fuk-Woo Chan, Anna Jinxia Zhang, Shuofeng Yuan, Vincent Kwok-Man Poon, Chris Chung-Sing Chan, Andrew Chak-Yiu Lee, Wan-Mui Chan, Zhimeng Fan, Hoi-Wah Tsoi, Lei Wen et al. **Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility.** Clinical Infectious Diseases (2020) <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325>.

[3] Masaki Imai, Kiyoko Iwatsuki-Horimoto, Masato Hatta, and Yoshihiro Kawaoka et al. **Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development.** PNAS (2020) <https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117>

To test 5 different interventions over the course of five years, in three different dosages and a non-treated control group (4 groups), the following animal numbers would be required (5 interventions x 4 = 20 groups):

Mice (*Mus musculus*): 400 (20 mice/group x 20)

Ferrets (*Mustela putorius furo*): 160 (8 ferrets/group x 20)

Pigs (*Sus scrofa domesticus*): 160 (8 pigs/group x 20)

Minks (*Mustela lutreola* or *Neovison vison*): 160 (8 minks/group x 20)

In case 2 different interventions in cats shall be tested, we require 2 interventions x 4 groups = 8 groups:

Cats (*Felis catus*): 64 (8 cats/group x 8)

15 experiments are performed in the course of this year and again in the next year to assess the efficacy of coronavaccines and antiviral compounds (small molecules and human neutralizing antibodies) in the hamster model. Each experiment consists of on average 8 groups of 8 animals per group = 64 x 15 = 960 animals per year:

Hamsters (*Mesocricetus auratus*): 1920 (2 x 15 x 64) during the first 2 years of the license (until 15/03/2022).

At this moment, March 2021, we need to continue with studies in hamsters to manage all our planned and future experiments, especially in response to the new variants. In March/April 2021 only, we have used (or plan to use) over 600 hamsters. These large experiments are performed to support the vaccine development for our scientific partners. In anticipation of the emerging SARS-CoV-2 variants, our partners requested us to perform additional studies to determine the efficacy of their vaccines against these variants.

For this reason, we estimate that 2080 additional hamsters are needed. This number is based on the following calculation: From June 2020 until March 2021, we performed 20 experiments to test interventions against SARS-CoV-2 in hamsters. Not all experiments have equal numbers of animals, however, frequently, 5-8 groups of 8 hamsters/group are appropriate group sizes for an experiment. If ten experiments per year will be performed in the coming four years of this license, we need 40x (5x8=1920) to 40x (8x8=2560) animals. Assuming we perform 20 experiments with 5 groups of 8 hamsters =40 animals and 20 experiments with 8 groups of 8 hamsters =64 animals, 2080 hamsters will be needed additionally.

Animals of both genders can be used for the experiments in compliance with internal animal housing SOPs. High-health animals will either be purchased from a registered breeding company or supplier within the EU, from a commercial breeder (e.g. pigs), or from other research groups (e.g. GM mice). The absence of unrelated respiratory pathogens, as well as the status of coronavirus antibodies (if appropriate) will be determined upon study start.

Species	Origin	Maximum number of animals	Life stage
mice	moderate	400	

hamsters	moderate	4000
ferrets	moderate	160
pigs	moderate	160
cats	moderate	64
minks	moderate	160

### C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.

Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?

No

Yes > Provide specific justifications for the re-use of these animals during the procedures.

### D. Replacement, reduction, refinement

Describe how the principles of replacement, reduction and refinement were included in the research strategy, e.g. the selection of the animals, the design of the procedures and the number of animals.

The principles of 3R will be applied based on the outcome of Appendix 1, and on available data by other research groups. Before testing a treatment in an animal, the compound will first extensively be studied in the laboratory. Only the most promising treatment candidates will be tested in animals. This step, however, cannot be replaced yet. The complex interaction between the virus and the host can only be studied in a living animal, and the same is true if the efficacy and safety of a treatment needs to be assessed. To reduce animal numbers, every experimental setup will be statistically assessed and will be adapted according to available data on animal experiments with SARS-CoV-2. The number of animals will be as low as possible.

To ensure refinement of animal experiments, all animals will be group-housed in pens suitably enriched per animal species, and humane endpoints will be defined and applied accordingly. Only those animal procedures that are minimally required to fully assess a treatment candidate will be performed.

Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

Adverse effects for the animals can be caused by restraining, manipulating and anaesthetizing them. Test article administration can cause local irritation or discomfort. Challenge infection with SARS-CoV-2 can cause respiratory or general illness.

Only experienced and trained personnel will perform all animal handlings. No adverse effects for the environment are expected due to preventive measures applicable for hBSL3 animal experiments.

## Repetition and Duplication

### E. Repetition

Explain what measures have been taken to ensure that the proposed procedures have not already been performed. If applicable, explain why repetition is required.

## E. Repetition

---

The question is not applicable for this project because it is not regulatory required.

## Accommodation and care

### F. Accommodation and care

---

Is the housing and care of the animals used in experimental procedures not in accordance with Annex III of the Directive 2010/63/EU?

No

Yes > If this may adversely affect animal welfare, describe how the animals will be housed and provide specific justifications for these choices.

---

Animals will be housed according to SOPs under hBSL3 conditions. For hamsters, however, we do not have a species-specific SOP in place yet. Until a SOP exists, hamsters will be housed according to legal requirements (EU guideline 2016/63/EU).

### G. Location where the animals procedures are performed

---

Will the animal procedures be carried out in an establishment that is not licenced by the NVWA?

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

---

Provide justifications for the choice of this establishment. Explain how adequate housing, care and treatment of the animals will be ensured.

---

## Classification of discomfort/humane endpoints

### H. Pain and pain relief

---

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

Yes > Will anaesthesia, analgesia or other pain relieving methods be used?

---

No > Justify why pain relieving methods will not be used.

---

Yes > Indicate what relieving methods will be used and specify what measures will be taken to ensure that optimal procedures are used.

