



Centrale Commissie Dierproeven

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.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

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

10.2.g

- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.

- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
3a	Pharmacokinetic (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

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.

In order to evaluate the efficacy of an antiviral compound in an NHP model for CoV infection the pharmacokinetics of the compound are it may be necessary to tested using different dosages in order to determine the effective compound concentration in plasma, after administration (the 'bioavailability'). If the results of such a PK study are positive, then, studies are planned to test the efficacy of the compound in macaques, for use as a prophylactic, as well as a therapeutic drug (Appendix 4).

In general, the study set-up is as follows: a group of animals will receive the compound in different doses. Typically, one group of animals will be intravenously given the compound. This group will act as control group, and will provide baseline data of the main PK parameter, like clearance of compound from the body, volume of distribution, and half-life of the compound. Then, experimental groups will receive the compound in different dosages. After administration, the animals will be bled at regular time points in order to determine the concentration of the compound in the blood.

The primary outcome parameters for the PK are:

1. the maximum concentration of the active compound in plasma, and
2. the total amount of the active compound in plasma in time

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

A typical PK study consists of groups of animals that are given the antiviral compound at different dosages and/or different routes of administration. One group will first receive the compound by intravenous bolus

in order to derive the main PK parameters (clearance, volume of distribution, half-life). The ~~n~~ other groups will be given the compound at different dosages. ~~The route of compound administration in the latter groups will depend on the antiviral compound, and will be done via intravenous administration, or orally by using a gavage.~~ The used dosages will be calculated on basis of PK studies in other animal models. Typically, blood samples will be collected at regular time points until 24 h post-administration, and will then be performed daily until the end of the study (maximally 7 days post-administration).

The PK study may be designed as a study in which the animals are first given a low dose of compound. Then, after a wash-out period during which the compound is cleared from the body, the animals can be administered a second, higher dose of the compound, and blood will be collected at regular time points. Plasma from blood samples will then be analyzed for PK parameters.

As a follow-up to the single-dose PK study, animals may also receive antiviral compounds by repeated administration to determine if this prolonged bioavailability leads to either unwanted accumulation of the substance in the blood, or to an equally unwanted decrease because repeated-dosing influences the body metabolism. A prolonged bioavailability is essential when anti-CoV compounds are used as a prophylaxis, i.e. they should protect against CoV infection for a certain period. Essentially, blood sampling will be similar to a single-dose study, with multiple samplings the first day after administration, followed by daily blood collection until the next drug administration.

The details of each study, the number of animals, the route of administration, dose used, and the time points of blood sampling, will be submitted for approval to the AWB.

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

A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies in macaques, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile in blood of the compounds. This group size is sufficiently large to allow insight in the variance between the individual animals and allows us to identify possible outliers.

Block randomization will be used for the group composition. The animals will be randomly allocated to treatment groups according to a randomized block design based on the sex and weight of the animals.

B. The animals

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

The experiments will be performed in ~~72-48~~ nonhuman primates: rhesus macaques (*Macaca mulatta*), ~~or cynomolgus macaques (*M. fascicularis*), or common marmosets (*Callithrix jacchus*).~~ All animals are purpose bred at our institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier. Both mature male and female animals can be used. In contrast to other animal species that are used in virus research, i.e. rodents, NHP have the advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans (1-5). As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This renders NHP an important preclinical animal model to investigate the pharmacokinetics of potential anti-CoV compounds for human use.

In a period of 5 years we expect to test a maximum of ~~five-eight~~ antiviral compounds. On basis of *in vitro* studies, and studies done in rodent models, a dosage range will be set that will then be evaluated in NHP. ~~For typically, each compound, we plan to evaluate maximally five dosages for a compound in a single-dose PK study, given successively.~~ The exact number of dosages that will be tested per compound will be decided per study, as this depends on the outcomes from *in vitro* studies and studies in rodents, as well as on experience from studies with related compounds.

~~The exact design of the study, including the NHP species used, and number of dosages, will be submitted for approval to the AWB.~~

In the single-dose PK study, 2 groups of 3 animals (total 6 animals) will receive 3 different dosages of the drug, as described in section A. Per compound we will test 6 different dosages (5 dosages + 1 standard control dose given) in 2 groups of 3 animals = 6 animals per compound. Then, for each compound, a repeated-dose administration study is planned with a group of 3 animals. These animals will be selected from the group of animals already used in the single-dose PK study. Thus, for each compound we plan to use 6 animals.

Met opmaak: Regelafstand: Meerdere 1,15 rg

In each PK study, 2 groups of 3 animals will receive 3 different dosages of the drug, as described in section A. For the single-dose PK studies we plan to test a total of eight compounds. Per compound we will test 6 different dosages (5 dosages + 1 standard control dose given) in 2 groups of 3 animals = 6 animals per compound. For 8 compounds we will need 72 animals. For each compound, a repeated-dose administration study is planned with groups of 3 animals. These animals will be selected from the group of animals already used in the single-dose PK study.

Thus, over a 5-year period, we plan to test 8 compounds x 6 = 48 animals.

A total of 72 animals will be needed for the PK studies.

The exact design of the study, including the NHP species used, and number of dosages, will be submitted for approval to the AWB.

Met opmaak: Regelafstand: Meerdere 1,15 rg

Met opmaak: Afstand Na: 12 pt, Regelafstand: Meerdere 1,15 rg, Zwevende begin- en eindregels niet voorkomen, Spatiëring tussen Aziatische en Latijnse tekst niet aanpassen, Spatiëring tussen Aziatische tekst en nummers niet aanpassen

References

1. Itoh, Y. (2016). Translational research on influenza virus infection using a nonhuman primate model. *Pathology International*, 66, 132-141.
2. Clemons, D.J., Meador, V., Weinbauer, G.F., and Wakefield, G.A. (2012) Safety and Efficacy Evaluation Using Nonhuman Primates. In: *Nonhuman Primates in Biomedical Research vol.2* Academic Press
3. Chih-Ming, L., Faggoni, R., and Roskos, L.K. (2015) Pharmacokinetics of human therapeutics characterized in nonhuman primates. In: *The Nonhuman Primate in Nonclinical Drug Development and Safety Assessment*. Academic Press
4. Chan, J. F.-W., Yao, Y., Yeung, M.-L., Deng, W., Bao, L., Jia, L., et al. (2015). Treatment With Lopinavir/Ritonavir or Interferon- β 1b Improves Outcome of MERS-CoV Infection in a Nonhuman Primate Model of Common Marmoset. *Journal of Infectious Diseases*, 212(12).
5. Orsi, A., Rees, D., Andreini, I., Venturella, S., Cinelli, S., & Oberto, G. (2011). Regulatory Toxicology and Pharmacology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 59(1), 19-27.

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous experiments. In view of the long life of the animals of this species reuse of animals will take place within the limitations described in article 1e of the Wet op de Dierproeven.

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

X 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.

All compounds have been tested extensively for efficacy and toxicity in *in vitro* assays. Also, *in vivo* toxicity studies have been performed in rodents. Only when no side effects or signs of toxicity are found in the rodent model, and if no other suitable animal model for anti-coronavirus compound testing is available, the compounds will be evaluated in nonhuman primates.

In this animal procedure, the pharmacokinetic profile of anti-CoV compounds is determined in NHP, before their use in antiviral compound efficacy testing in the same animal species. A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile of the compounds in blood of macaques. This group size allows us insight in the variance between the individual animals, and at the same time allows us to identify possible outliers. The number of animals needed will be kept to a minimum by 0-ly testing of different dosages of a compound, successively administered to the same animal, the minimum number of animals needed, will be used.

Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via a gavage) when the animals are daily sedated for blood sampling or compound administration. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Compound administration and blood sampling take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive biotech-ological-actions such as giving anaesthesia or compound administration. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.

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

For the PK studies using anti-CoV compounds, no safety and/or environmental risks can be envisioned. All compounds have been tested *in vitro* and *in vivo* in rodents for their potential to inhibit CoV virus, but also for presence/absence of toxicity, before their evaluation in nonhuman primates.

Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. All handlings will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the period that an animal is bled daily, the animal will receive tube feeding. This is necessary, because animals have to fast the night before the sedation and since animals will be sedated daily after infection the food intake during this period would otherwise be very limited.

The studies will be performed according to Dutch laws, and it is not expected that the experiments will have adverse effects on the environment

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.

Not applicable

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.

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.

In case an animal suffers pain, oral or parenteral analgesia may be administered after consultation with the veterinarian.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Stress because of recovery from sedation
2. Reduced food intake due to repeated daily sedations for blood collection and compound administration
3. Discomfort due to administration of compound and food via gavage

Explain why these effects may emerge.

1. Animals will be repeatedly sedated for blood sampling and compound administration. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation.
2. Animals will be sedated daily during the PK study for blood collection. Therefore, the animals will have to fast during that period.
3. Insertion of the tube may cause local irritation

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

1. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
2. Animals will receive tube feeding via gavage. This is applied during sedation.
3. Insertion of the feeding tube will be done by experienced caretakers. In case irritation occurs, this will be mild and no extra measures need to be taken

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.

It is not expected that animals will reach a humane endpoint due to the PK study. However, through intensive monitoring of the animals, deviations in behavior, appetite etc. will be noted quickly. In addition, the animals are weighed at each blood collection. A major weight loss of > 20% relative to the

weight at the start of the study is seen as humane endpoint. In case an animal is seriously ill, as judged by the veterinarian, it will be humanely euthanized.

Indicate the likely incidence.

it is not expected that the animals reach the humane endpoint criteria. Therefore, the percentage is zero.

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 cumulative discomfort is estimated as moderate. This is mainly caused by the daily sedations after compound administration, or potential side-effects caused by the compound.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

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



Centrale Commissie Dierproeven

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.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General Information

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

10.2.g

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
4	CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

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.

In order to evaluate the use of antiviral compounds to prevent or treat CoV infection, we will use the following general study set-up:

~~1. Prophylactic treatment: a group of animals will receive the compound. Then, the animals will be challenged with CoV (Appendix 1), and nasal and tracheal swab samples are collected at regular time points to determine if the animals have been protected against infection, or if the virus load is influenced by the prophylactic administration of the compound. A group of animals will not receive the compound, and will be used as controls.~~

~~2. For a therapeutic treatment: a group of animals will be experimentally infected with CoV (Appendix 1). Then, the animals will be administered the compound, and nasal and tracheal swab samples are collected at regular time points to determine if the virus load is influenced by the therapeutic administration of the compound. A group of animals will not receive the compound, and will be used as controls.~~

~~When a compound is evaluated for its therapeutic potential, i.e. to cure infection, animals will first be infected with the virus, and subsequently the compound will be administered. During the study, nasal and tracheal swabs are collected at regular time points and tested for the presence or absence of virus.~~

The primary outcome parameter for antiviral efficacy will be the reduction of viral load in nasal and tracheal swabs.

Secondary outcome parameters for CoV infection that may be evaluated are:

1. Absence or reduction of fever caused by CoV infection
2. Absence or reduction of clinical symptoms caused by CoV infection
3. Absence or reduction of lung pathology caused by CoV infection

Met opmaak: Standaard, Geen opsommingstekens of nummering

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

A telemetric temperature ~~transponder-sensor~~ is surgically placed in the abdominal cavity at least 4 weeks before the first compound administration takes place (prophylactic treatment), or before experimental infection (therapeutic treatment). This timeframe is necessary for full recovery of the animals from the surgery, and to allow adequate body temperature recording during a two to three-week period to establish normal values before the administration/infection start.

Prophylactic antiviral/Antiviral study set up:

At the start of the study, the animals will experimentally infected. The optimal route and inoculum dose are determined in an infection study with this inoculum (Appendix 1). At that same time point, a group of animals that will not receive the compound are also infected, and will act as untreated infection controls in the study. Next, the animals will receive the antiviral compound. The route of administration and the dosage to be used are based on PK studies with this compound performed in NHP (Appendix 3), or are based on studies performed by collaborating institutes. At the same time blood is collected for a zero-value determination. Then, the animals are experimentally infected. The optimal route and inoculum dose are determined in an infection study with this inoculum (Appendix 1). Also, at that time point, a group of animals that did not receive the compound will also be infected, and will act as untreated controls in the study. Typically, after infection of the animals, swabs and blood will be collected daily for a period of maximally 14 days to monitor the progress of the viral infection and to control for changes in clinical chemistry and hematology parameters. This intensive sampling is necessary because in this period significant and rapid changes in the amount of virus in the blood may occur in untreated animals. During this period of daily sampling the animals will be given liquid foods by means of a ~~p-obe~~ stomach tube because the daily anesthesia necessitates fasting of the animals. In this way, the wellbeing of the animals is affected as little as possible. After this period, the frequency of sample collection will be brought down to maximally once every two days. After the untreated control animals have become virus-negative in the PCR for the first time, the groups may be followed for an extra period of 3-4 weeks to confirm absence of the virus and to monitor for sudden re-activations of virus replication in any of the animals. At the end of the study, maximally 6 weeks after the start, the animals will be humanely euthanized and necropsy will be performed for the collection of tissue samples for histopathological and virus tests. The animals will be monitored daily during the study period for general behaviour, appetite, faeces, etc., and at each time-point when the animals are sedated, body weight and will be measured. The application of X-ray or PET-CT scanning to measure lung infiltration will give us insight in the disease progression of the CoV infection, and how this is influenced by the antiviral compound. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood and swabs, and will thus not cause additional discomfort.

The setup of a therapeutic study:

The set-up of a therapeutic study using the antiviral compound is essentially similar to the prophylactic study. However, in such a study the animals are first infected and then treated with the antiviral compound.

The details of each study, regarding including the route of infection, dose used, number of animals used, will be submitted for approval to 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 number of animals will be based on statistical power analysis. Calculations account for the number of animals needed to measure statistically significant reduction in virus load in relation to untreated controls. In addition, calculations are performed to establish the number of animals needed to obtain a significant reduction in virus load in the trachea between the treated groups and the untreated control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in untreated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the control group than in the antiviral-treated groups.

B. The animals

heeft opmaak toegepast: Spelling en grammatica controleren, Markeren

Met opmaak: Uitvullen

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

The experiments will be performed in NHP (rhesus macaques, and/or cynomolgus macaques, ~~and/or marmosets (Callithrix jacchus)~~, adult, M/F, maximally n=100.

All NHP are purpose bred at our institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier. Both mature male and female animals can be used.

Rhesus macaques (*Macaca mulatta*), and cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*), ~~and marmosets (Callithrix jacchus)~~ are susceptible to an array of (emerging) human coronaviruses (5-9), and macaques have already been used in coronavirus antiviral research (1). The decision to use a specific NHP-macaque species will be based on currently ongoing infect studies with the recently emerged SARS-CoV-2, and studies already performed with SARS and MERS CoVs in NHP. The decision which species will be used, will be submitted for approval to the AWB.

heeft opmaak toegepast: Lettertype: Niet Cursief

The calculated number of animals assumes that each study will contain 1 treatment group and 1 control group, with max. 10 animals per group. The group size will be determined per experiment, and will be based on power calculations using reduction of virus load as primary outcome measure. ~~The group size will be determined per experiment, based on power calculation specific for the experiment.~~ As stated above, probably fewer animals will be needed in the non-vaccinated challenge control groups. In all, we anticipate performing 5 such studies over a 5-year period with 5 x 20 = maximally 100 animals. ~~Since historical data are available on infection in untreated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the non-treated control group than in the groups treated with antiviral compound.~~

References:

1. Falzarano, D., de Wit, E., Rasmussen, A. L., Feldmann, F., Okumura, A., Scott, D. P., et al. (2013). Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nature Medicine*, 19(10), 1313-1317.
2. Haagmans, B. L., Kuiken, T., Martina, B. E., Fouchier, R. A. M., Rimmelzwaan, G. F., van Amerongen, G., et al. (2004). Pegylated interferon- α protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. *Nature Medicine*, 10(3), 290-293.
3. Sheahan, T. P., Sims, A. C., Graham, R. L., Menachery, V. D., Gralinski, L. E., Case, J. B., et al. (2017). Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Science Translational Medicine*, 9(396), eaal3653.
4. Tang, Q., Li, B., Woodle, M., & Lu, P. Y. (2008). Application of siRNA against SARS in the rhesus macaque model. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 442, 139-158.
5. Totura, A. L., & Bavari, S. (2019). Broad-spectrum coronavirus antiviral drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 14(4), 397-412.
6. Gong, S.-R., & Bao, L.-L. (2018). The battle against SARS and MERS coronaviruses: Reservoirs and Animal Models. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(2), 125-133.
7. Sutton, T. C., & Subbarao, K. (2015). Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*, 479-480, 247-258.
8. Yu, P., Xu, Y., Deng, W., Bao, L., Huang, L., Xu, Y., et al. (2017). Comparative pathology of rhesus macaque and common marmoset animal models with Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS One*, 12(2), e0172093.
9. Greenough, T. C., Carville, A., Coderre, J., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., & Mansfield, K. (2005). Pneumonitis and multi-organ system disease in common marmosets (*Callithrix jacchus*) infected with the severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. *The American Journal of Pathology*, 167(2), 455-463.

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

heeft opmaak toegepast: Engels (Verenigde Staten)

Will the animals be re-used?
<input type="checkbox"/> No, continue with question D.
X Yes > Explain why re-use is considered acceptable for this animal procedure.
Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous experiments. Animals that have been involved in previous CoV studies or that have pre-existing antibodies against CoVs are not suitable because of possible immunological cross-reactivity between the different CoVs. In view of the long life of the animals of this species reuse of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.
Are the previous or proposed animal procedures classified as 'severe'?
X No
<input type="checkbox"/> 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.
Replacement Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use.
Reduction This study involves the efficacy testing of antiviral compounds in the CoV infection model in NHP. Because the variability in viral replication kinetics in the NHP will only become available after the completion of the infection studies, the exact number of animals to be used in the studies cannot be provided at this point. Under A we have described the statistical analyses that will be performed on basis of the infection studies. Only the minimum number of animals needed will be used. If possible, studies will be combined. In such a case, one control group will suffice and the total number of animals will be reduced.
Refinement Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered when the animals are daily sedated for blood sampling. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Infection and bleeding take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive biotechnological actions such as giving anaesthesia or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum. The use of telemetric temperature recording/transponder-devicesensors makes it possible to record the body temperature 24/7, and to monitor the body temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induced on caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in temperature-fever by some vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature devices-sensor will require a small surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required. The use of imaging (X-ray or PET-CT scan) will provide us with data regarding lung pathology.
Explain what measures will be taken to minimise 1) animal suffering, pain or fear and 2) adverse effects on the environment.

Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relieve the pain, if necessary.

During the first 2 weeks of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as primary indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

The studies will be performed according to the Dutch laws, and will cause no adverse effects on the environment.

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.

Not applicable

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.

G. Location where the animal 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.

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

After placing the telemetric temperature sensor in the abdomen, the animals will receive analgesics for as long as necessary, typically 3 days. In previous studies we have observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature recording device, but have recovered very well within 1 week after the operation. In case of symptoms caused by CoV infection, this can result in pain. For this purpose, oral or parenteral analgesia will be administered after consultation with the veterinarian.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Discomfort because of insertion of the telemetric temperature sensor.
2. Discomfort due to compound and food administration via gavage
3. Discomfort due to lung lavages
- 1-4. Discomfort due to virus inoculation
- 2-5. Stress because of sedation
6. Reduced food intake due to repeated daily sedations
- 3-7. Disease symptoms due to the infection

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 9 pt

Explain why these effects may emerge.

1. The surgery needed for insert on of the telemetric temperature sensor will cause pain and some local inflammation.
2. Insertion of the tube may cause local irritation
3. For the lung lavages a bronchoscope is used. Insert on will cause irritation
- 1-4. Intradermal-intravenous inoculation can cause mild irritation. When virus is given intrabronchially a bronchoscope is used and this will cause irritation.
- 2-5. Animals will be repeatedly sedated for blood sampling and virus inoculation. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation.
6. Animals will be sedated daily during the first phase of the infection. This will have influence of the appetite
7. Coronavirus infections can cause fever, coughing, sneezing, nose discharge, laboured breathing, loss of appetite, loss of weight, inactivity.

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 9 pt

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 9 pt

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

1. Surgery will be done under anaesthesia and after surgery analgesics will be applied.
2. Insertion of the tube will be done by experience caretakers. In case irritation occurs, this will be mild and no extra measures need to be taken
3. For the lung lavages animals are first deeply sedated and receive a muscle relaxant.
- 1-4. If irritation occurs, this will be mild. It will therefore not be necessary to take additional measures.
4. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
5. Animals will receive tube feeding via gavage. This is applied during sedation for blood collection.
7. Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized and a full necropsy will be performed to establish the cause of the disease and viral distribution over the respiratory organs

Met opmaak: Inspringing: Links: 0,85 cm, Geen opsommingstekens of nummering

Met opmaak: Inspringing: Links: 0,16 cm

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 9 pt

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 9 pt

Met opmaak: Inspringing: Links: 0,16 cm, Genummerd + Niveau: 1 + Nummeringstijl: 1, 2, 3, ... + Beginnen bij: 1 + Uitlijning: Links + Uitgelijnd op: 0,63 cm + Inspringen op: 1,27 cm

Met opmaak: Inspringing: Links: 0,16 cm

Met opmaak: Inspringing: Links: 0,16 cm, Genummerd + Niveau: 1 + Nummeringstijl: 1, 2, 3, ... + Beginnen bij: 1 + Uitlijning: Links + Uitgelijnd op: 0,63 cm + Inspringen op: 1,27 cm

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 9 pt

Met opmaak: Inspringing: Links: 0,16 cm

heeft opmaak toegepast: Lettertype: 10 pt

Met opmaak: Inspringing: Links: 1,27 cm, Geen opsommingstekens of nummering

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.

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

Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are: open mouth breathing or cyanosis, lethargy as defined by minimal response to human approach.

Indicate the likely incidence.

After CoV infection each animal may become seriously ill. Thus, the percentage is 100%

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').

Discomfort is caused by the implantation of the telemetric device temperature sensor. By using this device, the animals can be continuously monitored for body temperature. In combination with frequent observations by animal caretakers, this will facilitate the appropriate intervention by veterinarians at the earliest time-point, and will preclude progression to serious disease that may be caused by coronavirus infection. Therefore, the cumulative discomfort will be moderate

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

Animals will be euthanized in case they show signs of disease symptoms in order to avoid severe discomfort. To investigate the presence of virus in tissues and organs, and for the investigation of possible tissue damage caused by CoV or by the compounds, it is necessary to euthanize the animals at the end of the study

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.

X Yes

Van: Info-zbo
Aan: 10.2.e
Onderwerp: DEC-advies AVD 10.2.g
Datum: woensdag 4 maart 2020 16:22:05

Hoi 10.2.e

Er is een nieuwe DEC-advies binnen; AVD 10.2.g

Volgens mij is dit de corona aanvraag van het 10.2.g

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.

10.2.g

Date March 5, 2020

Our ref.2337/TK

Your letter



10.2.e



10.2.e

Subject AVD/10.2.g en AVD/10.2.g

34

Geachte leden van de CCD,

Bijgevoegd vind u twee protocollen:

AVD/10.2.g : Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections

AVD/10.2.g : BCG vaccinatie van pasgeboren resusapen voor de ontwikkeling van vaccins en verbeterde vaccinatiestrategieën tegen tuberculose.

Beide zijn naar aanleiding van de vragen van de DEC iets aangepast. Dit zijn de definitieve protocollen waarop de DEC een positief advies heeft gestuurd aan u.

10.2.e

Bijlage/Enclosure: 2

10.2.g

Overzicht van opmerkingen bij AdviesNotaCCD_MBa.pdf

Pagina: 1

Auteur: 10.2.e M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 13:58:32 +01'00' B-stuk? Primair, Bijzetting, spoedaanvraag?

Auteur: 10.2.e M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 13:48:13 +01'00' NIS heeft paar technische termen: fimoobinnendek, tekensite

Auteur: 10.2.e M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 13:46:57 +01'00' NIS combi Van acties 3.4 en 3.5 in 11.1

3.4 dieren worden ziek door de virusinfectie, daardoor hebben ze last van . en

3.5 Het ongerief zal niet boven matig uitkomen omdat dieren op tijd geëloofd worden voorat ze ernstig ziek worden

Auteur: 10.2.e M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 14:01:26 +01'00' dit kan in 11.1 maar in bijlage 3 gaan ze PK studies doen gaat 10.2.e

dermede of PK studies doen, 11.1

Advies aan CCD

Datum 09 maart 2020
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD

Instelling:
Onderzoeker:
Project:
Aanvraagnummer:
Betreft:
Categorieën:

10.2.g
10.2.g
10.2.e
10.2.e
AVD 10.2.e
Nieuwe aanvraag
Translaties of toepast onderzoek

1. Inzicht in aanvraag en de inhoudelijke knelpunten en risico's
Proces
De aanvraag is nog de volgende vraag gesteld:
In bijlagen 3.4.4.3 en 3.4.4.4 geeft u vijf manieren waarom andere diersoorten dan de aap niet bruikbaar zijn, maar u beschrijft niet waarom diersoorten alternatieven niet mogelijk zijn. Graag dit aanvullen.

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.3 Development of a coronavirus virus infection model in non-human primates	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	60	Dieren die niet voor onderzoek gefokt zijn zijnde menselijke primaten
3.4.4.2 Vaccine evaluation in non-human primates	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	130	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn niet menselijke primaten
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in non-human primates	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	48	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn niet menselijke primaten
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in non-human primates	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis	100	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn niet menselijke primaten

De noodzaak om deze experimenten in niet-humane primaten uit te voeren is als volgt onderbouwd (tabel 1):
 Onderzoek naar de werkzaamheid van coronavaccins kan in diverse dieren worden uitgevoerd. Alleen in de laatste fase van de vaccinontwikkeling, voorafgaand aan testen in de mens, is uitbaten in apen nodig omdat deze dieren het meest hun fysiologie en afweersysteem het meest op de mens lijken. Andere proefdieren, zoals knaagdieren zijn in deze fase van het onderzoek niet geschikt omdat deze virusen in muizen vaak niet een goede infectie geven en het bevestigen van afweersysteem op diverse punten afwijken van de mens. Daarom is in apen de kans het grootst dat eventuele onverwachte nadelige effecten alsnog opgespoord kunnen worden en een goede voorspelling gedaan kan worden het betreft werkzaamheid bij de mens.

Due to the complex interaction of coronaviruses with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of a CoV-vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. Several animal species have been used to study infection of emerging coronaviruses, like SARS and MERS (3.6.7). However, NHP have the

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

advantage that their immune system most closely resembles that of humans. In addition, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in control of infection. These aspects are essential for the evaluation of vaccines, especially for vaccines designed to protect to a range of CoVs. The latter type of 'universal' CoV vaccines will aim for the induction of cross-protective cellular immune responses or induction of broadly cross-neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start.

Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use.

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uringen nodig zijn. Het betreft onderzoek met niet-humane primaten.

2 DEC advies DEC-advies

Citaat C9 (gebruik NHP): De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens tezamen met de bewezen gevoeligheid van deze diersoort voor (andere) coronavirussen. Daarom is te verwachten dat makaken een geschikt diermodel zullen zijn en dat resultaten uit dit onderzoek goed voorspellend zijn voor therapeutische effecten bij de mens. Dergelijke kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn vooraf onderzocht op werkzaamheid en veiligheid in andere modellen (in vitro/ in andere diersoorten) maar deze kunnen onvoldoende modelleren voor de mens (niet name de agens/gastheerinteractie en de immunresponsen).

dieren is correct als magtig ingezacht. Het ongerief voor de dieren uit bijlage 1, 2 en 4 zal vooral veroorzaakt worden door plaatsen van een meetinstrument in de buikholte en ziele symptomen van de besmetting met Coronavirus. Dieren zullen na infectie met het virus minstens twee keer per dag nauwlettend gemonitord worden, zullen klinische kenmerken geobserveerd worden, en daarnaast beschikken de onderzoekers over de continue metingen van de lichaamstemperatuur. Dit alles maakt het mogelijk om dieren vroegtijdig uit de studie te halen zodra de symptomen verspreiden en/of het humane eindpunt is bereikt. Het ongerief voor dieren uit bijlage 3 wordt voornamelijk veroorzaakt door frequente sedaties en bloedafnames.

Claas C3 (hergebruik): Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.

Claas C14 (vervanging): In vitro technieken geven inzicht in alle relevante eigenschappen van een vaccin, zoals zuiverheid en stabiliteit. Vruwtweken worden ook gebruikt om een eerste inzicht te krijgen in de antivirale werking van geneesmiddelen. Met in vitro technieken kan echter niet aangetoond worden of er een immuunrespons optreedt, of dat een vaccin beschermt tegen infectie met het virus. Ook de interactie tussen virus en gastheer kan alleen bestudeerd worden in vivo. Met onderzoek in andere diersoorten kan de mate van immunrespons van kandidaat vaccins worden geanalyseerd, hetgeen van belang is bij het ontwikkelen van vaccin-formuleringen. Voor het onderzoek naar nieuwe vaccins/antivirale middelen tegen Coronavirus is het gebruik van NHP nodig. Niet-humane primaten vertonen op immunologisch en fysiologisch gebied de grootste overeenkomst met de mens en de verwachting is dat de Coronavirus infectie in deze dieren sterk vergelijkbaar verloopt met die in de mens. Hierdoor zal het testen van vaccins/antivirale middelen tegen Coronavirus in niet-humane primaten een grotere voorlopige waarde voor effectiviteit en veiligheid bij de mens hebben dan in andere diersoorten.



Ethische afweging van de DEC:

Claas:
1. Rechtvaardigt het opzetten van een infectiemodel voor Coronavirussen en het testen van nieuwe vaccins en geneesmiddelen hierogen het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan, en de aanpak van hun integriteit? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andere diersoorten, andere onderzoeksmethoden, of patiënten?

2. De waarde voor de maatschappij van nieuwe, effectieve vaccins en/of antivirale middelen is enorm, mede gelet op de huidige ontwikkelingen aangaande het SARS-CoV-2 virus epidemie (pandemie) en de sociale en economische gevolgen.

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Een deel van de dieren wordt geoperend om een telemetrisch apparaat in te brengen in de buikholte. Daarna worden

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

dieren geïmuneerd en/of geïnfecteerd met Coronavirus en worden ze eventueel behandeld met antivirale middelen. De wetsinsamting kan resulteren in pijn na de operatie, ongerief door bloedafnames en bijbehorende sedatie, en ziekteverschijnselen veroorzaakt door de infectie met Coronavirus (verwacht wordt dat die zullen lijken op die bij de mens). Dieren die aan Coronavirus worden blootgesteld zullen aan het eind van de studie worden geëuthanaseerd. Een ander deel van de dieren wordt gebruikt om de optimale dosering en toedieningsroute voor de antivirale middelen te bepalen. Het toedienen van geneesmiddel test de autonomie aan, evenals sedaties en bloedafnames. De wetsinsamting kan ook bestaan uit mogelijke bijwerkingen van het middel. Ongerief en lijden zullen zo veel mogelijk worden beperkt. Daarmee resulteert dit in maximaal matig ongerief voor de dieren.

De waarde voor het onderzoeksveld is het verkrijgen van meer inzicht in het verloop van Corona-infecties, mogelijke identificatie van virus reservoirs en identificatie van immunologische parameters die belangrijk zijn bij het ontwikkelen van nieuwe vaccins tegen Corona virussen. Ook de werkzaamheid van potentiële antivirale middelen wordt in dit project onderzocht. Voor het onderzoeksveld is van belang dat niet-humane primaten goed modelleren voor het infectieverloop en het immuunsysteem bij de mens en dat dit onderzoek bijdraagt aan extrapolatie naar de mens.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van nieuwe vaccins en/of antivirale middelen tegen Coronavirus. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moresel te verantwoorden.

3. De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving die worden geadresseerd in dit project zwaarder wegen dan de aantasting van de belangen/waarden van de betrokken proefdieren binnen dit project.

Het belang van de doelstelling wordt door de DEC onderschreven in het licht van de ernst van de aandoening, en de urgentie van de ontwikkeling van een nieuw vaccin en nieuwe geneesmiddelen tegen deze potentieel dodelijke infectieziekte. De doelstelling van dit project kan alleen met inzet van niet-humane primaten worden behaald.

De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar vaccins tegen vergelijkbare virussen in Java- en resusapen in dit instituut, en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. De verwachting is dat het infectiemodel met Coronavirus in makaken representatief zal zijn voor de humane infectie. De zeer grote fysiologische en immunologische

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

omstandigheden met de mens spelen in het testen van potentiële nieuwe vaccins tegen Coronavirus een belangrijke rol. De dieren zijn specifiek gekozen voor gebruik in onderzoek.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat.

De 3V-principes worden gehonoreerd door het minimale aantal dieren te gebruiken dat tot relevante uitkomsten van het experiment leidt. De resultaten met onderzoek naar deze agentia worden nauwkeurig bijgehouden en toegepast bij de opzet van deze modellen en proeven. Er is gekozen naar vervanging door andere diersoorten of in vitro experimenten; deze worden voorafgaand aan deze studies gebruikt voor de ontwikkeling van vaccins/geneesmiddelen maar onderzoek in NHP is nodig voordat klinische onderzoeken kunnen worden opgezet. Dit betekent ook dat alleen kandidaat geneesmiddelen en vaccins zullen worden getest die vooraf zijn geselecteerd en kansrijk zijn om daarna bij de mens te worden onderzocht. Verfijning wordt toegepast door dieren sociaal te huisvesten, gebruik te maken van temperatuursensoren, pijnbestrijding toe te passen wanneer nodig en de dieren niet onnodig te laten lijden.

Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt. Het ongerief is maximaal matig en wordt voornamelijk veroorzaakt door chirurgisch inbrengen van de telemetrische temperatuursensor en frequente sedaties. Humane eindpunten zijn goed gedefinieerd.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt. Het aantal dieren dat nodig is valt te rechtvaardigen.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij
- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd
De DEC heeft de aanvrager de volgende vragen gesteld: De noodzaak om

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

common marmosets nu in deze aanvraag op te nemen, gezien de goede mogelijkheden om een infectiemodel in makaken te verkrijgen. De te volgen strategie voor het opzetten van het infectiemodel in makaken en de go/no go beslissingen hierin. De te volgen strategie voor evaluatie van antivirale middelen en de go/no go beslissingen hierin. Aanvullende informatie betreffende de statistische onderbouwing voor het benodigd aantal dieren, de toepassing van X-ray en PET-CT en enkele tekstuele aanpassingen.

De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

Het DEC advies is Positief

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies

Het DEC advies is helder en navolbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld.

Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing.

De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.

4 Inhoudelijke beoordeling

Doelstelling

Citaat: The aim of this research project is to test the immunogenicity, efficacy, and absence of pathogenicity (safety) of novel coronavirus vaccines, and the pharmacokinetics, safety and efficacy of anti-viral compounds that are developed for use in humans in nonhuman primates (NHP). The main focus will be on coronavirus vaccines and antivirals that are designed to protect against infection with the recently emerged SARS-CoV-2.