---

Mice, hamsters, ferrets, minks and cats will be sedated for challenge infection, and hamsters, ferrets, minks and cats will additionally be sedated for blood, swab or lavage samplings. Pigs will be sedated for lavage sampling. If temperature transponders will be used, they will be placed in the abdomen under general anaesthesia. If necessary, animals will be anaesthetized to apply the test substance intravenously. Administration of challenge virus and test substances, blood sampling and

nasal, oropharyngeal or rectal swab collection are considered to induce short, procedure-related stress.

Clinical signs of SARS-CoV-2 infection could vary between being asymptomatic to acute respiratory distress, depending on the experimental setup. Signs of respiratory or general illness is a critical parameter for evaluating the effect of an intervention. Therefore, pain-relieving treatment would impair the readout of the study.

#### **I. Other aspects compromising the welfare of the animals**

Describe which other adverse effects on the animals welfare may be expected?

Welfare could be impaired due to development of clinical disease, adverse effects due to test article administration, animal handling and anaesthesia.

Explain why these effects may emerge.

Adverse effects can occur due to test article administration or challenge infection with SARS-CoV-2. Genetic modification of mice may cause more pronounced clinical signs after challenge compared to inbred strains.

Indicate which measures will be adopted to prevent occurrence or minimise severity.

All animals will be closely monitored post test article administration or challenge infection. If increased discomfort or illness occurs, the responsible veterinarian will be consulted. If a HEP is reached, this animal will be euthanized.

#### **J. Humane endpoints**

May circumstances arise during the animal procedures which would require the implementation of humane endpoints to prevent further distress?

No > Continue with question K.

Yes > Describe the criteria that will be used to identify the humane endpoints.

All animals will be observed daily according to a clinical scoring scheme that was established during previous experiments. Monitoring frequency will be increased to two (early morning, late afternoon) or three (morning, afternoon, evening) times per 24 hour period during the most critical period, if moderate clinical symptoms occur to prevent severe discomfort. This will be discussed with the AWB before the start of the study.

Even though no severe clinical disease is expected, the humane endpoints will be defined as following:  
An humane endpoint is reached if an animal shows:

- severe respiratory distress, characterized by laboured breathing or open mouth breathing at one observation point
- severe neurological signs at one observation point
- lethargy or anorexia for more than 24h
- more than 15% body weight loss compared to the day of challenge

Animals that have reached a HEP will be euthanized immediately.

Indicate the likely incidence.

The likely incidence of reaching HEPs will depend on the animal model. According to data available for SARS-CoV, it is not expected to exceed 5% in the most sensitive models.

The likelihood that GM mice will reach a HEP depends on details of the genetic modification (target gene, promotor, expression system, transgene or knockout, ...). For SARS-CoV GM mouse models,

the incidence ranged from 0-100%. Lethality strongly correlated with the expression of hACE2 in the murine central nervous system.

#### **K. Classification of severity of procedures**

---

Provide information on the expected levels of discomfort and indicate to which category the procedures are assigned (non-recovery, mild, moderate, severe ).

---

Data available for SARS-CoV suggests that the disease severity in studies with SARS-CoV-2 will be moderate. Severe disease is not expected.

Mild discomfort can arise due to animal handlings and administration of substances. If necessary, animals will be sedated or anesthetised (as stated above).

### **End of experiment**

#### **L. Method of killing**

---

Will the animals be killed during or after the procedures?

---

No > Continue with Section 3: 'Signatures'.

Yes > Explain why it is necessary to kill the animals during or after the procedures.

---

Viral load in airway tissues as well as pathological changes induced by SARS-CoV-2 are important parameters to evaluate the efficacy and safety of an intervention. This information can only be obtained by sacrificing the animals.

Is the proposed method of killing listed in Annex IV of Directive 2010/63/EU?

---

No > Describe the method of killing that will be used and provide justifications for this choice.

---

Yes

---

**Van:** 10.2.e [redacted] namens Secretariaat OBDA  
**Aan:** 10.2.g [redacted]  
**Cc:** 10.2.e [redacted]  
**Onderwerp:** Beschikking AVD4010020209446-6  
**Datum:** dinsdag 6 april 2021 13:47:00  
**Bijlagen:** Beschikking AVD4010020209446.6.pdf  
AVD4010020209446.6DEC advies BRIEF AVD9446-6.pdf

---

Geachte Dr. 10.2.e [redacted]

In de bijlage treft u het besluit op uw digitaal ontvangen aanvraag voor een projectvergunning. Gedurende de behandeling van uw aanvraag hebben wij hierover met u per e-mail gecorrespondeerd. Op uw verzoek hebben wij de verantwoordelijk onderzoeker uit uw organisatie in de CC gezet.

Met vriendelijke groet,

10.2.e [redacted]

**Centrale Commissie Dierproeven** [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)  
**Nationaal Comité advies dierproevenbeleid** [www.ncadierproevenbeleid.nl](http://www.ncadierproevenbeleid.nl)

.....  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

**T: 0800-7890789**

**E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)**

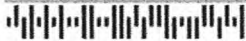


> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Stichting Wageningen Research

Dr. 10.2.e

10.2.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  
AVD4010020209446-6  
**Bijlagen**  
3

Datum 6 april 2021  
Betreft Beslissing Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte Dr. 10.2.e

Op 17 maart 2021 hebben wij uw aanvraag voor een wijziging op een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" met aanvraagnummer AVD4010020209446-6. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw wijzigingsaanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het vanaf de datum van deze brief is toegestaan om de aangevraagde projectwijziging uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning is afgegeven voor de periode van 31 augustus 2020 tot en met 15 maart 2025.

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

#### **Procedure**

##### *Advies dierexperimentencommissie*

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC Wageningen UR (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 24 maart 2021. 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:**

6 april 2021

**Aanvraagnummer:**

AVD4010020209446-6

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.

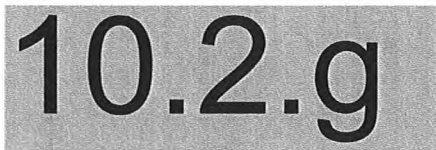
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl), stuur een e-mail naar [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl) of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



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: Stichting Wageningen Research

Adres:

10.2.g

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer: 40100

deze wijziging in de projectvergunning voor het tijdvak 31 augustus 2020 tot en met 15 maart 2025, voor het project "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" met aanvraagnummer AVD4010020209446-6, na advies van dierexperimentencommissie DEC Wageningen UR. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker. Voor de uitvoering van het project en voor de overeenstemming ervan met de verleende projectvergunning is Senior Onderzoeker verantwoordelijk. Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 17 maart 2021
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 17 maart 2021;
  - b Bijlagen dierproeven
    - 3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates, zoals ontvangen op 17 maart 2021;
    - 3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19, zoals ontvangen op 24 maart 2021;
  - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 17 maart 2021;
  - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 24 maart 2021.