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

Wetenschappelijke en maatschappelijk belang	<p>Chart: The ongoing outbreak of SARS-CoV-2, as well as the outbreaks of pathogenic SARS- and MERS-CoVs in the last two decades, have shown the urgency of developing vaccines and antiviral compounds against these emerging coronaviruses, but also points towards the need for preparedness for future outbreaks of yet unknown CoVs. Since beginning of January 2020, over 73.000 infections with SARS-CoV-2 have been reported, with a 2-2,5% case fatality rate (dd. 18-02-20). Human-to-human transmission of the virus, in combination with an asymptomatic period during which infected people can already spread the virus to others, likely guarantees further spreading of the epidemic. Because of this concern the World Health Organization declared the coronavirus outbreak a public-health emergency of international concern. The WHO put SARS and MERS on the 2018 list of priority diseases. For the first time WHO also included "Disease X" on this list. Disease X is a placeholder name given by the WHO for any new unknown pathogen that may cause disease and potentially an epidemic in the future. Clearly, SARS-CoV-2 has all these characteristics of Disease X, and as such can join the MERS- and SARS-CoVs on the list.</p> <p>For the listed agents, there is an urgent need for research and development of vaccines and antiviral treatments. Currently, several broad-spectrum antiviral compounds that were developed to combat other viral infections, are being used to treat patients. These compounds, like chloroquine and mefloquine, effectively inhibited SARS-CoV-2 replication in vitro (22). However, no data are available on the in vivo efficacy against SARS-CoV-2 infection (23). Also, experts doubt whether these compounds, specifically developed for other infectious diseases, will suffice to fight this coronavirus (24).</p> <p>As the main goal of this project is the evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronaviruses, with a focus on SARS-CoV-2, this project perfectly fits within the scope of the WHO strategy.</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>[Redacted]</p>
Wetenschappelijke kwaliteit aanvragen/onderzoeksgroep en onderzoek	<p>Chart uit DEC advies C7: De onderzoeksgroep heeft een ruime ervaring met virus infectiemodellen en vaccinaties in niet-humane primaten en het instituut heeft veel ervaring met het werken met niet-humane primaten.</p> <p>Het Secretariaat heeft [Redacted]</p>
3V's	<p>[Redacted]</p>
Vervanging	<p>[Redacted]</p>

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Several animal species have been used to study coronavirus infection (2-4,7-10). However, of these different species, NHP have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine evaluation (Appendix 2), as well as for the interaction with coronaviruses, since this is affected both by physiology and by the reaction of the innate and adaptive immune system. As explained in Appendix 2, these aspects are important for the evaluation for vaccines. The proper evaluation of these vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here.</p>	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The immune system is very complex and the in vivo interactions between virus and/or vaccine and host are not completely understood. At present there is no in vitro model available that can mimic the human immune system sufficiently to study the potential of a vaccine to induce protective immune responses. Due to the complex interaction of coronaviruses with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of a CoV-vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. Several animal species have been used to study infection of emerging coronaviruses, like SARS and MERS (3,6,7). However, NHP have the advantage that their immune system most closely resembles that of humans. In addition, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in control of infection. These aspects are essential for the evaluation of vaccines, especially for vaccines designed to protect to a range of CoVs. The latter type of 'universal' CoV vaccines will aim for the induction of broadly cross-protective cellular immune responses or induction of broadly cross-neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start.</p>
--	--

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: All compounds have been tested extensively for efficacy and toxicity in vitro assays. Also, in vivo toxicity studies have been performed in rodents. Only when no side effects or signs of toxicity are found in the rodent model, and if no other suitable animal model for anti-coronavirus compound testing is available, the compounds will be evaluated in nonhuman primates.</p>	<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat: Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use.</p>
<p>Vermindere</p> <p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Based on the extensive experience with other viral infection models within the institute where this research will be performed, it is expected that four animals per test group are sufficient in order to determine whether a suitable infection model has been achieved and to perform a power calculation to determine the number of animals needed in a vaccine or antiviral compound evaluation study. In case the criteria, as outlined under A are not met, a second experiment may be needed with another dose or in another NHP species. On the basis of the outcome of the first study the number of animals needed in follow up experiments can be calculated and less animals may be needed. Only the minimum number of animals needed, will be used. Currently, no (published) data are available on the infection of NHP with this new coronavirus. However, it can be expected that such data become available in due time. If possible, these data will be used, and may result in the use of less animals</p>	

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant reduction in virus load in the trachea between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups.</p>
	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: In this animal procedure, the pharmacokinetic profile of anti-CoV compounds is determined in NHP, before their use in antiviral compound efficacy testing in the same animal species. A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile of the compounds in blood of macaques. This group size allows us insight in the variance between the individual animals, and at the same time allows us to identify possible outliers. The number of animals needed will be kept to a minimum by testing of different dosages of a compound, successively administered to the same animal.</p>
<p>Verfijnen</p>	<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat: This study involves the efficacy testing of antiviral compounds in the CoV infection model in NHP. Because the variability in viral replication kinetics in the NHP will only become available after the completion of the infection studies, the exact number of animals to be used in the studies cannot be provided at this point. Under A we have described the statistical analyses that will be performed on basis of the infection studies. Only the minimum number of animals needed will be used. If possible, studies will be combined. In such a case, one control group will suffice and the total number of animals will be reduced.</p>
	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: The use of telemetric temperature sensor makes it possible to continuously record the temperature during the study-period. For our studies with the H1N1 influenza virus, we have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection using this method (6). In influenza studies, a significant reduction in fever by some of the vaccine candidates was observed (5). This method will also be applied in this project. Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor for body temperature measurement will require surgery, which will</p>

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

be done under anaesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. Animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive procedures, such as receiving the sedation. The application of X-ray or PET-CT scanning to measure lung infiltration will give us insight in the disease progression of the CoV infection. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood and swabs, and will thus not cause additional discomfort.

Citfaat: Animals will be socially housed with a socially compatible cage mate. There is an extensive program for enrichment in our institute that consists of playing material and methods to present food. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. During the infection animals will be observed twice daily and clinical symptoms will be scored using a well-established clinical scoring list adapted from Brining et al. (1; see below). On the basis of the scoring system a clinical endpoint is defined. When this endpoint is reached the animal will be immediately euthanized and a necropsy will be performed to determine the cause of disease. All procedures will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the first days of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as an indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record and monitor the temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in temperature by some of the vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensors will require surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required, typically 3 days. Animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handling, such as receiving the sedation. The application of X-ray or PET-CT scan to measure lung infiltration will give us a insight in the disease progression of the CoV infection. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood an swabs, and will thus not cause additional discomfort.</p> <p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via a gavage) when the animals are daily sedated for blood sampling or compound administration. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Compound administration and blood sampling take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive actions such as giving anaesthesia or compound administration. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.</p> <p>Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. All handling will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the period that an animal is bled daily, the animal will receive tube feeding. This is necessary, because animals have to fast the night before the sedation and since animals will be sedated daily after infection the food intake during this period would otherwise be very limited.</p>
--	---

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat:

Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered when the animals are daily sedated for blood sampling. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Infection and bleeding take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive biotechnological actions such as giving anaesthesia or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.

The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record the body temperature 24/7, and to monitor the body temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in fever by some vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor will require a small surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required. The use of imaging (X-ray or PET-CT scan) will provide us with data regarding lung pathology.

Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relieve the pain, if necessary.

During the first 2 weeks of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as primary indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates:	
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: [REDACTED]	
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Bij vergelijking is wel uitgevoerd waarom de studie in primaten moet worden uitgevoerd, maar niet waarom een alternatief zonder dierproeven niet mogelijk is.	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Bij vergelijking is wel uitgevoerd waarom de studie in primaten moet worden uitgevoerd, maar niet waarom een alternatief zonder dierproeven niet mogelijk is.	
Hergabruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Cibact:	Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous procedures. Animals that have pre-existing antibodies against recently emerged coronaviruses are not suitable. In view of the long life of the animals of this species re-use of animals will take place within the limitations described in art. 1a of the Wet op de Dierproeven.
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Zie bijlage 3.4.4.1.	
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Zie bijlage 3.4.4.1.	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Zie bijlage 3.4.4.1.	
Itaan proef	Weten de dieren gebouwd?
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	Ja
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	Ja
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	Nee
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	Ja
	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	volgens de richtlijn.
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	volgens de richtlijn.

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

<p>Naam proef 3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates</p>	<p>HEP: 100%</p>	<p>Citaat: Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are respiratory problems (convulsive breathing, flank contraction) or lack of breathing, lethargy as defined by minimal response to human approach, and excessive loss of body weight of more than 15% in two days or 20% from the start of the infection.</p>
<p>Rhesusapen (Macaca mulatta)</p>	<p>Ongerief: 100,0% Matig</p>	
<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates</p>	<p>HEP: 100%</p>	<p>Zie bijlage 3.4.4.1.</p>
<p>Rhesusapen (Macaca mulatta)</p>	<p>Ongerief: 100,0% Matig</p>	
<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates</p>	<p>HEP: Worden niet verwacht</p>	
<p>Rhesusapen (Macaca mulatta)</p>	<p>Ongerief: 100,0% Matig</p>	
<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates</p>	<p>HEP: After CoV infection each animal may become seriously ill. Thus, the percentage is 100%</p>	<p>Citaat: Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are: open mouth breathing or cyanosis, lethargy as defined by minimal response to human approach.</p>
<p>Rhesusapen (Macaca mulatta)</p>	<p>Ongerief: 100,0% Matig</p>	<p>Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis, totaal 100 dieren.</p>

Auteur: 11.1.1 M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 14:05:39 +01'00'

waaronder: 11.1.1 7 in de tabel dieren staat: 11.1

It zou dit: 11.1

CITRAT Both these macaques (*Macaca mulatta*) and cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) have been shown to be susceptible to emerging coronaviruses like SARS and MERS (2-4 7-11) but their susceptibility for infection with the recently emerged SARS-CoV-2 is not yet known. Currently, the first macaque studies are ongoing in other research institutes and our choice for a specific macaque species will probably be based on the outcome of those studies. Both macaque species have been widely used in emerging coronavirus pathogenesis and vaccine research. Depending on the virus strain used, slight differences were seen in virus replication, clinical signs and pathology, indicating that both can be used in SARS-CoV-2 studies (4 9).

Auteur: 10.2.6 M1 Onderwerp: Marketing Datum: 10-3-2020 14:05:23 +01'00'

Auteur: 10.2.6 M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 13:55:09 +01'00'

Wat betreft de DCE en het Secretariaat is 11.1

Auteur: 10.2.6 M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 13:49:36 +01'00'

Omdat de gebruikelijke diersoort primataren betreft is een beoordeling achteraf vereist

Auteur: 10.2.6 M1 Onderwerp: Notitie Datum: 10-3-2020 13:50:59 +01'00'

Er is mogelijk sprake van hergebruik voor de dieren die als controle worden gebruikt en geen blootstelling aan het coronavirus

doormaakt

Opmærkingen van de aanvragers	
Maximale profiel	Opmærkingen
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis, totaal 60 dieren.
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis, totaal 150 dieren.
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis, totaal 100 dieren.

5 Samenstelling
Deze aanvraag heeft 11.1, het belang de strategie en de humane eindpunten om tot een besluit te komen.

De 3V's zijn over het algemeen 11.1. Echter, 11.1. De aanvrager is nog gevraagd dit aan te vullen.

Er is 11.1. De aanvragers weet nog niet welke macaken het best gebruikt kunnen worden voor de te gebruiken virussen, vandaar dat de aanvragers zowel de Java-esp als de rhesus-esp heeft aangevraagd.

6 Voorstel besluit incl. voorstel omfitehensiduur van de versummin

Deze pagina bevat geen opmerkingen.

11.1



7 Concept beschikking voor akkoord OGD

alternatieven nog in de bijlage 4.

Hopelijk geeft dit u voldoende duidelijkheid. Ik probeer u anders later nogmaals te bellen.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Van: Info-zbo

Verzonden: vrijdag 13 maart 2020 15:20

Aan: 10.2.e

CC: 10.2.e

Onderwerp: RE: Aanhouden AVD 10.2.g

Geachte 10.2.e

Dank u voor de reactie op de door de CCD gestelde vragen. Bij de beantwoording van de derde vraag mist een aanvulling op de vervangingsalternatieven voor bijlage 3.4.4.4. Graag deze nog aanvullen.

Ik heb hierover reeds telefonisch contact gehad met uw hoofd van de afdeling Virologie.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Namens:

Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

Postbus 93118 | 2509 AC | Den Haag

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

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

Verzonden: dinsdag 10 maart 2020 17:23

Aan: 10.2.e

CC: 10.2.e

Onderwerp: Aanhouden AVD 10.2.g

Geachte 10.2.e,

Op 21-02-2020 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections" met aanvraagnummer AVD 10.2.g. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In dit bericht leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Onduidelijkheden

- 1) In de NTS benoemt u enkele vaktermen, zoals farmacokinetiek en telemetrie. Graag deze termen uitleggen of vervangen.
- 2) In 3.4 van de NTS benoemt u dat de dieren ziek kunnen worden door de virusinfectie. Graag aanvullen welke symptomen de dieren mogelijk ondervinden.
- 3) In bijlagen 3.4.4.3 en 3.4.4.4 geeft u wel aan waarom andere diersoorten dan de aap niet bruikbaar zijn, maar u beschrijft niet waarom dierproefvrije alternatieven, zoals bijvoorbeeld in silico PK modelling in bijlage 3.4.4.3, niet mogelijk zijn. Graag dit aanvullen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van dit bericht op. U kunt dit aanleveren via NetFTP.

Uw aanvraag wordt besproken in de CCD vergadering van 13 maart. Wanneer besloten wordt tot vergunning van uw aanvraag, zou de vergunning eerder dan de door u aangevraagde 1 april kunnen ingaan. Kunt u het laten weten als een eerdere startdatum dan 1 april uw voorkeur heeft?

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

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

Met vriendelijke groet,
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

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

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

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.g



Van: info@zbo-ccd.nl
Aan: dec@10.2.g
Onderwerp: Verzoek aanvullende informatie projectvergunningaanvraag AVC10.2.g
Datum: dinsdag 10 maart 2020 17:24:53

Geachte DEC 10.2.g

Op 21-02-2020 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections' met aanvraagnummer AVD10.2.g.

Voor uw informatie, de volgende vragen zijn zojuist aan de aanvrager gesteld:

- 1) In de NTS benoemt u enkele vaktermen, zoals farmacokinetiek en telemetrie. Graag deze termen uitleggen of vervangen.
- 2) In 3.4 van de NTS benoemt u dat de dieren ziek kunnen worden door de virusinfectie. Graag aanvullen welke symptomen de dieren mogelijk ondervinden.
- 3) In bijlagen 3.4.4.3 en 3.4.4.4 geeft u wel aan waarom andere diersoorten dan de aap niet bruikbaar zijn, maar u beschrijft niet waarom dierproefvrije alternatieven, zoals bijvoorbeeld in silico PK modellering, niet mogelijk zijn. Graag dit aanvullen.

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

Met vriendelijke groet,
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

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

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

10.2.g


38

Date March 11, 2020

Our ref.2341/TK

Your letter

 10.2.e

 10.2.e

Subject AVD:10.2.g

Geachte leden van de Centrale Commissie Dierproeven,

Naar aanleiding van uw mail dd. 10 maart 2020 betreffende aanvullende informatie op onze aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ' evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections' stuur ik u hierbij onze reactie. In deze brief vindt u een puntsgewijze reactie op de door u gestelde vragen en/of opmerkingen. Tevens zijn de aangepaste versies van de NTS en Appendix 3 toegevoegd.

Ik hoop dat uw vragen naar tevredenheid zijn beantwoord en zie uw reactie met belangstelling tegemoet

10.2.e

Bijlage/Enclosure: 1

10.2.g



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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Onderzoek naar de werkzaamheid van vaccins en antivirale middelen tegen nieuwe coronavirussen
1.2 Looptijd van het project	01-04-2020 – 31-3-2025
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Coronavirus, vaccin, niet-humane primaten, werkzaamheid, antiviraal

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	<input type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek
	<input checked="" type="checkbox"/> X Translationeel of toegepast onderzoek
	<input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
<i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i>	<input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid
	<input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	<input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding
	<input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek
	<input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	In de afgelopen 20 jaar zijn er drie uitbraken geweest van nieuwe coronavirussen bij de mens. Het SARS-coronavirus dat in 2002-2003 opdook in China, het MERS-coronavirus dat in 2012 opdook in Saoedi-Arabië, en het virus dat in 2019 ernstige luchtweginfecties veroorzaakte in China. Dit laatste virus heeft de naam SARS-CoV-2 gekregen vanwege de grote genetische verwantschappen met het SARS-Coronavirus, terwijl de ziekte COVID-19 (Coronavirus disease 2019) genoemd wordt.
---	--

Alle drie de virussen zijn afkomstig van dieren (zgn. zoonose), en kunnen bij de mens zeer ernstige luchtweginfecties veroorzaken. De SARS uitbraak resulteerde in 8096 ziekenhuisopnames, waarvan 774 patiënten overleden (9.5%), terwijl van MERS 2499 ziektegevallen bekend zijn, met 861 doden als gevolg (34.5%). De huidige uitbraak van SARS-CoV-2 heeft al geleid tot 73.328 gevallen met 1.873 doden (2,5 %), en heeft zich al over 28 landen wereldwijd verspreid (dd. 18/2/2020). Vanwege de ernst van de uitbraak heeft de Wereldgezondheidsorganisatie deze coronavirus-uitbraak een volksgezondheidsprobleem van internationaal belang genoemd. Op dit ogenblik zijn er nog geen geregistreerde vaccins of antivirale middelen tegen coronavirussen. Momenteel worden enkele breed-spectrum antivirale middelen, ontwikkeld voor andere virale infecties, toegepast bij patiënten, maar hiervan zijn nog geen resultaten beschreven. In dit project zullen wij de beschermende werking van nieuw-ontwikkelde coronavirus-vaccins en antivirale middelen onderzoeken in een model voor coronavirusinfecties in apen

- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Vaccins en antivirale middelen die gericht zijn tegen het coronavirus dat in december 2019 in China een uitbraak onder mensen veroorzaakte, het SARS-CoV-2, zullen worden getest in dit project. Het grote doel is vaccins en antivirale middelen te ontwikkelen die bescherming kunnen bieden tegen verschillende bekende en nog onbekende coronavirussen. Afgaande op de recente coronavirus uitbraak, maar ook die van het SARS-coronavirus en het MERS-coronavirussen, kunnen dergelijke vaccins en antivirale middelen veel levens redden bij een toekomstige uitbraken van coronavirussen.
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?
- Maximaal 358 resusapen en/of Java apen
- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?
- De dieren ondervinden ongerief door biotechnische handelingen, en het plaatsen van een temperatuurtransponder in de buikholte. Daarnaast kunnen de dieren ziek worden door de virusinfectie. In studies met verwante coronavirussen kregen apen luchtweginfecties, gekenmerkt door kuchen en niezen
- 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?
- Door toepassing van een humaan eindpunt wordt de welzijnsaantasting beperkt tot matig.
- 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?
- De dieren die tijdens de studies worden geïnfecteerd met het SARS-CoV-2 virus worden aan het einde van het experiment geëuthanaseerd. Niet-geïnfecteerde kunnen deel blijven uitmaken van de experimentele kolonie op het instituut en worden hergebruikt voor ander onderzoek.

4 Drie V's

- 4.1 **Vervanging**
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig
- Het is nog niet mogelijk om de beschermende werking van vaccins en de werkzaamheid van antivirale middelen te bepalen zonder gebruik van proefdieren. Het afweersysteem is dermate ingewikkeld dat de

is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

beschermende werking van een vaccin tegen coronavirusinfectie nog niet in het laboratorium kan worden nagebootst. Vanwege hun grote immunologische overeenkomsten met de mens zijn apen het meest geschikt voor dit vaccinonderzoek. De grote gelijkenis in metabolisme, en fysiologie met dat van de mens maakt hen ook het meest geschikt voor het onderzoek naar de veiligheid en werkzaamheid van antivirale middelen voordat deze in klinische studies in de mens worden getest.

4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Alleen vaccinkandidaten en antivirale middelen die eerst in andere proefdiersoorten veilig en veelbelovend zijn getest zullen in apen worden getest op hun werkzaamheid. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statistische analyses. Waar mogelijk zullen meerdere vaccins of middelen tegelijk getest worden, waardoor maar één controlegroep nodig is. Bij vaccins wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering: als het vaccin geen immuunreactie opwekt, of als het nadelige invloed heeft op de gezondheid van de dieren, zal niet worden overgegaan op het infecteren met coronavirus. In farmacokinetiek studies voor antivirale middelen zal worden onderzocht hoe lang een stof aanwezig en werkzaam blijft in het lichaam. In deze studies zullen meerdere doseringen worden getest in hetzelfde dier, waardoor het totale aantal dieren in deze studies zo beperkt mogelijk zal zijn. In de effectiviteitsstudies wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering. Na de eerste fase vindt statistische analyse plaats van de tot dan toe bereikte resultaten. Op basis van deze analyse wordt dan besloten om wel of niet door te gaan

4.3 Verfijning

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersmodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Onderzoek naar de werkzaamheid van coronavirusvaccins kan in diverse dieren worden uitgevoerd. Alleen in de laatste fase van de vaccinontwikkeling, voorafgaan aan testen in de mens, is uittesten in apen nodig omdat deze dieren wat betreft hun fysiologie en afweersysteem het meest op de mens lijken. Andere proefdieren, zoals knaagdieren zijn in deze fase van het onderzoek niet geschikt omdat deze virussen in muizen vaak niet een goede infectie geven en wat betreft hun afweersysteem op diverse punten afwijken van de mens. Daarom is in apen de kans het grootst dat eventuele onverwachte nadelige effecten alsnog opgespoord kunnen worden en een goede voorspelling gedaan kan worden wat betreft werkzaamheid bij de mens. Telemetrie (draadloze meting met behulp van een sensor) zal worden gebruikt voor het continu meten de lichaamstemperatuur. Deze informatie wordt gebruikt om de ziekteprogressie te volgen en om tijdig in te grijpen om ongerief te voorkomen. Daarbij wordt een klinische scorelijst gebruikt om te bepalen of een dier een humaan eindpunt heeft bereikt.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De verwachte ziekteverschijnselen zijn te vergelijken met een luchtweginfectie. De dieren worden intensief geobserveerd zodat wanneer ziekteverschijnselen optreden zeer snel actie kan worden ondernomen. Alle biotechnische handelingen worden uitgevoerd onder verdoving. Waar nodig wordt pijnstilling gegeven. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan de toediening van de verdoving. Om de dieren zo veel mogelijk natuurlijk gedrag te laten vertonen is op het onderzoeksinstituut een uitgebreid programma voor diertraining en kooiverrijking opgezet.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



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.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

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

10.2.g

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
3	Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

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.

In order to evaluate the efficacy of an antiviral compound in an NHP model for CoV infection the pharmacokinetics of the compound it may be necessary to test different dosages in order to determine the effective compound concentration in plasma, after administration (the 'bioavailability'). If the results of such a PK study are positive, then, studies are planned to test the efficacy of the compound in macaques for use as a therapeutic drug (Appendix 4).

In general, the study set-up is as follows: a group of animals will receive the compound in different doses. Typically, one group of animals will be intravenously given the compound. This group will provide baseline data of the main PK parameter, like clearance of compound from the body, volume of distribution, and half-life of the compound. Then, experimental groups will receive the compound in different dosages. After administration, the animals will be bled at regular time points in order to determine the concentration of the compound in the blood.

The primary outcome parameters for the PK are:

1. the maximum concentration of the active compound in plasma, and
2. the total amount of the active compound in plasma in time

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

A typical PK study consists of groups of animals that are given the antiviral compound at different dosages and/or different routes of administration. One group will first receive the compound by intravenous bolus

in order to derive the main PK parameters (clearance, volume of distribution, half-life). The other groups will be given the compound at different dosages. The route of compound administration in the latter groups will depend on the antiviral compound, and will be done via intravenous administration, or orally by using a gavage. The used dosages will be calculated on basis of PK studies in other animal models. Typically, blood samples will be collected at regular time points until 24 h post-administration, and will then be performed daily until the end of the study (maximally 7 days post-administration).

The PK study may be designed as a study in which the animals are first given a low dose of compound. Then, after a wash-out period during which the compound is cleared from the body, the animals can be administered a second, higher dose of the compound, and blood will be collected at regular time points. Plasma from blood samples will then be analyzed for PK parameters.

As a follow-up to the single-dose PK study, animals may also receive antiviral compounds by repeated administration to determine if this prolonged bioavailability leads to either unwanted accumulation of the substance in the blood, or to an equally unwanted decrease because repeated-dosing influences the body metabolism. A prolonged bioavailability is essential when anti-CoV compounds are used as a prophylaxis, i.e. they should protect against CoV infection for a certain period. Essentially, blood sampling will be similar to a single-dose study, with multiple samplings the first day after administration, followed by daily blood collection until the next drug administration.

The details of each study, the number of animals, the route of administration, dose used, and the time points of blood sampling, will be submitted for approval to the AWB.

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

A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies in macaques, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile in blood of the compounds. This group size is sufficiently large to allow insight in the variance between the individual animals and allows us to identify possible outliers.

Block randomization will be used for the group composition. The animals will be randomly allocated to treatment groups according to a randomized block design based on the sex and weight of the animals.

B. The animals

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

The experiments will be performed in 48 nonhuman primates: rhesus macaques (*Macaca mulatta*) or cynomolgus macaques (*M. fascicularis*). All animals are purpose bred at our institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier. Both mature male and female animals can be used. In contrast to other animal species that are used in virus research, i.e. rodents, NHP have the advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans (1-5). As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This renders NHP an important preclinical animal model to investigate the pharmacokinetics of potential anti-CoV compounds for human use.

In a period of 5 years we expect to test a maximum of eight antiviral compounds. On basis of *in vitro* studies, and studies done in rodent models, a dosage range will be set that will then be evaluated in NHP. Typically, we plan to evaluate maximally five dosages for a compound in a single-dose PK study, given successively. The exact number of dosages that will be tested per compound will be decided per study, as this depends on the outcomes from *in vitro* studies and studies in rodents, as well as on experience from studies with related compounds.

In the single-dose PK study, 2 groups of 3 animals (total 6 animals) will receive 3 different dosages of the drug, as described in section A. Per compound we will test 6 different dosages (5 dosages+ 1 standard control dose given) in 2 groups of 3 animals = 6 animals per compound. Then, for each compound, a repeated-dose administration study is planned with a group of 3 animals. These animals

will be selected from the group of animals already used in the single-dose PK study. Thus, for each compound we plan to use 6 animals.

Over a 5-year period, we plan to test 8 compounds x 6 = 48 animals.

The exact design of the study, including the NHP species used, and number of dosages, will be submitted for approval to the AWB.

References

1. Itoh, Y. (2016). Translational research on influenza virus infection using a nonhuman primate model. *Pathology International*, 66, 132-141.
2. Clemons, D.J., Meador, V., Weinbauer, G.F., and Wakefield, G.A. (2012) Safety and Efficacy Evaluation Using Nonhuman Primates. In: *Nonhuman Primates in Biomedical Research vol.2* Academic Press
3. Chih-Ming, L., Faggioni, R., and Roskos, L.K. (2015) Pharmacokinetics of human therapeutics characterized in nonhuman primates. In: *The Nonhuman Primate in Nonclinical Drug Development and Safety Assessment*. Academic Press
4. Chan, J. F.-W., Yao, Y., Yeung, M.-L., Deng, W., Bao, L., Jia, L., et al. (2015). Treatment With Lopinavir/Ritonavir or Interferon-β1b Improves Outcome of MERS-CoV Infection in a Nonhuman Primate Model of Common Marmoset. *Journal of Infectious Diseases*, 212(12).
5. Orsi, A., Rees, D., Andreini, I., Venturella, S., Cinelli, S., & Oberto, G. (2011). Regulatory Toxicology and Pharmacology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 59(1), 19-27.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous experiments. In view of the long life of the animals of this species reuse of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.

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

X 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.

All compounds have been tested extensively for efficacy and toxicity in *in vitro* assays. If possible, *in silico* modeling of the pharmacokinetics will be applied. (Rajoli 2015). This computer-simulation may result in a drastic decrease of the number of animals necessary, or even make *in vivo* studies superfluous. It is not yet known which antivirals will be investigated, and if *in silico* modeling is achievable for all compounds, but before *in vivo* PK studies will be performed, all other options, including *in silico* PK, will be investigated and the results will be presented to the AWB.

In cases that *in silico* PK modeling is not feasible, *in vivo* toxicity studies will be performed in rodents. Then, only when no side effects or signs of toxicity are found in the rodent model, and if no other suitable animal model for anti-coronavirus compound testing is available, the compounds will be evaluated in nonhuman primates. In this animal procedure, the pharmacokinetic profile of anti-CoV compounds is

determined in NHP, before their use in antiviral compound efficacy testing in the same animal species. A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile of the compounds in blood of macaques. This group size allows us insight in the variance between the individual animals, and at the same time allows us to identify possible outliers. The number of animals needed will be kept to a minimum by testing of different dosages of a compound, successively administered to the same animal.

Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via a gavage) when the animals are daily sedated for blood sampling or compound administration. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Compound administration and blood sampling take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive actions such as giving anaesthesia or compound administration. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.

Reference:

Rajoli RKR, Back DJ, Rannard S, *et al.* In Silico Dose Prediction for Long-Acting Rilpivirine and Cabotegravir Administration to Children and Adolescents. *Clin Pharmacokinet.* 2018;57(2):255–266. doi:10.1007/s40262-017-0557-x

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

For the PK studies using anti-CoV compounds, no safety and/or environmental risks can be envisioned. All compounds have been evaluated *in silico*, or tested *in vitro* and *in vivo in rodents* for their potential to inhibit CoV virus, but also for presence/absence of toxicity, before their evaluation in nonhuman primates.

Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. All handlings will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the period that an animal is bled daily, the animal will receive tube feeding. This is necessary, because animals have to fast the night before the sedation and since animals will be sedated daily after infection the food intake during this period would otherwise be very limited. The studies will be performed according to Dutch laws, and it is not expected that the experiments will have adverse effects on the environment

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.

Not applicable

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.

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.

In case an animal suffers pain, oral or parenteral analgesia may be administered after consultation with the veterinarian.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Stress because of recovery from sedation
2. Reduced food intake due to repeated daily sedations for blood collection and compound administration
3. Discomfort due to administration of compound and food via gavage

Explain why these effects may emerge.

1. Animals will be repeatedly sedated for blood sampling and compound administration. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation.
2. Animals will be sedated daily during the PK study for blood collection. Therefore, the animals will have to fast during that period.
3. Insertion of the tube may cause local irritation

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

1. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
2. Animals will receive tube feeding via gavage. This is applied during sedation.
3. Insertion of the feeding tube will be done by experience caretakers. In case irritation occurs, this will be mild and no extra measures need to be taken

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.

It is not expected that animals will reach a humane endpoint due to the PK study. However, through intensive monitoring of the animals, deviations in behavior, appetite etc. will be noted quickly. In addition, the animals are weighed at each blood collection. A major weight loss of > 20% relative to the

weight at the start of the study is seen as humane endpoint. In case an animal is seriously ill, as judged by the veterinarian, it will be humanely euthanized.

Indicate the likely incidence.

it is not expected that the animals reach the humane endpoint criteria. Therefore, the percentage is zero.

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 cumulative discomfort is estimated as moderate. This is mainly caused by the daily sedations after compound administration, or potential side-effects caused by the compound.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

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

Onduidelijkheden

1. In de NTS benoemt u enkele vaktermen, zoals farmacokinetiek en telemetrie. Graag deze termen uitleggen of vervangen.

Re: Ik heb met wat aanpassingen in de tekst van de NTS deze termen verduidelijkt.

De zin 'In de farmacokinetiek studies voor antivirale middelen zullen meerdere doseringen worden getest in hetzelfde dier, waardoor het totale aantal dieren in deze studies zo beperkt mogelijk zal zijn', is vervangen door 'In farmacokinetiek studies voor antivirale middelen zal worden onderzocht hoe lang een stof aanwezig en werkzaam blijft in het lichaam. In deze studies zullen meerdere doseringen worden getest in hetzelfde dier, waardoor het totale aantal dieren in deze studies zo beperkt mogelijk zal zijn.'

De zin 'Telemetrie zal worden gebruikt voor het continu meten de lichaamstemperatuur' is vervangen door: 'Telemetrie (draadloze meting met behulp van een sensor) zal worden gebruikt voor het continu meten de lichaamstemperatuur'

2. In 3.4 van de NTS benoemt u dat de dieren ziek kunnen worden door de virusinfectie. Graag aanvullen welke symptomen de dieren mogelijk ondervinden.

Re: In de NTS is een extra zin toegevoegd: In studies met verwante coronavirussen kregen apen luchtweginfecties, gekenmerkt door kuchen en niezen.

3. In bijlagen 3.4.4.3 en 3.4.4.4 geeft u wel aan waarom andere diersoorten dan de aap niet bruikbaar zijn, maar u beschrijft niet waarom dierproefvrije alternatieven, zoals bijvoorbeeld *in silico* PK modellering in bijlage 3.4.4.3, niet mogelijk zijn. Graag dit aanvullen.

Re: Het gebruik van proefdiervrije technieken voor PK analyse heeft ook onze voorkeur. Echter, het is nog niet bekend welke antivirale stoffen zullen worden getest, en of *in silico* simulatie van PK met al deze stoffen mogelijk is. In bijlage 3, onder D, Replacement, Reduction, Refinement, is de tekst op 2 plaatsen aangepast, met toevoeging van een referentie.

In het eerste deel van de tekst staat nu:

"All compounds have been tested extensively for efficacy and toxicity in *in vitro* assays. If possible, *in silico* modeling of the pharmacokinetics will be applied. (Rajoli 2015). This computer-simulation may result in a drastic decrease of the number of animals necessary, or even make *in vivo* studies superfluous. It is not yet known which antivirals will be investigated, and if *in silico* modeling is achievable for all compounds, but before *in vivo* PK studies will be performed, all other options, including *in silico* PK, will be investigated and the results will be presented to the AWB.

In cases that *in silico* PK modeling is not feasible, *in vivo* toxicity studies will be performed in rodents. Then, only when no side effects or signs of toxicity are found in the rodent model, and if no other suitable animal model for anti-coronavirus compound testing is available, the compounds will be evaluated in nonhuman primates".

In het tweede deel van de tekst staat nu:

"All compounds have been evaluated *in silico*, or tested *in vitro* and *in vivo* in rodents for their potential to inhibit CoV virus"

Van: 10.2.e
Aan: Info-zbo; 10.2.e
Onderwerp: Re: Aanhouden AVD 10.2.g
Datum: maandag 16 maart 2020 11:55:26
Bijlagen: image001.png
 AVD 10.2.g Appendix 4 herzien 2020-16-02.pdf

Beste 10.2.e

Ik begrijp het nu. Ik ging uit dat het alleen om de bijlage over PK studies handelde, maar ook over de efficacy studies. Ik heb het stukje onder D (vervanging) aangepast met een alinea over in silico testing:

'Before compounds are evaluated for its efficacy in NHP, they have been tested extensively for efficacy and toxicity in *in vitro* assays. If possible, *in silico* modeling of the pharmacokinetics has been applied. (Rajoli 2015). This computer-simulation may result in a drastic decrease of the number of animals necessary, or even make *in vivo* PK studies superfluous. It is not yet known which antivirals will be investigated, and if *in silico* modeling is achievable for all compounds, but before *in vivo* PK studies will be performed, all other options, including *in silico* PK, will be investigated and the results will be presented to the AWB. Only if a compound is positively tested, it will be examined for its efficacy against CoV infection in NHP.'