Aanvraagnummer: AVD4010020209446-6

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
<b>3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	300	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	220 / 820	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	88	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	88	100,0% Matig
	Katten ( <i>Felis catus</i> )	44	100,0% Matig
	Andere roofdieren (andere Carnivora)	88	100,0% Matig
<b>3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	400	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	160	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	160	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	1.920 / 4.000	100,0% Matig
	Katten ( <i>Felis catus</i> )	64	100,0% Matig
	Andere roofdieren (andere Carnivora)	160	100,0% Matig

#### **Geldende voorschriften**

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

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

**Aanvraagnummer:** AVD4010020209446-6

- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



**Aanvraagnummer:**

AVD4010020209446-6

## 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:**  
AVD4010020209446-6

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.

#### **Levensloopdossier**

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloopdossier bijgehouden worden.

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Aan:** 10.2.g  
**Onderwerp:** Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD4010020209446-6  
**Datum:** maandag 12 april 2021 13:59:51

---

17

Geachte DEC Wageningen UR,

Op 17-03-2021 hebben wij een wijziging op een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions' met aanvraagnummer AVD4010020209446-6.

De CCD heeft de aanvrager geen aanvullende vragen gesteld.

De CCD heeft besloten de vergunning toe te wijzen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht. De beschikking is verstuurd op 6-4-2021.

Het advies is volledig en goed navolgbaar. U geeft duidelijk weer wat de wijziging inhoudt, welke vragen gesteld zijn en wat deze wijziging voor invloed heeft op de eerder genomen ethische afweging.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,  
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

10.2.e

[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

.....  
T: 0900 2800028

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven.
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website [www.zbo-ccd.nl](http://www.zbo-ccd.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

## 1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Nieuw coronavirus SARS-CoV-2: Opzetten van een diermodel voor het testen van vaccins en medicijnen op werkzaamheid en veiligheid
1.2	Looptijd van het project	16-3-2020-15-3-2025
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	Nieuw coronavirus, vaccins, infectie, diermodel, medicijnen

## 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 Projectbeschrijving

<p>3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)</p>	<p>Sinds einde december 2019 is er een uitbraak van een nieuw coronavirus (SARS-CoV-2) in mensen, en het virus veroorzaakt de ziekte COVID-19. In 2003/2004 was er een uitbraak van een vergelijkbaar coronavirus (SARS-coronavirus) en in 2012 het MERS coronavirus. Beide coronavirussen (SARS en MERS) komen naar alle waarschijnlijkheid oorspronkelijk van vleermuizen en zijn door een tussentijdse drager van het virus op de mens overgedragen. De virussen hebben zich vervolgens van mens tot mens kunnen verspreiden, en hebben hoge sterftcijfers tot gevolg gehad (SARS: 11% en MERS: 34%). Ook het nieuwe coronavirus komt oorspronkelijk mogelijk van vleermuizen. Het nieuwe coronavirus lijkt op het SARS virus, echter verspreidt het nieuwe virus zich sneller dan SARS. Het nieuwe coronavirus lijkt minder dodelijk dan het SARS of het MERS virus (rondt 2% van geïnfecteerden sterft), maar de bestrijding wordt bemoeilijkt doordat het virus ook door mensen kan worden overdragen die geen symptomen hebben.</p> <p>Er zijn inmiddels enkele goedgekeurde vaccins op de markt die helpen om de pandemie te bestrijden. Het is duidelijk geworden dat er ook een opmars van nieuwe SARS-CoV-2 varianten is die misschien sneller verspreiden, een mildere of ernstigere ziekte veroorzaken of andere behandelingen nodig hebben dan de oude varianten. De huidige vaccins werken wellicht niet (goed genoeg) voor deze nieuwe varianten. Om dit te bestuderen is meer onderzoek nodig.</p> <p>Het doel van dit project is het ontwikkelen van een diermodel voor COVID-19. Veel dieren hebben dezelfde organen die dezelfde functies op dezelfde manier uitvoeren zoals in mensen. Met een diermodel kan worden gekeken welk schade het virus in het dier veroorzaakt, om vervolgens vaccins of medicijnen tegen de ziekte te testen op werkzaamheid en veiligheid.</p>
<p>3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?</p>	<p>Het project zal belangrijke kennis leveren over COVID-19 door de gevolgen van een besmetting met het nieuwe coronavirus in een dier aan te tonen. Hiervoor moet eerst het beste diermodel worden gekozen. Vervolgens is het essentieel middelen te testen in diermodellen om de werkzaamheid en de veiligheid te kunnen inschatten voordat het middel in dieren of mensen wordt gebruikt. Deze middelen zijn noodzakelijk om besmette dieren of mensen te behandelen of om te voorkomen dat meer dieren of mensen besmet raken met het nieuwe coronavirus.</p> <p>Daarnaast zijn aanvullende studies nodig (zoals bijvoorbeeld zogenaamde transmissieproeven) om te begrijpen of het huidige virus en de nieuwe varianten verschillend snel verspreiden en/of verschillende verschijnselen veroorzaken.</p>
<p>3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?</p>	<p>Muizen: 700  Hamsters: 220 + 400 + 1520 + 2680 = 4820  Fretten: 248  Varkens: 248  Nertsen: 248  Katten: 108</p>



3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De dieren kunnen ziek worden door infectie met het nieuwe coronavirus. Op basis van kennis over andere coronavirussen is te verwachten dat de meeste dieren geen tot milde ademhalingsproblemen of niet specifieke ziekteverschijnselen (minder activiteit, minder eetlust, etc.) zullen vertonen. Negatieve gevolgen voor het welzijn ontstaan daarnaast door het hanteren van de dieren voor de bemonsteringen (bloed, swabs en luchtweg spoelingen) en de behandelingen (injecties van middelen of virussen).
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	De mate van ongerief wordt ingeschat op matig. Ondanks dat het een nieuw virus is en de gevolgen voor een dier niet te voorspellen zijn, wordt, op basis van ervaringen met het SARS virus, ervan uit gegaan dat de dieren niet ernstig ziek zullen worden.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden gedood om vervolgens de organen te onderzoeken.