Ik hoop dat dit voldoende is? Ik heb een .pdf toegevoegd aan deze mail en zal ook 10.2.e vragen deze via de officiële weg naar de CCD te sturen.

Met vriendelijke groet en dank voor de voorspoedige afwikkeling van deze aanvraag,

10.2.e

10.2.g

10.2.e www.10.2.g

Van: Info-zbo

Datum: maandag 16 maart 2020 om 11:08

Aan: '10.2.e'

CC: '10.2.e'

Onderwerp: RE: Aanhouden AVD 10.2.g

Geachte heer 10.2.e

Ik begreep van mijn collega dat het u niet helemaal duidelijk was over welke bijlage de gestelde vraag gaat. Ik krijg u momenteel niet te pakken, mogelijk zijn de lijnen overbelast vanwege het vele thuiswerken momenteel.

Het betreft dus vraag D van deze appendix:

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure. Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

10.2.g

Serial number

Type of animal procedure

4

CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates

In uw eerdere antwoord heeft u wel bijlage 3 aangepast, maar mist de onderbouwing voor vervanging door dierproefvrije



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.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

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

10.2.g

- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.

- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
4	CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates

Use the serial numbers provided in Section 3.4.4 of the Project Proposal form.

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.

In order to evaluate the use of antiviral compounds to prevent or treat CoV infection, we will use the following general study set-up for a therapeutic treatment: a group of animals will be experimentally infected with CoV (Appendix 1). Then, the animals will be administered the compound, and nasal and tracheal swab samples are collected at regular time points to determine if the virus load is influenced by the therapeutic administration of the compound. A group of animals will not receive the compound, and will be used as controls. During the study, nasal and tracheal swabs are collected at regular time points and tested for the presence or absence of virus.

The primary outcome parameter for antiviral efficacy will be the reduction of viral load in nasal and tracheal swabs.

Secondary outcome parameters for CoV infection that may be evaluated are:

1. Absence or reduction of fever caused by CoV infection
2. Absence or reduction of clinical symptoms caused by CoV infection
3. Absence or reduction of lung pathology caused by CoV infection

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

A telemetric temperature sensor is surgically placed in the abdominal cavity at least 4 weeks before the first compound administration takes place (prophylactic treatment), or before experimental infection (therapeutic treatment). This timeframe is necessary for full recovery of the animals from the surgery, and

to allow adequate body temperature recording during a two to three-week period to establish normal values before the administration/infection start.

Antiviral study set up:

At the start of the study, the animals will experimentally be infected. The optimal route and inoculum dose are determined in an infection study with this inoculum (Appendix 1). At that same time point, a group of animals that will not receive the compound are also infected, and will act as untreated infection controls in the study. Next, the animals will receive the antiviral compound. The route of administration and the dosage to be used are based on PK studies with this compound performed in NHP (Appendix 3), or are based on studies performed by collaborating institutes. At the same time blood is collected for a zero-value determination. Typically, after infection of the animals, swabs and blood will be collected daily for a period of maximally 14 days to monitor the progress of the viral infection and to control for changes in clinical chemistry and hematology parameters. This intensive sampling is necessary because in this period significant and rapid changes in the amount of virus in the blood may occur in untreated animals. During this period of daily sampling the animals will be given liquid foods by means of a stomach tube because the daily anesthesia necessitates fasting of the animals. In this way, the wellbeing of the animals is affected as little as possible. After this period, the frequency of sample collection will be brought down to maximally once every two days. After the untreated control animals have become virus-negative in the PCR for the first time, the groups may be followed for an extra period of 3-4 weeks to confirm absence of the virus and to monitor for sudden re-activations of virus replication in any of the animals. At the end of the study, maximally 6 weeks after the start, the animals will be humanely euthanized and necropsy will be performed for the collection of tissue samples for histopathological and virus tests. The animals will be monitored daily during the study period for general behaviour, appetite, faeces, etc., and at each time-point when the animals are sedated, body weight and will be measured. The application of X-ray or PET-CT scanning to measure lung infiltration will give us insight in the disease progression of the CoV infection, and how this is influenced by the antiviral compound. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood and swabs, and will thus not cause additional discomfort.

The details of each study, including the route of infection, dose used, number of animals used, will be submitted for approval to 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 number of animals will be based on statistical power analysis. Calculations account for the number of animals needed to measure statistically significant reduction in virus load in relation to untreated controls. In addition, calculations are performed to establish the number of animals needed to obtain a significant reduction in virus load in the trachea between the treated groups and the untreated control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in untreated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the control group than in the antiviral-treated groups.

B. The animals

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

The experiments will be performed in NHP (rhesus macaques, and/or cynomolgus macaques, adult, M/F, maximally n=100. All NHP are purpose bred at our institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier. Both mature male and female animals can be used.

Rhesus macaques (*Macaca mulatta*), and cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) are susceptible to an array of (emerging) human coronaviruses (5-9), and have already been used in coronavirus antiviral research (1-4). The decision to use a specific macaque species will be based on currently ongoing infection studies with the recently emerged SARS-CoV-2, and studies already performed with SARS and MERS CoVs in NHP. The decision which species will be used, will be submitted for approval to the AWB.

The calculated number of animals assumes that each study will contain 1 treatment group and 1 control group, with max. 10 animals per group. The group size will be determined per experiment, and will be based on power calculations using reduction of virus load as primary outcome measure. As stated above,

probably fewer animals will be needed in the non-vaccinated challenge control groups. In all, we anticipate performing 5 such studies over a 5-year period with $5 \times 20 =$ maximally 100 animals. Since historical data are available on infection in untreated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the non-treated control group than in the groups treated with antiviral compound.

References:

1. Falzarano, D., de Wit, E., Rasmussen, A. L., Feldmann, F., Okumura, A., Scott, D. P., et al. (2013). Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nature Medicine*, 19(10), 1313–1317.
2. Haagmans, B. L., Kuiken, T., Martina, B. E., Fouchier, R. A. M., Rimmelzwaan, G. F., van Amerongen, G., et al. (2004). Pegylated interferon- α protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. *Nature Medicine*, 10(3), 290–293.
3. Sheahan, T. P., Sims, A. C., Graham, R. L., Menachery, V. D., Gralinski, L. E., Case, J. B., et al. (2017). Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Science Translational Medicine*, 9(396), eaal3653.
4. Tang, Q., Li, B., Woodle, M., & Lu, P. Y. (2008). Application of siRNA against SARS in the rhesus macaque model. *Methods in Molecular Biology (Clifton, NJ)*, 442, 139–158.
5. Totura, A. L., & Bavari, S. (2019). Broad-spectrum coronavirus antiviral drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 14(4), 397–412.
6. Gong, S.-R., & Bao, L.-L. (2018). The battle against SARS and MERS coronaviruses: Reservoirs and Animal Models. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(2), 125–133.
7. Sutton, T. C., & Subbarao, K. (2015). Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*, 479-480, 247–258.
8. Yu, P., Xu, Y., Deng, W., Bao, L., Huang, L., Xu, Y., et al. (2017). Comparative pathology of rhesus macaque and common marmoset animal models with Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS One*, 12(2), e0172093.
9. Greenough, T. C., Carville, A., Coderre, J., Somasundaran, M., Sullivan, J. L., Luzuriaga, K., & Mansfield, K. (2005). Pneumonitis and multi-organ system disease in common marmosets (*Callithrix jacchus*) infected with the severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. *The American Journal of Pathology*, 167(2), 455–463.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous experiments. Animals that have been involved in previous CoV studies or that have pre-existing antibodies against CoVs are not suitable because of possible immunological cross-reactivity between the different CoVs. In view of the long life of the animals of this species reuse of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.

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

X 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.

Replacement

Before compounds are evaluated for its efficacy in NHP, they have been tested extensively for efficacy and toxicity in *in vitro* assays. If possible, *in silico* modeling of the pharmacokinetics has been applied. (Rajoli 2015). This computer-simulation may result in a drastic decrease of the number of animals necessary, or even make *in vivo* PK studies superfluous. It is not yet known which antivirals will be investigated, and if *in silico* modeling is achievable for all compounds, but before *in vivo* PK studies will be performed, all other options, including *in silico* PK, will be investigated and the results will be presented to the AWB. Only if a compound is positively tested, it will be examined for its efficacy against CoV infection in NHP.

Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use.

Reduction

This study involves the efficacy testing of antiviral compounds in the CoV infection model in NHP. Because the variability in viral replication kinetics in the NHP will only become available after the completion of the infection studies, the exact number of animals to be used in the studies cannot be provided at this point. Under A we have described the statistical analyses that will be performed on basis of the infection studies. Only the minimum number of animals needed will be used. If possible, studies will be combined. In such a case, one control group will suffice and the total number of animals will be reduced.

Refinement

Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered when the animals are daily sedated for blood sampling. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Infection and bleeding take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive biotechnological actions such as giving anaesthesia or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.

The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record the body temperature 24/7, and to monitor the body temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in fever by some vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor will require a small surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required. The use of imaging (X-ray or PET-CT scan) will provide us with data regarding lung pathology.

Reference:

Rajoli RKR, Back DJ, Rannard S, *et al.* In Silico Dose Prediction for Long-Acting Rilpivirine and Cabotegravir Administration to Children and Adolescents. *Clin Pharmacokinet.* 2018;57(2):255–266. doi:10.1007/s40262-017-0557-x

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

Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relieve the pain, if necessary.

During the first 2 weeks of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as primary indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

The studies will be performed according the Dutch laws, and will cause no adverse effects on the environment.

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.

Not applicable

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.

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.

After placing the telemetric temperature sensor in the abdomen, the animals will receive analgesics for as long as necessary, typically 3 days. In previous studies we have observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature recording device, but have recovered very well within 1 week after the operation. In case of symptoms caused by CoV infection, this can result in pain. For this purpose, oral or parenteral analgesia will be administered after consultation with the veterinarian.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Discomfort because of insertion of the telemetric temperature sensor.
2. Discomfort due to compound and food administration via gavage
3. Discomfort due to lung lavages
4. Discomfort due to virus inoculation
5. Stress because of sedation
6. Reduced food intake due to repeated daily sedations
7. Disease symptoms due to the infection

Explain why these effects may emerge.

1. The surgery needed for insertion of the telemetric temperature sensor will cause pain and some local inflammation.
2. Insertion of the tube may cause local irritation
3. For the lung lavages a bronchoscope is used. Insertion will cause irritation
4. Intravenous inoculation can cause mild irritation. When virus is given intra-bronchially a bronchoscope is used and this will cause irritation.
5. Animals will be repeatedly sedated for blood sampling and virus inoculation. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation.
6. Animals will be sedated daily during the first phase of the infection. This will have influence of the appetite
7. Coronavirus infections can cause fever, coughing, sneezing, nose discharge, laboured breathing, loss of appetite, loss of weight, inactivity.

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

1. Surgery will be done under anaesthesia and after surgery analgesics will be applied.
2. Insertion of the tube will be done by experience caretakers. In case irritation occurs, this will be mild and no extra measures need to be taken
3. For the lung lavages animals are first deeply sedated and receive a muscle relaxant.
4. If irritation occurs, this will be mild. It will therefore not be necessary to take additional measures.
5. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
6. Animals will receive tube feeding via gavage. This is applied during sedation for blood collection.
7. Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized and a full necropsy will be performed to establish the cause of the disease and viral distribution over the respiratory organs

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.

Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical

symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are: open mouth breathing or cyanosis, lethargy as defined by minimal response to human approach.

Indicate the likely incidence.

After CoV infection each animal may become seriously ill. Thus, the percentage is 100%

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').

Discomfort is caused by the implantation of the telemetric temperature sensor. By using this device, the animals can be continuously monitored for body temperature. In combination with frequent observations by animal caretakers, this will facilitate the appropriate intervention by veterinarians at the earliest time-point, and will preclude progression to serious disease that may be caused by coronavirus infection. Therefore, the cumulative discomfort will be moderate

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

Animals will be euthanized in case they show signs of disease symptoms in order to avoid severe discomfort. To investigate the presence of virus in tissues and organs, and for the investigation of possible tissue damage caused by CoV or by the compounds, it is necessary to euthanize the animals at the end of the study

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.

X Yes

Dit is een vergelijkingsdocument waarin veranderingen t.a.v. eerdere versies inzichtelijk zijn gemaakt. Dit document dient ter verduidelijking en vormt geen onderdeel van de inventarislijst.

30-8-2021 12:50:41

Resultaten vergelijken

Oud bestand:

AdviesNotaCCD.pdf

18 pagina's (127 KB)

9-3-2020 13:50:23

versus

Nieuw bestand:

AdviesNotaCCD_2.pdf

18 pagina's (128 KB)

16-3-2020 15:20:17

Totaal aantal
veranderingen

26

Alleen tekst vergelijken

Inhoud

22 Vervangingen
3 Invoegingen
1 Verwijdering

Stijl en
annotaties

0 Stijlen
0 Annotaties

[Naar eerste wijziging \(pagina 1\)](#)



Advies aan CCD

B

Datum 16 maart 2020

Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD10.2.g

Instelling: 10.2.g

Onderzoeker: 10.2.e

Project: Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections

Aanvraagnummer: AVD10.2.g

Betreft: Nieuwe aanvraag

Categorieën: Translatieel of toegepast onderzoek

1 Inzicht in aanvraag en de eventuele knelpunten en risico's

Proces	
	<p>De aanvrager is nog de volgende vraag gesteld:</p> <ol style="list-style-type: none">1) In de NTS benoemt u enkele vaktermen, zoals farmacokinetiek en telemetrie. Graag deze termen uitleggen of vervangen.2) In 3.4 van de NTS benoemt u dat de dieren ziek kunnen worden door de virusinfectie. Graag aanvullen welke symptomen de dieren mogelijk ondervinden.3) In bijlagen 3.4.4.3 en 3.4.4.4 geeft u wel aan waarom andere diersoorten dan de aap niet bruikbaar zijn, maar u beschrijft niet waarom dierproefvrije alternatieven, zoals bijvoorbeeld in silico PK modellering, niet mogelijk zijn. Graag dit aanvullen.

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	60	Dieren die niet voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	150	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	48	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis	100	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

De noodzaak om deze experimenten in niet-humane primaten uit te voeren is als volgt onderbouwd (citatoren):

"Onderzoek naar de werkzaamheid van coronavirusvaccins kan in diverse dieren worden uitgevoerd. Alleen in de laatste fase van de vaccinontwikkeling, voorafgaan aan testen in de mens, is uittesten in apen nodig omdat deze dieren wat betreft hun fysiologie en afweersysteem het meest op de mens lijken. Andere proefdieren, zoals knaagdieren zijn in deze fase van het onderzoek niet geschikt omdat deze virussen in muizen vaak niet een goede infectie geven en wat betreft hun afweersysteem op diverse punten afwijken van de mens. Daarom is in apen de kans het grootst dat eventuele onverwachte nadelige effecten alsnog opgespoord kunnen worden en een goede voorspelling gedaan kan worden wat betreft werkzaamheid bij de mens. "

"Due to the complex interaction of coronaviruses with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of a CoV-vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. Several animal species have been used to study infection of emerging coronaviruses, like SARS and MERS (3,6,7). However, NHP have the

advantage that their immune system most closely resembles that of humans. In addition, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in control of infection. These aspects are essential for the evaluation of vaccines, especially for vaccines designed to protect to a range of CoVs. The latter type of 'universal' CoV vaccines will aim for the induction of cross-protective cellular immune responses or induction of broadly cross-neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start."

"Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use."

De keuze voor rhesus aap of java-aap wordt als volgt onderbouwd: "Both rhesus macaques (*Macaca mulatta*) and cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) have been shown to be susceptible to emerging coronaviruses, like SARS and MERS (2-4,7-11), but their susceptibility for infection with the recently emerged SARS-CoV-2 is not yet known. Currently, the first macaque studies are ongoing in other research institutes, and our choice for a specific macaque species will probably be based on the outcome of these studies. Both macaque species have been widely used in emerging coronavirus pathogenesis and vaccine research. Depending on the virus strain used, slight differences were seen in virus replication, clinical signs, and pathology, indicating that both can be used in SARS-CoV-2 studies (4,9)."

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. Het betreft onderzoek met niet-humane primaten.

2 DEC advies

DEC-advies	<p>Citaat C9 (gebruik NHP): De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens tezamen met de bewezen gevoeligheid van deze diersoort voor (andere) coronavirussen. Daarom is te verwachten dat makaken een geschikt diermodel zullen zijn en dat resultaten uit dit onderzoek goed voorspellend zijn voor therapeutische effecten bij de mens. Dergelijke kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn vooraf onderzocht op werkzaamheid en veiligheid in andere modellen (in vitro/ in andere diersoorten) maar deze kunnen onvoldoende modelleren voor de mens (met name de agens/gastheerinteractie en de immuunresponsen).</p> <p>Citaat C9 (hergebruik): Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.</p> <p>Citaat C11 (ongerief): Het ongerief voor de dieren is correct als matig ingeschat. Het ongerief voor de dieren uit bijlage 1, 2 en 4 zal vooral veroorzaakt worden door plaatsen van een meetinstrument in de buikholte en ziektesymptomen van de besmetting met Coronavirus. Dieren zullen na infectie met het virus minstens twee keer per dag nauwlettend gemonitord worden, zullen klinische kenmerken gescoord worden, en daarnaast beschikken de onderzoekers over de continue metingen van de lichaamstemperatuur. Dit alles maakt het mogelijk om dieren vroegtijdig uit de studie te halen zodra de symptomen verergeren en/of het humane eindpunt is bereikt. Het ongerief voor dieren uit bijlage 3 wordt voornamelijk veroorzaakt door frequente sedaties en bloedafnames.</p> <p>Citaat C14 (vervanging): In vitro technieken geven inzicht in allerlei relevante eigenschappen van een vaccin, zoals zuiverheid en stabiliteit. Viruskweken worden ook gebruikt om een eerste inzicht te krijgen in de antivirale werking van geneesmiddelen. Met in vitro technieken kan echter niet aangetoond worden of er een immuunrespons optreedt, of dat een vaccin beschermt tegen infectie met het virus. Ook de interactie tussen virus en gastheer kan alleen bestudeerd worden in vivo. Met onderzoek in andere diersoorten kan de mate van immuunrespons van kandidaat vaccins worden gescreend, hetgeen van belang is bij het ontwikkelen van vaccin-formuleringen. Voor het onderzoek naar nieuwe</p>
-------------------	--

vaccins/antivirale middelen tegen Coronavirus is het gebruik van NHP nodig. Niet-humane primaten vertonen op immunologisch en fysiologisch gebied de grootste overeenkomst met de mens en de verwachting is dat de Coronavirus infectie in deze dieren sterk vergelijkbaar verloopt met die in de mens. Hierdoor zal het testen van vaccins/antivirale middelen tegen Coronavirus in niet-humane primaten een grotere voorspellende waarde voor effectiviteit en veiligheid bij de mens hebben dan in andere diermodellen.