## 4 Drie V's

4.1	<b>Vervanging</b> Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Proefdieren zijn nodig voor dit project, omdat de complexe samenhang tussen het virus en de drager van de infectie alleen in een levend model onderzocht kan worden. Helaas zijn er geen dierproefvrije alternatieven voor dit onderzoek beschikbaar. Alleen de kansrijkste vaccins of medicijnen, zoals voorafgaand onderzocht is in het laboratorium, zullen in het dier worden getest.
4.2	<b>Vermindering</b> Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Het aantal dieren is ingeschat onder voorwaarde dat deze diersoort het beste model is. Omdat na de eerste experimenten alleen de een of twee meest geschikte modellen voor verder onderzoek gebruikt gaan worden, zullen geen verdere studies in minder geschikte diermodellen worden gedaan. Experimenten in katten worden gedaan om te bepalen of zij van het virus ziek kunnen worden en of zij het virus kunnen verspreiden. Indien dit het geval is kunnen er ook vaccins voor katten in katten worden getest. De vaccins of medicijnen worden zorgvuldig geselecteerd in het laboratorium om alleen de meest veelbelovende middelen in dieren te testen. Het aantal benodigde dieren zal statistisch doorgerekend worden per experiment.

- 4.3 **Verfijning**  
 Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.
- Er zijn zes verschillende diersoorten genoemd, waarvan een of twee meest geschikte modellen worden gekozen om medicijnen voor mensen te testen. De keuze van deze zes diersoorten (muis, hamster, fret, varken, nerts en kat) is gebaseerd op berichten van zieke dieren, eerder onderzoek naar ziekteverschijnselen bij dieren en op vergelijkbare eigenschappen van mens en dier. Recent onderzoek laat zien dat hamsters na besmetting ziek worden en symptomen krijgen die vergelijkbaar zijn met een gematigde vorm van Covid-19 bij de mens. Het maakt de hamster geschikt voor het testen van vaccins en antivirale medicijnen.  
 Doordat we nu meer studies hebben gedaan kunnen we de vervolgonderzoeken met hamsters verder verfijnen en verbeteren door bijvoorbeeld anesthesie protocollen te optimaliseren.
- 
- 4.4 Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.
- Alle dieren worden dagelijks onderzocht om de gezondheidstoestand te bepalen. De dieren worden in groepen gehuisvest met kooiverrijking. Als een dier onverwacht ernstig ziek wordt, worden vooraf gedefinieerde humane eindpunten toegepast en dit dier geëuthanaseerd. Na elk experiment wordt geëvalueerd of er nieuwe mogelijkheden zijn om het dierenwelzijn verder te verbeteren.
- 

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum \_\_\_\_\_

Beoordeling achteraf \_\_\_\_\_

**Van:** 10.2.e  
**Aan:** Secretariaat OBDA; Vergunningenloket  
**Onderwerp:** RE: Beschikking AVD4010020209446-6  
**Datum:** dinsdag 6 april 2021 14:12:43

---

Geachte mevrouw 10.2.e

Hartelijk bedankt!

Vriendelijke groeten,

10.2.e

---

**From:** Secretariaat OBDA

**Sent:** Tuesday, April 06, 2021 13:48

**To:** Vergunningenloket

**Cc:** 10.2.e

**Subject:** Beschikking AVD4010020209446-6

Geachte Dr 10.2.e

In de bijlage treft u het besluit op uw digitaal ontvangen aanvraag voor een projectvergunning.

Gedurende de behandeling van uw aanvraag hebben wij hierover met u per e-mail gecorrespondeerd. Op uw verzoek hebben wij de verantwoordelijk onderzoeker uit uw organisatie in de CC gezet.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

**Centrale Commissie Dierproeven** [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

**Nationaal Comité advies dierproevenbeleid** [www.ncadierproevenbeleid.nl](http://www.ncadierproevenbeleid.nl)

Postbus 93118

2509 AC Den Haag

**T: 0800-7890789**

**E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)**

De Rijksdienst voor Ondernemend Nederland (RVO.nl) stimuleert Duurzaam, Agrarisch, Innovatief en Internationaal ondernemen.

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.  
The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

10.2.e

**Van:** 10.2.e  
**Verzonden:** woensdag 17 maart 2021 12:56  
**Aan:** Info-zbo  
**Onderwerp:** RE: Documenten Aanvraag Vergunning Dierproeven AVD\_40100 10.2.e  
**Categorieën:** Nieuwe aanvragen (of nummer)

Is goed, ik zal het doen

-----Oorspronkelijk bericht-----

Van: Info-zbo <zbo-ccd@rvo.nl>

Verzonden: woensdag 17 maart 2021 11:36

Aan: 10.2.e

Onderwerp: FW: Documenten Aanvraag Vergunning Dierproeven AVD\_40100

10.2.e

10.2.e

Dit is een wijziging op een Corona aanvraag en dat heeft voorrang wil jij deze doen. Ik heb nog geen ervaring met wijzigingen.

Vr Gr

10.2.e

-----Oorspronkelijk bericht-----

Van: info@zbo-ccd.nl <info@zbo-ccd.nl>

Verzonden: woensdag 17 maart 2021 11:17

Aan: info@zbo-ccd.nl

Onderwerp: Documenten Aanvraag Vergunning Dierproeven AVD\_40100 10.2.e

Dit is een automatisch bericht gegenereerd door de SFTP Dienst met betrekking tot een nieuwe aanvraag die is binnengekomen

van: AVD\_40100 met de naam: AVD401002020\_9446-6.zip

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen. De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message. The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

10.2.e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** woensdag 17 maart 2021 13:23  
**Aan:** Kasbeheer  
**Onderwerp:** Betaalgegevens AVD4010020209446-6

Er is een nieuwe aanvraag ontvangen. Hiervoor is een factuur verstuurd. Hieronder de gegevens t.b.v. het opboeken van de factuur.

NAW-gegevens:

10.2.g

Factuurdatum: 17-03-2021  
Factuurnummer: 2094466  
Aanvraagnummer: AVD4010020209446-6  
Factuurbedrag: EUR 889,00

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

.....  
T: 0900 2800028  
E: info@zbo-ccd.nl

10.2.e

**Van:** 10.2.e  
**Verzonden:** dinsdag 23 maart 2021 16:08  
**Aan:** Info-zbo  
**Onderwerp:** RE: update wijziging Covid-WUR AVD4010020209446  
**Categorieën:** DEC adviezen

Hoi 10.2.e

Wat fijn dat jullie al klaar zitten 😊

De DEC WUR is het advies aan het schrijven. Ze hebben de wijziging gelukkig in een schriftelijke ronde kunnen beoordelen. We hopen door deze snelle behandeling van de DEC de wijziging nog met de CCD vergadering van 2 april mee kan. Denk je dat dat nog mogelijk is? 10.2.e zal vandaag of morgen het DEC-advies en de stukken toesturen.

Groeten 10.2.e

---

**From:** Info-zbo  
**Sent:** donderdag 18 maart 2021 17:29  
**To:** 10.2.e  
**Subject:** RE: update wijziging Covid-WUR AVD4010020209446

Wij zitten er klaar voor!

---

**Van:** 10.2.e  
**Verzonden:** woensdag 17 maart 2021 14:50  
**Aan:** info@zbo-ccd.nl  
**Onderwerp:** update wijziging Covid-WUR AVD4010020209446

Beste 10.2.e

Even een update over de wijzigingsaanvraag van het Covid onderzoek van de WUR waar we laatst over belden (AVD4010020209446).

De aanvraag is klaar en afgestemd met de IvD van de WUR. Ik verwacht dat de stukken vandaag of morgen naar de CCD gestuurd zullen worden.

We hopen 11.1  
11.1 Dat ligt nu ook een beetje aan de snelheid van de DEC-WUR.

Groeten 10.2.e

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.



## Advies aan CCD

Datum 24 maart 2021

Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD20209446-6

Instelling: Stichting Wageningen Research  
Onderzoeker: 10.2.e  
Project: Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions  
Betreft: Wijziging  
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

### 1

Voor aanvraag AVD4010020209446 is een wijzigingsaanvraag ingediend. Deze is geregistreerd als AVD4010020209446-6.

<b>Proces</b>	Er zijn geen vragen gesteld aan de DEC en aan de aanvrager. De aanvrager heeft al meerdere meldingen gedaan tijdens dit onderzoek. Deze derde wijziging die de aanvrager aanvraagt, hierbij zijn vorige 2 wijzigingen als spoed aanvragen behandeld. Zie de lijst met meldingen en wijzigingen voor de inhoud hiervan.
<b>Inhoud wijziging</b>	Een toevoeging van 2680 hamsters aan het onderzoek.
<b>Reden wijziging</b>	Citaat begeleidende brief: De hamster blijft op dit moment het beste diemodel om onze onderzoeksvragen te beantwoorden (zie ook toelichting AVD4010020209446-5 (AVD20209446-6h_Toelichting voorgaande wijziging)). Dit model is momenteel volop in ontwikkeling, namelijk door het verbeteren van anesthesie, verfijnen en uitbreiden van de biotechnische handelingen en kooiverrijking. Zoals eerder gezegd blijft het ingewikkeld een goede inschatting te maken van het benodigde aantal dieren. In wijziging AVD4010020209446-5 hebben wij de CCD verzocht 1520 extra hamsters toe te voegen aan de vergunning. Op dat moment verwachtten wij dat deze extra dieren voldoende zouden zijn voor experimenten tot de zomer van 2022. Echter, komen wij tot de conclusie dat voor de geplande/verwachtte experimenten nogmaals 2680 hamsters nodig zijn, naast de dieren die reeds vergund zijn.



# Overzicht van opmerkingen bij 23. AdviesNotaCCD\_Wijziging\_10.2.e 24-3-2021.pdf

---

Pagina: 1

---

Nummer: 1    Auteur: 10.2.e    Onderwerp: Notitie    Datum: 24-3-2021 16:22:23 +01'00'  
is

---

Nummer: 2    Auteur: 10.2.e    Onderwerp: Notitie    Datum: 24-3-2021 16:22:32 +01'00'  
de

---

## 2

Ingediende meldingen en wijzigingen

Nr.	Datum	Omschrijving
1	08-05-2020	<i>Wijziging</i> Het toevoegen van katten en nertsen aan de vergunning.
2	20-05-2020	<i>Melding</i> Toevoegen van re-infecteren van dieren met SARS-CoV-2 in DAP1 en 2.  Toevoegen van het nemen van samples bij hamsters.
3	10-06-2020	<i>Melding</i> Verwijderen van >15% body weight loss als HEP van DAP1 en 2.
4	26-05-2020	<i>Melding</i> Hamsters worden ter identificatie voorzien van een chip.
5	23-07-2020	<i>Wijziging</i> Toevoeging van 1520 hamsters aan DAP2.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
<b>3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	300	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	<del>220</del> / 820	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	88	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	88	100,0% Matig
<b>3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	400	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	160	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	160	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	<del>1.920</del> / 4.000	100,0% Matig



**Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren**

## 3

Beoordeling wijziging door DEC

## Pagina: 2

---

Nummer: 1 Auteur: 10.2.e Onderwerp: Notitie Datum: 24-3-2021 16:24:37 +01'00'

hier missen nu dus de katten en de nertsen. Volgens mij moet je in MAUS nu eerst de "oorspronkelijke aanvraag" wijzigen, dan komt dat er ook in.

**DECadvies**

Het DEC advies is volledig en kan als grondslag dienen voor het besluit.

Ethische afweging van de DEC:

Aanvullingen ethische afweging op basis van de wijziging, Citaat:

1. De centrale morele vraag van het project is: weegt het vergaren van kennis omtrent SARS-CoV-19 door het opzetten van diermodellen en het daarin testen van interventies <sup>1</sup> tegen op tegen het maximaal matige ongerief dat maximaal 48 <sup>1</sup> hamsters zullen ondervinden?