Ethische afweging van de DEC:

Citaat:

1. Rechtvaardigt het opzetten van een infectiemodel voor Coronavirussen en het testen van nieuwe vaccins en geneesmiddelen hiertegen het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan, en de aantasting van hun integriteit? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren, andere onderzoeksmodellen, of patiënten?

2. De waarde voor de maatschappij van nieuwe, effectieve vaccins en/of antivirale middelen is enorm, mede gelet op de huidige ontwikkelingen aangaande het SARS-CoV-2 virus epidemie (pandemie) en de sociale en economische gevolgen.

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Een deel van de dieren wordt geopereerd om een telemetrisch apparaat in te brengen in de buikholte. Daarna worden dieren gevaccineerd en/of geïnfecteerd met Coronavirus en worden ze eventueel behandeld met antivirale middelen. De welzijnsaantasting kan resulteren in pijn na de operatie, ongerief door bloedafnames en bijbehorende sedatie, en ziekteverschijnselen veroorzaakt door de infectie met Coronavirus (verwacht wordt dat die zullen lijken op die bij de mens). Dieren die aan Coronavirus worden blootgesteld zullen aan het eind van de studie worden geëuthanaseerd. Een ander deel van de dieren wordt gebruikt om de optimale dosering en toedieningsroute voor de antivirale middelen te bepalen. Het toedienen van geneesmiddel tast de autonomie aan, evenals sedaties en bloedafnames. De welzijnsaantasting kan ook bestaan uit mogelijke bijwerkingen van het middel. Ongerief en lijden zullen zo veel mogelijk worden beperkt. Daarmee resulteert dit in maximaal matig ongerief voor de dieren.

De waarde voor het onderzoeksveld is het verkrijgen van meer inzicht in het verloop van Corona-infecties, mogelijke identificatie van virus reservoirs en identificatie van immunologische parameters die belangrijk zijn bij het ontwikkelen van nieuwe vaccins tegen Corona virussen. Ook de werkzaamheid van potentiële antivirale middelen wordt in dit project onderzocht. Voor het onderzoeksveld is van belang dat niet-humane primaten goed modelleren voor het infectieverloop en het immuunsysteem bij de mens en dat dit onderzoek bijdraagt aan extrapolatie naar de mens.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van nieuwe vaccins en/of antivirale middelen tegen Coronavirus. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

3. De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving die worden geadresseerd in dit project zwaarder wegen dan de aantasting van de belangen/waarden van de betrokken proefdieren binnen dit project.

Het belang van de doelstelling wordt door de DEC onderschreven in het licht van de ernst van de aandoening, en de urgentie van de ontwikkeling van een nieuw vaccin en nieuwe geneesmiddelen tegen deze potentieel dodelijke infectieziekte. De doelstelling van dit project kan alleen met inzet van niet-humane primaten worden behaald.

De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar vaccins tegen vergelijkbare virussen in Java- en resusapen in dit instituut, en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. De verwachting is dat het infectiemodel met Coronavirus in makaken representatief zal zijn voor de humane infectie. De zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens spelen in het testen van potentiële nieuwe vaccins tegen Coronavirus een belangrijke rol. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat.

De 3V-principes worden gehonoreerd door het minimale aantal dieren te gebruiken dat tot relevante uitkomsten van het experiment leidt. De resultaten met onderzoek naar deze agentia worden nauwkeurig bijgehouden en toegepast bij de opzet van deze modellen en proeven. Er is gekeken naar vervanging door andere diersoorten of in vitro experimenten; deze worden voorafgaand aan deze studies gebruikt voor de ontwikkeling van vaccins/geneesmiddelen maar onderzoek in NHP is

nodig voordat klinische onderzoeken kunnen worden opgezet. Dit betekent ook dat alleen kandidaat geneesmiddelen en vaccins zullen worden getest die vooraf zijn geselecteerd en kansrijk zijn om daarna bij de mens te worden onderzocht. Verfijning wordt toegepast door dieren sociaal te huisvesten, gebruik te maken van temperatuursensors, pijnbestrijding toe te passen wanneer nodig en de dieren niet onnodig te laten lijden.

Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt. Het ongerief is maximaal matig en wordt voornamelijk veroorzaakt door chirurgisch inbrengen van de telemetrische temperatuursensor en frequente sedaties. Humane eindpunten zijn goed gedefinieerd.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt. Het aantal dieren dat nodig is valt te rechtvaardigen.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij
- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd

De DEC heeft de aanvrager de volgende vragen gesteld: De noodzaak om common marmosets nu in deze aanvraag op te nemen, gezien de goede mogelijkheden om een infectiemodel in makaken te verkrijgen. De te volgen strategie voor het opzetten van het infectiemodel in makaken en de go/no go beslissingen hierin. De te volgen strategie voor evaluatie van antivirale middelen en de go/no go beslissingen hierin. Aanvullende informatie betreffende de statistische onderbouwing voor het benodigd aantal dieren, de toepassing van X-ray en PET-CT en enkele tekstuele aanpassingen.

De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

Het DEC advies is Positief

	Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
--	--

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	
<p>Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld.</p> <p>Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing.</p> <p>De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.</p>	

4 Inhoudelijke beoordeling

Doelstelling Doelstelling	<p>Citaat: The aim of this research project is to test the immunogenicity, efficacy, and absence of pathogenicity (safety) of novel coronavirus vaccines, and the pharmacokinetics, safety and efficacy of anti-viral compounds that are developed for use in humans in nonhuman primates (NHP). The main focus will be on coronavirus vaccines and antivirals that are designed to protect against infection with the recently emerged SARS-CoV-2.</p>
-------------------------------------	---

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>Citaat: The ongoing outbreak of SARS-CoV-2, as well as the outbreaks of pathogenic SARS- and MERS-CoVs in the last two decades, have shown the urgency of developing vaccines and antiviral compounds against these emerging coronaviruses, but also points towards the need for preparedness for future outbreaks of yet unknown CoVs. Since beginning of January 2020, over 73.000 infections with SARS-CoV-2 have been reported, with a 2-2.5% case fatality rate (dd. 18-02-20).</p> <p>Human-to-human transmission of the virus, in combination with an asymptomatic period during which infected people can already spread the virus to others, likely guarantee further spreading of the epidemic. Because of this concern the World Health Organization declared the coronavirus outbreak a public-health emergency of international concern. The WHO put SARS and MERS on the 2018 list of priority diseases. For the first time WHO also included 'Disease X' on this list. Disease X is a placeholder name given by the WHO for any new unknown pathogen that may cause disease and potentially an epidemic in the future. Clearly, SARS-CoV-2 has all these characteristics of Disease X, and as such can join the MERS- and SARS-CoVs on the list.</p> <p>For the listed agents, there is an urgent need for research and development of vaccines and antiviral treatments. Currently, several broad-spectrum antiviral compounds that were developed to combat other viral infections, are being used to treat patients. These compounds, like chloroquine and remdesivir, effectively inhibited SARS-CoV-2 replication in vitro (22) However, no data are available on the in vivo efficacy against SARS-CoV-2 infection (23). Also, experts doubt whether these compounds, specifically developed for other infectious diseases, will suffice to fight this coronavirus (24).</p> <p>As the main goal of this project is the evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronaviruses, with a focus on SARS-CoV-2, this project perfectly fits within the scope of the WHO strategy.</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	11.1
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/onderzoeksgroep en onderzoek	<p>Citaat uit DEC advies C7: De onderzoeksgroep heeft een ruime ervaring met virus infectiemodellen en vaccinaties in niet-humane primaten en het instituut heeft veel ervaring met het werken met niet-humane primaten.</p> <p>Het Secretariaat heeft 11.1</p>
3V's	
Vervanging	

	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Several animal species have been used to study coronavirus infection (2-4,7-10). However, of these different species, NHP have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine evaluation (Appendix 2), as well as for the interaction with coronaviruses, since this is affected both by physiology and by the reaction of the innate and adaptive immune system. As explained in Appendix 2, these aspects are important for the evaluation for vaccines. The proper evaluation of these vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here.</p>
	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The immune system is very complex and the in vivo interactions between virus and/or vaccine and host are not completely understood. At present there is no in vitro model available that can mimic the human immune system sufficiently to study the potential of a vaccine to induce protective immune responses. Due to the complex interaction of coronaviruses with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of a CoV-vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. Several animal species have been used to study infection of emerging coronaviruses, like SARS and MERS (3,6,7). However, NHP have the advantage that their immune system most closely resembles that of humans. In addition, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in control of infection. These aspects are essential for the evaluation of vaccines, especially for vaccines designed to protect to a range of CoVs. The latter type of 'universal' CoV vaccines will aim for the induction of cross-protective cellular immune responses or induction of broadly cross-neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start.</p>

	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: All compounds have been tested extensively for efficacy and toxicity in in vitro assays. Also, in vivo toxicity studies have been performed in rodents. Only when no side effects or signs of toxicity are found in the rodent model, and if no other suitable animal model for anti-coronavirus compound testing is available, the compounds will be evaluated in nonhuman primates.</p>
	<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat: Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use.</p>
<p>Verminderen</p>	
	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Based on the extensive experience with other viral infection models within the institute where this research will be performed, it is expected that four animals per test group are sufficient in order to determine whether a suitable infection model has been achieved and to perform a power calculation to determine the number of animals needed in a vaccine or antiviral compound evaluation study. In case the criteria, as outlined under A are not met, a second experiment may be needed with another dose or in another NHP species. On the basis of the outcome of the first study the number of animals needed in follow up experiments can be calculated and less animals may be needed. Only the minimum number of animals needed, will be used. Currently, no (published) data are available on the infection of NHP with this new coronavirus. However, it can be expected that such data become available in due time. If possible, these data will be used, and may result in the use of less animals</p>

	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant reduction in virus load in the trachea between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups.</p>
	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: In this animal procedure, the pharmacokinetic profile of anti-CoV compounds is determined in NHP, before their use in antiviral compound efficacy testing in the same animal species. A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile of the compounds in blood of macaques. This group size allows us insight in the variance between the individual animals, and at the same time allows us to identify possible outliers. The number of animals needed will be kept to a minimum by testing of different dosages of a compound, successively administered to the same animal.</p>
	<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat: This study involves the efficacy testing of antiviral compounds in the CoV infection model in NHP. Because the variability in viral replication kinetics in the NHP will only become available after the completion of the infection studies, the exact number of animals to be used in the studies cannot be provided at this point. Under A we have described the statistical analyses that will be performed on basis of the infection studies. Only the minimum number of animals needed will be used. If possible, studies will be combined. In such a case, one control group will suffice and the total number of animals will be reduced.</p>
Verfijnen	
	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: The use of telemetric temperature sensor makes it possible to continuously record the temperature during the study-period. For our studies with the H1N1 influenza virus, we have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection using this method (6). In influenza studies, a significant reduction in fever by some of the vaccine candidates was observed (5). This method will also be applied in this project. Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor for body temperature measurement will require surgery, which will</p>

be done under anaesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. Animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive procedures, such as receiving the sedation. The application of X-ray or PET-CT scanning to measure lung infiltration will give us insight in the disease progression of the CoV infection. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood and swabs, and will thus not cause additional discomfort.

Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible cage mate. There is an extensive program for enrichment in our institute that consists of playing material and methods to present food. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. During the infection animals will be observed twice daily and clinical symptoms will be scored using a well-established clinical scoring list adapted from Brining et al. (1; see below). On the basis of the scoring system a clinical endpoint is defined. When this endpoint is reached the animal will be immediately euthanized and a necropsy will be performed to determine the cause of disease. All procedures will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the first days of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as an indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record and monitor the temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in temperature by some of the vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensors will require surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required, typically 3 days. Animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handlings, such as receiving the sedation. The application of X-ray or PET-CT scan to measure lung infiltration will give us a insight in the disease progression of the CoV infection. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood an swabs, and will thus not cause additional discomfort.</p>
	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via a gavage) when the animals are daily sedated for blood sampling or compound administration. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Compound administration and blood sampling take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive actions such as giving anaesthesia or compound administration. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.</p> <p>Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. All handlings will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the period that an animal is bled daily, the animal will receive tube feeding. This is necessary, because animals have to fast the night before the sedation and since animals will be sedated daily after infection the food intake during this period would otherwise be very limited.</p>

3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat:

Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered when the animals are daily sedated for blood sampling. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Infection and bleeding take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive biotechnological actions such as giving anaesthesia or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.

The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record the body temperature 24/7, and to monitor the body temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in fever by some vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor will require a small surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required. The use of imaging (X-ray or PET-CT scan) will provide us with data regarding lung pathology.

Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relief the pain, if necessary.

During the first 2 weeks of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as primary indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: 11.1
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: 11.1
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Bij vervanging is wel uitgelegd waarom de studie in primaten moet worden uitgevoerd, maar niet waarom een alternatief zonder dierproeven niet mogelijk is.
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Bij vervanging is wel uitgelegd waarom de studie in primaten moet worden uitgevoerd, maar niet waarom een alternatief zonder dierproeven niet mogelijk is.

Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous procedures. Animals that have pre-existing antibodies against recently emerged coronaviruses are not suitable. In view of the long life of the animals of this species re-use of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.	
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Zie bijlage 3.4.4.1.	
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Zie bijlage 3.4.4.1.	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Zie bijlage 3.4.4.1.	

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	Nee	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	HEP: 100%	Citaat: Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are respiratory problems (convulsive breathing, flank contraction) or lack of breathing, lethargy as defined by minimal response to human approach, and excessive loss of body weight of more than 15% in two days or 20% from the start of the infection.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	HEP: 100%	Zie bijlage 3.4.4.1.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	HEP: Worden niet verwacht	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	HEP: After CoV infection each animal may become seriously ill. Thus, the percentage is 100%	Citaat: Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are: open mouth breathing or cyanosis, lethargy as defined by minimal response to human approach.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis, totaal 100 dieren.

5 Samenvatting

Deze aanvraag bevat 11.1 [redacted], het belang, de strategie en de humane eindpunten om tot een besluit te komen.

De 3V's zijn over het algemeen 11.1 [redacted]. Echter, 11.1 [redacted]

Er is 11.1 [redacted]

[redacted] uitgevoerd. De aanvrager weet nog niet welke makaken het best gebruikt kunnen worden voor de te gebruiken virussen, vandaar dat de aanvrager zowel de java-aap als de rhesus-aap heeft aangevraagd. Vanwege het gebruik van primaten, is een beoordeling achteraf vereist.

Er is mogelijk sprake van hergebruik voor de dieren die als controle worden gebruikt en niet geïnfecteerd worden. Hierbij wordt rekening gehouden met de wettelijke kaders.

Wat betreft de DEC en het Secretariaat wordt 11.1 [redacted]

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

11.1 [redacted]

7 Concept beschikking voor akkoord CCD



Advies aan CCD

B

Datum 16 maart 2020
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD10.2.g

Instelling: 10.2.g
Onderzoeker: 10.2.e
Project: Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections
Aanvraagnummer: AVD10.2.g
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

1 Inzicht in aanvraag en de eventuele knelpunten en risico's

Proces	<p>De aanvrager is nog de volgende vraag gesteld:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) In de NTS benoemt u enkele vaktermen, zoals farmacokinetiek en telemetrie. Graag deze termen uitleggen of vervangen. 2) In 3.4 van de NTS benoemt u dat de dieren ziek kunnen worden door de virusinfectie. Graag aanvullen welke symptomen de dieren mogelijk ondervinden. 3) In bijlagen 3.4.4.3 en 3.4.4.4 geeft u wel aan waarom andere diersoorten dan de aap niet bruikbaar zijn, maar u beschrijft niet waarom dierproefvrije alternatieven, zoals bijvoorbeeld in silico PK modellng, niet mogelijk zijn. Graag dit aanvullen.
---------------	---

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	60	Dieren die niet voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	150	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta of Macaca fascicularis	48	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis	100	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

De noodzaak om deze experimenten in niet-humane primaten uit te voeren is als volgt onderbouwd (citatoren):

"Onderzoek naar de werkzaamheid van coronavirusvaccins kan in diverse dieren worden uitgevoerd. Alleen in de laatste fase van de vaccinontwikkeling, voorafgaan aan testen in de mens, is uittesten in apen nodig omdat deze dieren wat betreft hun fysiologie en afweersysteem het meest op de mens lijken. Andere proefdieren, zoals knaagdieren zijn in deze fase van het onderzoek niet geschikt omdat deze virussen in muizen vaak niet een goede infectie geven en wat betreft hun afweersysteem op diverse punten afwijken van de mens. Daarom is in apen de kans het grootst dat eventuele onverwachte nadelige effecten alsnog opgespoord kunnen worden en een goede voorspelling gedaan kan worden wat betreft werkzaamheid bij de mens. "

"Due to the complex interaction of coronaviruses with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of a CoV-vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. Several animal species have been used to study infection of emerging coronaviruses, like SARS and MERS (3,6,7). However, NHP have the

advantage that their immune system most closely resembles that of humans. In addition, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in control of infection. These aspects are essential for the evaluation of vaccines, especially for vaccines designed to protect to a range of CoVs. The latter type of 'universal' CoV vaccines will aim for the induction of cross-protective cellular immune responses or induction of broadly cross-neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start."

"Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use."

De keuze voor rhesus aap of java-aap wordt als volgt onderbouwd: "Both rhesus macaques (*Macaca mulatta*) and cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) have been shown to be susceptible to emerging coronaviruses, like SARS and MERS (2-4,7-11), but their susceptibility for infection with the recently emerged SARS-CoV-2 is not yet known. Currently, the first macaque studies are ongoing in other research institutes, and our choice for a specific macaque species will probably be based on the outcome of these studies. Both macaque species have been widely used in emerging coronavirus pathogenesis and vaccine research. Depending on the virus strain used, slight differences were seen in virus replication, clinical signs, and pathology, indicating that both can be used in SARS-CoV-2 studies (4,9)."

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	Er wordt verwacht dat het onderwerp in die mate politiek of maatschappelijk gevoelig is, dat eventuele extra communicatie uitingen nodig zijn. Het betreft onderzoek met niet-humane primaten.

2 DEC advies

DEC-advies	<p>Citaat C9 (gebruik NHP): De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens tezamen met de bewezen gevoeligheid van deze diersoort voor (andere) coronavirussen. Daarom is te verwachten dat makaken een geschikt diermodel zullen zijn en dat resultaten uit dit onderzoek goed voorspellend zijn voor therapeutische effecten bij de mens. Dergelijke kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn vooraf onderzocht op werkzaamheid en veiligheid in andere modellen (in vitro/ in andere diersoorten) maar deze kunnen onvoldoende modelleren voor de mens (met name de agens/gastheerinteractie en de immuunresponsen).</p> <p>Citaat C9 (hergebruik): Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.</p> <p>Citaat C11 (ongerief): Het ongerief voor de dieren is correct als matig ingeschat. Het ongerief voor de dieren uit bijlage 1, 2 en 4 zal vooral veroorzaakt worden door plaatsen van een meetinstrument in de buikholte en ziektesymptomen van de besmetting met Coronavirus. Dieren zullen na infectie met het virus minstens twee keer per dag nauwlettend gemonitord worden, zullen klinische kenmerken gescoord worden, en daarnaast beschikken de onderzoekers over de continue metingen van de lichaamstemperatuur. Dit alles maakt het mogelijk om dieren vroegtijdig uit de studie te halen zodra de symptomen verergeren en/of het humane eindpunt is bereikt. Het ongerief voor dieren uit bijlage 3 wordt voornamelijk veroorzaakt door frequente sedaties en bloedafnames.</p> <p>Citaat C14 (vervanging): In vitro technieken geven inzicht in allerlei relevante eigenschappen van een vaccin, zoals zuiverheid en stabiliteit. Viruskweken worden ook gebruikt om een eerste inzicht te krijgen in de antivirale werking van geneesmiddelen. Met in vitro technieken kan echter niet aangetoond worden of er een immuunrespons optreedt, of dat een vaccin beschermt tegen infectie met het virus. Ook de interactie tussen virus en gastheer kan alleen bestudeerd worden in vivo. Met onderzoek in andere diersoorten kan de mate van immuunrespons van kandidaat vaccins worden gescreend, hetgeen van belang is bij het ontwikkelen van vaccin-formuleringen. Voor het onderzoek naar nieuwe</p>
-------------------	--

vaccins/antivirale middelen tegen Coronavirus is het gebruik van NHP nodig. Niet-humane primaten vertonen op immunologisch en fysiologisch gebied de grootste overeenkomst met de mens en de verwachting is dat de Coronavirus infectie in deze dieren sterk vergelijkbaar verloopt met die in de mens. Hierdoor zal het testen van vaccins/antivirale middelen tegen Coronavirus in niet-humane primaten een grotere voorspellende waarde voor effectiviteit en veiligheid bij de mens hebben dan in andere diermodellen.

Ethische afweging van de DEC:

Citaat:

1. Rechtvaardigt het opzetten van een infectiemodel voor Coronavirussen en het testen van nieuwe vaccins en geneesmiddelen hiertegen het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan, en de aantasting van hun integriteit? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren, andere onderzoeksmodellen, of patiënten?

2. De waarde voor de maatschappij van nieuwe, effectieve vaccins en/of antivirale middelen is enorm, mede gelet op de huidige ontwikkelingen aangaande het SARS-CoV-2 virus epidemie (pandemie) en de sociale en economische gevolgen.

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Een deel van de dieren wordt geopereerd om een telemetrisch apparaat in te brengen in de buikholte. Daarna worden dieren gevaccineerd en/of geïnfecteerd met Coronavirus en worden ze eventueel behandeld met antivirale middelen. De welzijnsaantasting kan resulteren in pijn na de operatie, ongerief door bloedafnames en bijbehorende sedatie, en ziekteverschijnselen veroorzaakt door de infectie met Coronavirus (verwacht wordt dat die zullen lijken op die bij de mens). Dieren die aan Coronavirus worden blootgesteld zullen aan het eind van de studie worden geëthanaseerd. Een ander deel van de dieren wordt gebruikt om de optimale dosering en toedieningsroute voor de antivirale middelen te bepalen. Het toedienen van geneesmiddel tast de autonomie aan, evenals sedaties en bloedafnames. De welzijnsaantasting kan ook bestaan uit mogelijke bijwerkingen van het middel. Ongerief en lijden zullen zo veel mogelijk worden beperkt. Daarmee resulteert dit in maximaal matig ongerief voor de dieren.

De waarde voor het onderzoeksveld is het verkrijgen van meer inzicht in het verloop van Corona-infecties, mogelijke identificatie van virus reservoirs en identificatie van immunologische parameters die belangrijk zijn bij het ontwikkelen van nieuwe vaccins tegen Corona virussen. Ook de werkzaamheid van potentiële antivirale middelen wordt in dit project onderzocht. Voor het onderzoeksveld is van belang dat niet-humane primaten goed modelleren voor het infectieverloop en het immuunsysteem bij de mens en dat dit onderzoek bijdraagt aan extrapolatie naar de mens.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van nieuwe vaccins en/of antivirale middelen tegen Coronavirus. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

3. De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving die worden geadresseerd in dit project zwaarder wegen dan de aantasting van de belangen/waarden van de betrokken proefdieren binnen dit project.

Het belang van de doelstelling wordt door de DEC onderschreven in het licht van de ernst van de aandoening, en de urgentie van de ontwikkeling van een nieuw vaccin en nieuwe geneesmiddelen tegen deze potentieel dodelijke infectieziekte. De doelstelling van dit project kan alleen met inzet van niet-humane primaten worden behaald.

De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar vaccins tegen vergelijkbare virussen in Java- en resusapen in dit instituut, en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. De verwachting is dat het infectiemodel met Coronavirus in makaken representatief zal zijn voor de humane infectie. De zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens spelen in het testen van potentiële nieuwe vaccins tegen Coronavirus een belangrijke rol. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat.

De 3V-principes worden gehonoreerd door het minimale aantal dieren te gebruiken dat tot relevante uitkomsten van het experiment leidt. De resultaten met onderzoek naar deze agentia worden nauwkeurig bijgehouden en toegepast bij de opzet van deze modellen en proeven. Er is gekeken naar vervanging door andere diersoorten of in vitro experimenten; deze worden voorafgaand aan deze studies gebruikt voor de ontwikkeling van vaccins/geneesmiddelen maar onderzoek in NHP is

nodig voordat klinische onderzoeken kunnen worden opgezet. Dit betekent ook dat alleen kandidaat geneesmiddelen en vaccins zullen worden getest die vooraf zijn geselecteerd en kansrijk zijn om daarna bij de mens te worden onderzocht. Verfijning wordt toegepast door dieren sociaal te huisvesten, gebruik te maken van temperatuursensors, pijnbestrijding toe te passen wanneer nodig en de dieren niet onnodig te laten lijden.

Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt. Het ongerief is maximaal matig en wordt voornamelijk veroorzaakt door chirurgisch inbrengen van de telemetrische temperatuursensor en frequente sedaties. Humane eindpunten zijn goed gedefinieerd.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt. Het aantal dieren dat nodig is valt te rechtvaardigen.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij
- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd

De DEC heeft de aanvrager de volgende vragen gesteld: De noodzaak om common marmosets nu in deze aanvraag op te nemen, gezien de goede mogelijkheden om een infectiemodel in makaken te verkrijgen. De te volgen strategie voor het opzetten van het infectiemodel in makaken en de go/no go beslissingen hierin. De te volgen strategie voor evaluatie van antivirale middelen en de go/no go beslissingen hierin. Aanvullende informatie betreffende de statistische onderbouwing voor het benodigd aantal dieren, de toepassing van X-ray en PET-CT en enkele tekstuele aanpassingen.

De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

Het DEC advies is Positief

	Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
--	--

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	
<p>Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld.</p> <p>Bij de beantwoording van de beoordelingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing.</p> <p>De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.</p>	

4 Inhoudelijke beoordeling

Doelstelling Doelstelling	<p>Citaat: The aim of this research project is to test the immunogenicity, efficacy, and absence of pathogenicity (safety) of novel coronavirus vaccines, and the pharmacokinetics, safety and efficacy of anti-viral compounds that are developed for use in humans in nonhuman primates (NHP). The main focus will be on coronavirus vaccines and antivirals that are designed to protect against infection with the recently emerged SARS-CoV-2.</p>
-------------------------------------	---

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>Citaat: The ongoing outbreak of SARS-CoV-2, as well as the outbreaks of pathogenic SARS- and MERS-CoVs in the last two decades, have shown the urgency of developing vaccines and antiviral compounds against these emerging coronaviruses, but also points towards the need for preparedness for future outbreaks of yet unknown CoVs. Since beginning of January 2020, over 73.000 infections with SARS-CoV-2 have been reported, with a 2-2.5% case fatality rate (dd. 18-02-20).</p> <p>Human-to-human transmission of the virus, in combination with an asymptomatic period during which infected people can already spread the virus to others, likely guarantee further spreading of the epidemic. Because of this concern the World Health Organization declared the coronavirus outbreak a public-health emergency of international concern. The WHO put SARS and MERS on the 2018 list of priority diseases. For the first time WHO also included 'Disease X' on this list. Disease X is a placeholder name given by the WHO for any new unknown pathogen that may cause disease and potentially an epidemic in the future. Clearly, SARS-CoV-2 has all these characteristics of Disease X, and as such can join the MERS- and SARS-CoVs on the list.</p> <p>For the listed agents, there is an urgent need for research and development of vaccines and antiviral treatments. Currently, several broad-spectrum antiviral compounds that were developed to combat other viral infections, are being used to treat patients. These compounds, like chloroquine and remdesivir, effectively inhibited SARS-CoV-2 replication in vitro (22) However, no data are available on the in vivo efficacy against SARS-CoV-2 infection (23). Also, experts doubt whether these compounds, specifically developed for other infectious diseases, will suffice to fight this coronavirus (24).</p> <p>As the main goal of this project is the evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronaviruses, with a focus on SARS-CoV-2, this project perfectly fits within the scope of the WHO strategy.</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	11.1
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek	<p>Citaat uit DEC advies C7: De onderzoeksgroep heeft een ruime ervaring met virus infectiemodellen en vaccinaties in niet-humane primaten en het instituut heeft veel ervaring met het werken met niet-humane primaten.</p> <p>Het Secretariaat heeft 11.1</p>
3V's	
Vervanging	

	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Several animal species have been used to study coronavirus infection (2-4,7-10). However, of these different species, NHP have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine evaluation (Appendix 2), as well as for the interaction with coronaviruses, since this is affected both by physiology and by the reaction of the innate and adaptive immune system. As explained in Appendix 2, these aspects are important for the evaluation for vaccines. The proper evaluation of these vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here.</p>
	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The immune system is very complex and the in vivo interactions between virus and/or vaccine and host are not completely understood. At present there is no in vitro model available that can mimic the human immune system sufficiently to study the potential of a vaccine to induce protective immune responses. Due to the complex interaction of coronaviruses with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of a CoV-vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. Several animal species have been used to study infection of emerging coronaviruses, like SARS and MERS (3,6,7). However, NHP have the advantage that their immune system most closely resembles that of humans. In addition, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in control of infection. These aspects are essential for the evaluation of vaccines, especially for vaccines designed to protect to a range of CoVs. The latter type of 'universal' CoV vaccines will aim for the induction of cross-protective cellular immune responses or induction of broadly cross-neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start.</p>

	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: All compounds have been tested extensively for efficacy and toxicity in in vitro assays. Also, in vivo toxicity studies have been performed in rodents. Only when no side effects or signs of toxicity are found in the rodent model, and if no other suitable animal model for anti-coronavirus compound testing is available, the compounds will be evaluated in nonhuman primates.</p>
	<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat: Although animal models for CoV infection, other than nonhuman primates (NHP), are also in use in research for CoV, NHP are the animal model that best mimic infection and pathogenesis in humans. Equally, in contrast to other animal species that are used in biomedical research, like rodents, NHP have the great advantage that their body surface area/mass ratio, drug metabolism, pharmacokinetics, and anatomical structure are highly comparable to that of humans. As a consequence, drugs are metabolized in a similar way in NHP as in humans, and also exert their mode of action similarly. This, in combination with the fact that CoV infection of NHP mimics infection and pathogenesis in humans, renders them preclinical animal models of choice to investigate the efficacy of potential anti-CoV compounds for human use.</p>
<p>Verminderen</p>	
	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: Based on the extensive experience with other viral infection models within the institute where this research will be performed, it is expected that four animals per test group are sufficient in order to determine whether a suitable infection model has been achieved and to perform a power calculation to determine the number of animals needed in a vaccine or antiviral compound evaluation study. In case the criteria, as outlined under A are not met, a second experiment may be needed with another dose or in another NHP species. On the basis of the outcome of the first study the number of animals needed in follow up experiments can be calculated and less animals may be needed. Only the minimum number of animals needed, will be used. Currently, no (published) data are available on the infection of NHP with this new coronavirus. However, it can be expected that such data become available in due time. If possible, these data will be used, and may result in the use of less animals</p>

	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant reduction in virus load in the trachea between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1), usually less animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups.</p>
	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: In this animal procedure, the pharmacokinetic profile of anti-CoV compounds is determined in NHP, before their use in antiviral compound efficacy testing in the same animal species. A group size of 3 animals is the standard group size for PK studies. From previous PK studies, it was concluded that experimental groups of three animals are sufficient to obtain a pharmacokinetic profile of the compounds in blood of macaques. This group size allows us insight in the variance between the individual animals, and at the same time allows us to identify possible outliers. The number of animals needed will be kept to a minimum by testing of different dosages of a compound, successively administered to the same animal.</p>
	<p>3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat: This study involves the efficacy testing of antiviral compounds in the CoV infection model in NHP. Because the variability in viral replication kinetics in the NHP will only become available after the completion of the infection studies, the exact number of animals to be used in the studies cannot be provided at this point. Under A we have described the statistical analyses that will be performed on basis of the infection studies. Only the minimum number of animals needed will be used. If possible, studies will be combined. In such a case, one control group will suffice and the total number of animals will be reduced.</p>
Verfijnen	
	<p>3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: Citaat: The use of telemetric temperature sensor makes it possible to continuously record the temperature during the study-period. For our studies with the H1N1 influenza virus, we have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection using this method (6). In influenza studies, a significant reduction in fever by some of the vaccine candidates was observed (5). This method will also be applied in this project. Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor for body temperature measurement will require surgery, which will</p>

be done under anaesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. Animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive procedures, such as receiving the sedation. The application of X-ray or PET-CT scanning to measure lung infiltration will give us insight in the disease progression of the CoV infection. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood and swabs, and will thus not cause additional discomfort.

Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible cage mate. There is an extensive program for enrichment in our institute that consists of playing material and methods to present food. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. During the infection animals will be observed twice daily and clinical symptoms will be scored using a well-established clinical scoring list adapted from Brining et al. (1; see below). On the basis of the scoring system a clinical endpoint is defined. When this endpoint is reached the animal will be immediately euthanized and a necropsy will be performed to determine the cause of disease. All procedures will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the first days of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as an indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

	<p>3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: Citaat: The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record and monitor the temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in temperature by some of the vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensors will require surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required, typically 3 days. Animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handlings, such as receiving the sedation. The application of X-ray or PET-CT scan to measure lung infiltration will give us a insight in the disease progression of the CoV infection. X-ray or PET-CT scanning will be performed when animals are already sedated for sampling of blood an swabs, and will thus not cause additional discomfort.</p>
	<p>3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Citaat: Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered (via a gavage) when the animals are daily sedated for blood sampling or compound administration. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Compound administration and blood sampling take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive actions such as giving anaesthesia or compound administration. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.</p> <p>Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute. During the study animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. All handlings will be performed under sedation. On every time point when a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the period that an animal is bled daily, the animal will receive tube feeding. This is necessary, because animals have to fast the night before the sedation and since animals will be sedated daily after infection the food intake during this period would otherwise be very limited.</p>

3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Citaat:

Supplementary nutritious and calorie-rich diet is administered when the animals are daily sedated for blood sampling. This eliminates the possible negative effects of fasting for the purpose of frequent sedation. Infection and bleeding take place under sedation, and at the same time the animals will be weighed and examined. The animals are trained to work as much as possible voluntarily on invasive biotechnological actions such as giving anaesthesia or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood will be reduced to a minimum.