2. Voor de nu voorliggende wijziging heeft de DEC geconstateerd dat de extra aangevraagde hamsters passen in de doelstelling van het project. Het project over onderzoek en bestrijding van COVID-19 evolueert mee met het verloop van de huidige pandemie. Het risico van virusvarianten met(enigszins) andere eigenschappen qua besmettelijkheid en pathogeen vermogen vraagt om aangepaste dierexperimentele modellen. De wereldwijde bedreiging van de volksgezondheid is onveranderd al zijn in de rijkere gebieden bruikbare vaccins beschikbaar gekomen. Dat katten en nertsen door mensen besmet kunnen worden (en vice versa mogelijk ook) geeft aanleiding tot verder onderzoek. De resultaten tot nu toe tonen dat het hamster diermodel zeer bruikbaar is, maar nog verder kan worden verfijnd en geoptimaliseerd.

De argumenten om meer dieren te mogen gebruiken en de extra gevraagde dieren zijn helder omschreven en goed navolgbaar in de losse toelichting die de onderzoeker heeft bijgevoegd in schrijven naar de CCD. Hoe men tot de gewenste extra aantallen hamsters komt is duidelijk omschreven in het projectplan.

Er staan nog 10 experimenten gepland tot kwartaal 3 van 2021. Dit betreft excl. deze aanvraag. De berekening van de extra aantallen is gebaseerd op 5 varianten bij het aantal van 600 in appendix 1 en 40 extra experimenten met in totaal 2080 dieren bij appendix 2 voor de komende 4 jaren van deze projectaanvraag. De DEC gaat ervan uit, dat dit de laatste aanvraag voor aanvullende dieren is binnen dit project en is van mening dat nogmaals een wijziging dan een gedegen onderbouwing in de vorm resultaatbevindingen zal moeten bevatten.

3. Op basis van bovenstaande overwegingen is de DEC van mening dat het ethisch verantwoord is om onderzoek te doen naar het ontwikkelen van COVID-19 diermodellen en het testen van interventies met maximaal matig ongerief voor maximaal 48 <sup>2</sup> hamsters. De DEC ziet in dit stadium geen mogelijkheden op het terrein van vervanging, vermindering van het aantal dieren en verfijning van de aanvraag.

De centrale morele vraag kan met "ja" beantwoord worden.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij

## Pagina: 3

---

Nummer: 1 Auteur: 10.2.e Onderwerp: Notitie Datum: 24-3-2021 16:30:51 +01'00'  
en de andere diersoorten

Nummer: 2 Auteur: 10.2.e Onderwerp: Notitie Datum: 24-3-2021 16:30:47 +01'00'  
ik zou hier 11.1

	<p>- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p>
--	---

#### 4 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	
	<p>Er zijn DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid.</p> <p>Citaat: Eén van de DEC-leden is de aanvrager van deze wijziging en is, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.</p>
	<p>Het advies is volledig en goed navolgbaar. U geeft duidelijk weer wat de wijziging inhoudt, welke vragen gesteld zijn en wat deze wijziging voor invloed heeft op de eerder genomen ethische afweging.</p>

#### 5 Inhoudelijke beoordeling

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19	Ja	volgens de richtlijn.

#### 6 Samenvatting

Het wijzigingsvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de 3V's, het ongerief en de humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen. Het advies van de DEC kan hieraan ten grondslag liggen.

Deze pagina bevat geen opmerkingen.



De aanvrager wil in dit wijzigingsverzoek 2680 hamsters aan het onderzoek toevoegen. Hierbij geeft de aanvrager aan 'dat er op het moment van starten van dit onderzoek inschattingen in de oorspronkelijke vergunning waren gebaseerd op een grote mate van aannames. Er was op dat moment namelijk nog weinig bekend over de biologie en het gedrag van het virus'. Daarnaast zegt ze 'het aantal SARS-CoV-2 gerelateerde onderzoeksvragen voorgelegd door onze opdrachtgevers het afgelopen jaar is ongekend hoog en daarmee staat onze huidige vergunning onder constante druk'.

Door de mutaties van het SARS-CoV-2 virus, en daarmee het ontstaan van nieuwe varianten van het virus, zijn additionele proeven nodig. De aanvrager geeft aan dat de vraag naar transmissieproeven en het karakteriseren van deze nieuwe varianten exponentieel groeit.

De DEC vindt dit voldoende onderbouwd waarom er extra hamsters voor het onderzoek nodig zijn en het Secretariaat volgt de DEC hierin.

#### **7 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning**

Het Secretariaat 11.1  
Het Secretariaat

De ingangsdatum van de vergunning kan niet voor de verzenddatum van de beschikking zijn en zal indien van toepassing aangepast worden. Dit is ook het geval bij een voorgenomen besluit.

#### **8 Concept beschikking voor akkoord CCD**



Pagina: 5

---

Nummer: 1   Auteur: 10.2.e   Onderwerp: Notitie   Datum: 24-3-2021 16:39:55 +01'00'

---

misschien 11.1



## Advies aan CCD

Datum 24 maart 2021

Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD20209446-6

Instelling: Stichting Waageninaren Research  
Onderzoeker: 10.2.e  
Project: Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions  
Betreft: Wijziging  
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

### 1

Voor aanvraag AVD4010020209446 is een wijzigingsaanvraag ingediend. Deze is geregistreerd als AVD4010020209446-6.

<b>Proces</b>	Er zijn geen vragen gesteld aan de DEC en aan de aanvrager.  De aanvrager heeft al meerdere meldingen gedaan tijdens dit onderzoek. Dit is de derde wijziging die de aanvrager aanvraagt, hierbij zijn de vorige 2 wijzigingen als spoed aanvragen behandeld. Zie de lijst met meldingen en wijzigingen voor de inhoud hiervan.
<b>Inhoud wijziging</b>	Een toevoeging van 2680 hamsters aan het onderzoek.
<b>Reden wijziging</b>	Citaat begeleidende brief: De hamster blijft op dit moment het beste diermodel om onze onderzoeksvragen te beantwoorden (zie ook toelichting AVD4010020209446-5 (AVD20209446-6h_Toelichting voorgaande wijziging). Dit model is momenteel volop in ontwikkeling, namelijk door het verbeteren van anesthesie, verfijnen en uitbreiden van de biotechnische handelingen en kooiverrijking. Zoals eerder gezegd blijft het ingewikkeld een goede inschatting te maken van het benodigde aantal dieren. In wijziging AVD4010020209446-5 hebben wij de CCD verzocht 1520 extra hamsters toe te voegen aan de vergunning. Op dat moment verwachtten wij dat deze extra dieren voldoende zouden zijn voor experimenten tot de zomer van 2022. Echter, komen wij tot de conclusie dat voor de geplande/verwachtte experimenten nogmaals 2680 hamsters nodig zijn, naast de dieren die reeds vergund zijn.

**2**

## Ingediende meldingen en wijzigingen

Nr.	Datum	Omschrijving
1	08-05-2020	<i>Wijziging</i> Het toevoegen van katten en nertsen aan de vergunning.
2	20-05-2020	<i>Melding</i> Toevoegen van re-infecteren van dieren met SARS-CoV-2 in DAP1 en 2.  Toevoegen van het nemen van samples bij hamsters.
3	10-06-2020	<i>Melding</i> Verwijderen van >15% body weight loss als HEP van DAP1 en 2.
4	26-05-2020	<i>Melding</i> Hamsters worden ter identificatie voorzien van een chip.
5	23-07-2020	<i>Wijziging</i> Toevoeging van 1520 hamsters aan DAP2.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
<b>3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	300	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	<del>220</del> / 820	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	88	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	88	100,0% Matig
	Katten ( <i>Felis catus</i> )	44	100,0% Matig
	Andere roofdieren (andere Carnivora)	88	100,0% Matig
<b>3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	400	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	160	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	160	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	<del>1.920</del> / 4.000	100,0% Matig
	Katten ( <i>Felis catus</i> )	64	100,0% Matig
	Andere roofdieren (andere Carnivora)	160	100,0% Matig

## Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

### 3

#### Beoordeling wijziging door DEC

<b>DECadvies</b>	<p>Het DEC advies is volledig en kan als grondslag dienen voor het besluit.</p> <p>Ethische afweging van de DEC: Aanvullingen ethische afweging op basis van de wijziging, Citaat:</p> <p>1. De centrale morele vraag van het project is: weegt het vergaren van kennis omtrent SARS-CoV-19 door het opzetten van diermodellen en het daarin testen van interventies hiertegen op tegen het maximaal matige ongerief dat maximaal 700 muizen, 4820 hamsters, 248 fretten, 248 varkens, 248 nertsen en 108 katten zullen ondervinden?</p> <p>2. Voor de nu voorliggende wijziging heeft de DEC geconstateerd dat de extra aangevraagde hamsters passen in de doelstelling van het project. Het project over onderzoek en bestrijding van COVID-19 evolueert mee met het verloop van de huidige pandemie. Het risico van virusvarianten met(enigszins) andere eigenschappen qua besmettelijkheid en pathogeen vermogen vraagt om aangepaste dierexperimentele modellen. De wereldwijde bedreiging van de volksgezondheid is onveranderd al zijn in de rijkere gebieden bruikbare vaccins beschikbaar gekomen. Dat katten en nertsen door mensen besmet kunnen worden (en vice versa mogelijk ook) geeft aanleiding tot verder onderzoek. De resultaten tot nu toe tonen dat het hamster diermodel zeer bruikbaar is, maar nog verder kan worden verfijnd en geoptimaliseerd.</p> <p>De argumenten om meer dieren te mogen gebruiken en de extra gevraagde dieren zijn helder omschreven en goed navolgbaar in de losse toelichting die de onderzoeker heeft bijgevoegd in schrijven naar de CCD. Hoe men tot de gewenste extra aantallen hamsters komt is duidelijk omschreven in het projectplan.</p> <p>Er staan nog 10 experimenten gepland tot kwartaal 3 van 2021. Dit betreft excl. deze aanvraag. De berekening van de extra aantallen is gebaseerd op 5 varianten bij het aantal van 600 in appendix 1 en 40 extra experimenten met in totaal 2080 dieren bij appendix 2 voor de komende 4 jaren van deze projectaanvraag. De DEC gaat ervan uit, dat dit de laatste aanvraag voor aanvullende dieren is binnen dit project en is van mening dat nogmaals een wijziging dan een gedegen onderbouwing in de vorm resultaatbevindingen zal moeten bevatten.</p>
------------------	---

	<p>3. Op basis van bovenstaande overwegingen is de DEC van mening dat het ethisch verantwoord is om onderzoek te doen naar het ontwikkelen van COVID-19 diermodellen en het testen van interventies met maximaal matig ongerief voor maximaal 700 muizen, 4820 hamsters, 248 fretten 248 varkens, 248 nertsen en 108 katten. De DEC ziet in dit stadium geen mogelijkheden op het terrein van vervanging, vermindering van het aantal dieren en verfijning van de aanvraag. De centrale morele vraag kan met "ja" beantwoord worden.</p> <p>De DEC heeft extern advies ingewonnen bij</p> <p>- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p>
--	---

#### 4 Kwaliteit DEC advies

<b>Kwaliteit DEC-advies</b>	
	<p>Er zijn DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid. Citaat: Eén van de DEC-leden is de aanvrager van deze wijziging en is, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.</p>
<p>Het advies is volledig en goed navolgbaar. U geeft duidelijk weer wat de wijziging inhoudt, welke vragen gesteld zijn en wat deze wijziging voor invloed heeft op de eerder genomen ethische afweging.</p>	

## 5 Inhoudelijke beoordeling

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19	Ja	volgens de richtlijn.

## 6 Samenvatting

Het wijzigingsvoorstel bevat voldoende informatie over het belang van het onderzoek, de strategie, de 3V's, het ongerief en de humane eindpunten om tot een oordeel te kunnen komen. Het advies van de DEC kan hieraan ten grondslag liggen.

De aanvrager wil in dit wijzigingsverzoek 2680 hamsters aan het onderzoek toevoegen. Hierbij geeft de aanvrager aan 'dat er op het moment van starten van dit onderzoek inschattingen in de oorspronkelijke vergunning waren gebaseerd op een grote mate van aannames. Er was op dat moment namelijk nog weinig bekend over de biologie en het gedrag van het virus'. Daarnaast zegt ze 'het aantal SARS-CoV-2 gerelateerde onderzoeksvragen voorgelegd door onze opdrachtgevers het afgelopen jaar is ongekend hoog en daarmee staat onze huidige vergunning onder constante druk'.

Door de mutaties van het SARS-CoV-2 virus, en daarmee het ontstaan van nieuwe varianten van het virus, zijn additionele proeven nodig. De aanvrager geeft aan dat de vraag naar transmissieproeven en het karakteriseren van deze nieuwe varianten exponentieel groeit.

De DEC vindt dit voldoende onderbouwd waarom er extra hamsters voor het onderzoek nodig zijn en het Secretariaat volgt de DEC hierin.

## 7 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat  
Het Secretariaat

11.1

De ingangsdatum van de vergunning kan niet voor de verzenddatum van de beschikking zijn en zal indien van toepassing aangepast worden. Dit is ook het geval bij een voorgenomen besluit.

## 8 Concept beschikking voor akkoord CCD

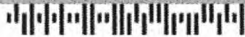


> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

Stichting Wageningen Research

Dr. 10.2.e

10.2.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  
AVD4010020209446-6  
**Bijlagen**  
3

Datum 6 april 2021  
Betreft Beslissing Wijziging projectvergunning Dierproeven

Geachte Dr. 10.2.e

Op 17 maart 2021 hebben wij uw aanvraag voor een wijziging op een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" met aanvraagnummer AVD4010020209446-6. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw wijzigingsaanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het vanaf de datum van deze brief is toegestaan om de aangevraagde projectwijziging uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. Deze vergunning is afgegeven voor de periode van 31 augustus 2020 tot en met 15 maart 2025.

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

#### **Procedure**

##### *Advies dierexperimentencommissie*

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC Wageningen UR (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 24 maart 2021. 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:**

6 april 2021

**Aanvraagnummer:**

AVD4010020209446-6

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.

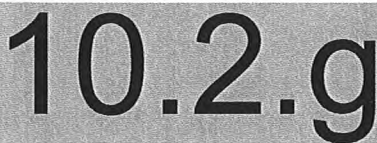
Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl), stuur een e-mail naar [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl) of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:

A large, stylized signature '10.2.g' is displayed in a grey rectangular box.

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: Stichting Wageningen Research

Adres:

10.2.g

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer: 40100

deze wijziging in de projectvergunning voor het tijdvak 31 augustus 2020 tot en met 15 maart 2025, voor het project "Novel SARS-CoV-2: Establishing a COVID-19 animal model and testing of interventions of interventions" met aanvraagnummer AVD4010020209446-6, na advies van dierexperimentencommissie DEC Wageningen UR. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker. Voor de uitvoering van het project en voor de overeenstemming ervan met de verleende projectvergunning is Senior Onderzoeker verantwoordelijk. Het besluit is gebaseerd op de volgende (aangepaste) stukken:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 17 maart 2021
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 17 maart 2021;
  - b Bijlagen dierproeven
    - 3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates, zoals ontvangen op 17 maart 2021;
    - 3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19, zoals ontvangen op 24 maart 2021;
  - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 17 maart 2021;
  - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 24 maart 2021.

Aanvraagnummer: AVD4010020209446-6

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
<b>3.4.4.1 Establishment of a COVID-19 model and assessment of virulence of isolates</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	300	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	<del>220</del> / 820	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	88	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	88	100,0% Matig
	Katten ( <i>Felis catus</i> )	44	100,0% Matig
	Andere roofdieren (andere Carnivora)	88	100,0% Matig
<b>3.4.4.2 Dose, safety and efficacy of interventions against COVID-19</b>			
	Muizen ( <i>Mus musculus</i> )	400	100,0% Matig
	Fretten ( <i>Mustela putorius furo</i> )	160	100,0% Matig
	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	160	100,0% Matig
	Syrische goudhamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> )	<del>1.920</del> / 4.000	100,0% Matig
	Katten ( <i>Felis catus</i> )	64	100,0% Matig
	Andere roofdieren (andere Carnivora)	160	100,0% Matig

#### Geldende voorschriften

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

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

**Aanvraagnummer:** AVD4010020209446-6

- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



**Aanvraagnummer:**

AVD4010020209446-6

## 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:**

AVD4010020209446-6

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.

**Levensloofdossier**

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primate moet volgens artikel 15a van de wet een levensloofdossier bijgehouden worden.

10.2.e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** dinsdag 6 april 2021 12:11  
**Aan:** Braunstahl, drs. F. (Ferry); 10.2.e  
**CC:** 10.2.e  
**Onderwerp:** Ondertekening AVD4010020209446-6

Aanvraag AVD4010020209446-6 staat klaar ter ondertekening.  
Het betreft een wijziging.

10.2.e

**10.2.e**

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** dinsdag 6 april 2021 13:09  
**Aan:** Secretariaat OBDA  
**CC:** 10.2.e  
**Onderwerp:** Ondertekening AVD4010020209446-6 akkoord

**Categorieën:** 10.2.e

Beste 10.2.e

De beschikking van aanvraag AVD4010020209446-6 is ondertekend.  
Het betreft een wijziging.

Ferry Braunstahl

**Van:** 10.2.e  
**Aan:** Secretariaat OBDA  
**Onderwerp:** Publicatie NTS 20209446-6  
**Datum:** maandag 12 april 2021 14:01:26  
**Bijlagen:** NTS 20209446-6 publicatie.pdf

---

Hai 10.2.e

Zou NTS 20209446-6 gepubliceerd kunnen worden? Dit betreft een wijziging. Er zullen dieren worden toegevoegd aan de vergunning. Beoordeling achteraf: nee.

Groetjes 10.2.e

**Centrale Commissie Dierproeven** [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

.....  
Prinses Beatrixlaan 2 | 2595 AL | Den Haag  
Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag  
.....

M 10.2.e  
E: 10.2.e