The use of telemetric temperature sensors makes it possible to record the body temperature 24/7, and to monitor the body temperature in real-time. We have designed a method that allows very precise calculation of fever induction caused by the infection (5). With this method we have observed a significant reduction in fever by some vaccine candidates (4). Such precise measurements are not possible with the traditional rectal temperature measurement. Placement of the telemetric temperature sensor will require a small surgery, which will be done under anaesthesia. Subsequently, animals will receive analgesics as long as required. The use of imaging (X-ray or PET-CT scan) will provide us with data regarding lung pathology.

Citaat: Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for environmental enrichment in our institute.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. Our institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behaviour, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relief the pain, if necessary.

During the first 2 weeks of the infection the animal will receive tube feeding. This is necessary, because the daily sedations of the animals necessitate fasting of the animals, and the food intake during this period would otherwise be very limited.

Regular analysis of haematological and clinical chemistry parameters is part of the experiment. During these experiments, the virus load in plasma will also be analysed as primary indicator of infection. These data will also be consulted to determine if changes in behaviour, appetite or stool are clinically relevant. If necessary, judged by the veterinarian, measures will then be taken to treat the animal.

3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates: 11.1
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates: 11.1
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates: Bij vervanging is wel uitgelegd waarom de studie in primaten moet worden uitgevoerd, maar niet waarom een alternatief zonder dierproeven niet mogelijk is.
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates: Bij vervanging is wel uitgelegd waarom de studie in primaten moet worden uitgevoerd, maar niet waarom een alternatief zonder dierproeven niet mogelijk is.

Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates:	Citaat: Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous procedures. Animals that have pre-existing antibodies against recently emerged coronaviruses are not suitable. In view of the long life of the animals of this species re-use of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates:	Zie bijlage 3.4.4.1.
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates:	Zie bijlage 3.4.4.1.
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates:	Zie bijlage 3.4.4.1.

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	Nee	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates	HEP: 100%	Citaat: Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are respiratory problems (convulsive breathing, flank contraction) or lack of breathing, lethargy as defined by minimal response to human approach, and excessive loss of body weight of more than 15% in two days or 20% from the start of the infection.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates	HEP: 100%	Zie bijlage 3.4.4.1.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates	HEP: Worden niet verwacht	
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates	HEP: After CoV infection each animal may become seriously ill. Thus, the percentage is 100%	Citaat: Animals are monitored twice daily and a weighed clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached the animal will be humanely euthanized. Individual scores are added and decision is based on the total daily score. Symptoms that lead to an immediate endpoint are: open mouth breathing or cyanosis, lethargy as defined by minimal response to human approach.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100,0% Matig	Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis, totaal 100 dieren.

5 Samenvatting

Deze aanvraag bevat 11.1 [redacted], het belang, de strategie en de humane eindpunten om tot een besluit te komen.

De 3V's zijn over het algemeen 11.1 [redacted] Echter, 11.1 [redacted]

Er is 11.1 [redacted]

[redacted] uitgevoerd. De aanvrager weet nog niet welke makaken het best gebruikt kunnen worden voor de te gebruiken virussen, vandaar dat de aanvrager zowel de java-aap als de rhesus-aap heeft aangevraagd. Vanwege het gebruik van primaten, is een beoordeling achteraf vereist.

Er is mogelijk sprake van hergebruik voor de dieren die als controle worden gebruikt en niet geïnfecteerd worden. Hierbij wordt rekening gehouden met de wettelijke kaders.

Wat betreft de DEC en het Secretariaat wordt 11.1 [redacted]

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

11.1 [redacted]

7 Concept beschikking voor akkoord CCD

Van: info@zbo-ccd.nl
Aan: Secretariaat OBDA
Cc: 10.2.e
Onderwerp: Ondertekening AVD 10.2.g akkoord
Datum: dinsdag 17 maart 2020 10:17:29

Beste 10.2.e

De beschikking van aanvraag AVD 10.2.g is ondertekend.

Opmerkingen m.b.t. de beschikking:

@10.2.e, wil je even checken of de datum van de brief \blacklozen start vergunning op 17 maart staat? en anders graag aanpassen. THNX!

Opmerkingen voor het secretariaat:

Leges zijn nog niet betaald. 1) graag dit benoemen in de e-mail naar vergunninghouder 2) in de gaten houden of deze betaald wordt voor vervaldatum van de factuur, anders reminder sturen aub.

Ferry Braunstahl

Van: 10.2.e
Aan: [Secretariaat OBDA](#)
Onderwerp: RE: Ondertekening AVD 10.2.g akkoord
Datum: dinsdag 17 maart 2020 11:23:16

49

11.1 ! Einddatum mag worden aangepast naar 16 maart 2025
Let op dat je dit op alle plaatsen aanpast (even control-F kijken dat je alles hebt aangepast)

Van: Secretariaat OBDA

Verzonden: dinsdag 17 maart 2020 11:21

Aan: 10.2.e

Onderwerp: RE: Ondertekening AVD 10.2.g akkoord

Hoi 10.2.e

Startdatum is aangepast naar 17 maart, maar einddatum blijft 15 maart 2025?

Gr 10.2.e

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

Verzonden: dinsdag 17 maart 2020 10:17

Aan: Secretariaat OBDA <SecretariaatOBDA@rvo.nl>

CC: 10.2.e

Onderwerp: Ondertekening AVD 10.2.g akkoord

Beste 10.2.e

48

De beschikking van aanvraag AVD 10.2.g is ondertekend.

Opmerkingen m.b.t. de beschikking:

@ 10.2.e, wil je even checken of de datum van de brief \blacklozen start vergunning op 17 maart staat? en anders graag aanpassen. THNX!

Opmerkingen voor het secretariaat:

Leges zijn nog niet betaald. 1) graag dit benoemen in de e-mail naar vergunninghouder 2) in de gaten houden of deze betaald wordt voor vervaldatum van de factuur, anders reminder sturen aub.

Ferry Braunstahl

47

Dit is een vergelijkingsdocument waarin veranderingen t.a.v. eerdere versies inzichtelijk zijn gemaakt. Dit document dient ter verduidelijking en vormt geen onderdeel van de inventarislijst.

30-8-2021 12:46:51

Resultaten vergelijken

Oud bestand:

BeschikkingsBriefTOE.pdf

9 pagina's (95 KB)

9-3-2020 13:50:19

versus

Nieuw bestand:

BeschikkingsBriefTOE_5.pdf

9 pagina's (157 KB)

17-3-2020 10:17:24

Totaal aantal
veranderingen

24

Inhoud

- 7 Vervangingen
- 8 Invoegingen
- 9 Verwijderingen

Stijl en
annotaties

- 0 Stijlen
- 0 Annotaties

[Naar eerste wijziging \(pagina 1\)](#)



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g
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
AVD 10.2.g
Bijlagen
1

Datum 17 maart 2020
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e,

Op 21 februari 2020 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections" met aanvraagnummer AVD 10.2.g. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om uw project uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. De vergunning wordt afgegeven van 16 maart 2020 tot en met 15 maart 2025.

Aan de vergunning hebben wij de volgende voorwaarde verbonden op grond van artikel 10a1, tweede lid van de wet.

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2026 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

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

Procedure

Datum:

17 maart 2020

Aanvraagnummer:

AVC 10.2.g

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC 10.2.g (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 4 maart 2020. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 10 maart 2020 en 13 maart 2020 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op enkele aanpassingen in de NTS, en nadere beschrijving van de (on)mogelijkheden van vervanging. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

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

De vergunde termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat u tijdens de behandeling van uw aanvraag (telefonisch) heeft aangegeven dat u zo snel als mogelijk wilt starten met het project.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project moet er een beoordeling plaatsvinden zoals bedoeld in artikel 10a1, eerste lid, onder d van de wet. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2026 plaatsvinden. Meer informatie over de eisen die gesteld worden bij de beoordeling achteraf vindt u in de bijlage 'Weergave wet- en regelgeving'.

Bezwaar

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

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

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de

vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

Datum:
17 maart 2020
Aanvraagnummer:
AVD 10.2.g

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

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2.e



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: 10.2.g

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

deze projectvergunning voor het tijdvak 16 maart 2020 tot en met 15 maart 2025, voor het project "Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections" met aanvraagnummer AVD10.2.g, na advies van dierexperimentencommissie DEC 10.2.g
De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is 10.2.e

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

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 21 februari 2020
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 4 maart 2020;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates, zoals ontvangen op 4 maart 2020;
 - 3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates, zoals ontvangen op 4 maart 2020;
 - 3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates, zoals ontvangen op 11 maart 2020;
 - 3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates, zoals ontvangen op 16 maart 2020;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 11 maart 2020;
 - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 4 maart 2020
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 11 maart 2020, 16 maart 2020.

Aanvraagnummer:

AVD10.2.g

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta of Macaca fascicularis	60	100,0% Matig
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta of Macaca fascicularis	150	100,0% Matig
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta of Macaca fascicularis	48	100,0% Matig
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis	100	100,0% Matig

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2026 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

Geldende voorschriften

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

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of

Aanvraagnummer:
AVD10.2.g

door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.

- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:

AVD10.2.g

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:

AVD10.2.g

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 primaat moet volgens artikel 15a van de wet een levensloofdossier bijgehouden worden.

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e, zevende lid van de wet, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, eerste lid onder d en derde lid van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die

Aanvraagnummer:

AVD10.2.g

leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld.

Van: Info-zbo
Aan: 10.2.e
Cc:
Bcc:
Onderwerp: Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven AVC10.2.g
Datum: dinsdag 17 maart 2020 11:51:14
Bijlagen: Beschikking 9404.pdf
Dec_advies_AVC10.2.g.pdf

Geachte 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.

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum van 22 maart 2020 over te maken.

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

Nationaal Comité advies dierproevenbeleid www.ncadierproevenbeleid.nl

.....
Postbus 93118
2509 AC Den Haag
T: 0900 2800028
E: info@zbo-ccd.nl



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g
10.2.e
10.2.g
[Redacted]

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD 10.2.g
Bijlagen
3

Datum 17 maart 2020
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e,

Op 21 februari 2020 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections" met aanvraagnummer AVD 10.2.g. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed. Uit artikel 10a, eerste lid van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet) volgt daarom dat het is toegestaan om uw project uit te voeren binnen de gestelde vergunningsperiode. De vergunning wordt afgegeven van 17 maart 2020 tot en met 16 maart 2025. Aan de vergunning hebben wij de volgende voorwaarde verbonden op grond van artikel 10a1, tweede lid van de wet.

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2026 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

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

Procedure

Datum:

17 maart 2020

Aanvraagnummer:

AVC 10.2.g

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de dierexperimentencommissie DEC 10.2.g (hierna: DEC). Dit advies is ontvangen op 4 maart 2020. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, derde lid van de wet.

Nadere vragen aanvrager

Op 10 maart 2020 en 13 maart 2020 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. Het verzoek om aanvullingen had betrekking op enkele aanpassingen in de NTS, en nadere beschrijving van de (on)mogelijkheden van vervanging. Uw reactie is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

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

De vergunde termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat u tijdens de behandeling van uw aanvraag (telefonisch) heeft aangegeven dat u zo snel als mogelijk wilt starten met het project.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project moet er een beoordeling plaatsvinden zoals bedoeld in artikel 10a1, eerste lid, onder d van de wet. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2026 plaatsvinden. Meer informatie over de eisen die gesteld worden bij de beoordeling achteraf vindt u in de bijlage 'Weergave wet- en regelgeving'.

Bezwaar

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

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

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

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. Nadat u een bezwaarschrift heeft ingediend kunt u een voorlopige voorziening vragen bij de voorzieningenrechter van de rechtbank in de vestigingsplaats van de

vergunninghouder. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisende situatie.

Datum:
17 maart 2020
Aanvraagnummer:
AVD 10.2.g

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

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2.e



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: 10.2.g

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

Deze projectvergunning voor het tijdvak 17 maart 2020 tot en met 16 maart 2025, voor het project "Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections" met aanvraagnummer AVD 10.2.g, na advies van dierexperimentencommissie DEC 10.2.g. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is 10.2.e

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

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 21 februari 2020
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 4 maart 2020;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates, zoals ontvangen op 4 maart 2020;
 - 3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates, zoals ontvangen op 4 maart 2020;
 - 3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates, zoals ontvangen op 11 maart 2020;
 - 3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates, zoals ontvangen op 16 maart 2020;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 11 maart 2020;
 - d Advies van dierexperimentencommissie, zoals ontvangen op 4 maart 2020
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, zoals ontvangen op 11 maart 2020, 16 maart 2020.

Aanvraagnummer:

AVD10.2.g

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ongerief
3.4.4.1 Development of a coronavirus virus infection model in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta of Macaca fascicularis	60	100,0% Matig
3.4.4.2 Vaccine evaluation in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta of Macaca fascicularis	150	100,0% Matig
3.4.4.3 Pharmacokinetics (PK) of CoV antiviral compounds in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta of Macaca fascicularis	48	100,0% Matig
3.4.4.4 CoV antiviral efficacy study in nonhuman primates			
	Rhesusapen (Macaca mulatta) / Macaca mulatta en/of Macaca fascicularis	100	100,0% Matig

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2026 plaatsvinden. Er zal dan conform artikel 10a2, derde lid van de wet, beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt.

Geldende voorschriften

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

- Go/ no go momenten worden voor aanvang van elk experiment afgestemd met de IvD.
- Het is verboden een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of

Aanvraagnummer:
AVD10.2.g

door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.

- Het is verboden dierproeven te verrichten voor een doel waarvan het belang niet opweegt tegen het ongerief dat aan het proefdier wordt berokkend.
- Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.



Aanvraagnummer:

AVD10.2.g

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:

AVD10.2.g

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.

Levensloopp dossier

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

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e, zevende lid van de wet, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, eerste lid onder d en derde lid van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die

Aanvraagnummer:
AVD10.2.g

leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld.

Van: info@zbo-ccd.nl
Aan: dec@10.2.g
Onderwerp: Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g
Datum: maandag 30 maart 2020 13:38:17

Geachte DEC 10.2.g

Op 21-02-2020 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project 'Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections' met aanvraagnummer AVD 10.2.g.

De CCD heeft de aanvrager aanvullende vragen gesteld. De aanvullingen hadden betrekking op enkele aanpassingen in de NTS, en nadere beschrijving van de (on)mogelijkheden van vervanging.

De CCD heeft besloten de vergunning toe te wijzen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht. De beschikking is verstuurd op 17-3-2020.

Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelvingsvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen.

Wij willen u bedanken voor de snelle doch zorgvuldige advisering aan de CCD over dit project.

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

Met vriendelijke groet,
Namens de Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

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

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

Van: 10.2.e
Aan:
Onderwerp: NTS graag publiceren
Datum: maandag 30 maart 2020 13:51:45
Bijlagen: [NTS20209404_publicatie.pdf](#)

Uw bericht kan nu met de volgende bijlagen of koppelingen worden verzonden:

NTS20209404_publicatie



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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | | |
|------------------------------|---|
| 1.1 Titel van het project | Onderzoek naar de werkzaamheid van vaccins en antivirale middelen tegen nieuwe coronavirussen |
| 1.2 Looptijd van het project | 01-04-2020 – 31-3-2025 |
| 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Coronavirus, vaccin, niet-humane primaten, werkzaamheid, antiviraal |

2 Categorie van het project

- | | |
|--|---|
| 2.1 In welke categorie valt het project. | <input type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek |
| | <input checked="" type="checkbox"/> X Translationeel of toegepast onderzoek |
| | <input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | <input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid |
| | <input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort |
| | <input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding |
| | <input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek |
| | <input type="checkbox"/> Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven |

3 Projectbeschrijving

- | | |
|---|--|
| 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang) | In de afgelopen 20 jaar zijn er drie uitbraken geweest van nieuwe coronavirussen bij de mens. Het SARS-coronavirus dat in 2002-2003 opdook in China, het MERS-coronavirus dat in 2012 opdook in Saoedi-Arabië, en het virus dat in 2019 ernstige luchtweginfecties veroorzaakte in China. Dit laatste virus heeft de naam SARS-CoV-2 gekregen vanwege de grote genetische verwantschappen met het SARS-Coronavirus, terwijl de ziekte COVID-19 (Coronavirus disease 2019) genoemd wordt. |
|---|--|

Alle drie de virussen zijn afkomstig van dieren (zgn. zoonose), en kunnen bij de mens zeer ernstige luchtweginfecties veroorzaken. De SARS uitbraak resulteerde in 8096 ziekenhuisopnames, waarvan 774 patiënten overleden (9.5%), terwijl van MERS 2499 ziektegevallen bekend zijn, met 861 doden als gevolg (34.5%). De huidige uitbraak van SARS-CoV-2 heeft al geleid tot 73.328 gevallen met 1.873 doden (2,5 %), en heeft zich al over 28 landen wereldwijd verspreid (dd. 18/2/2020). Vanwege de ernst van de uitbraak heeft de Wereldgezondheidsorganisatie deze coronavirus-uitbraak een volksgezondheidsprobleem van internationaal belang genoemd. Op dit ogenblik zijn er nog geen geregistreerde vaccins of antivirale middelen tegen coronavirussen. Momenteel worden enkele breed-spectrum antivirale middelen, ontwikkeld voor andere virale infecties, toegepast bij patiënten, maar hiervan zijn nog geen resultaten beschreven. In dit project zullen wij de beschermende werking van nieuw-ontwikkelde coronavirus-vaccins en antivirale middelen onderzoeken in een model voor coronavirusinfecties in apen

- | | |
|---|--|
| 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | Vaccins en antivirale middelen die gericht zijn tegen het coronavirus dat in december 2019 in China een uitbraak onder mensen veroorzaakte, het SARS-CoV-2, zullen worden getest in dit project. Het grote doel is vaccins en antivirale middelen te ontwikkelen die bescherming kunnen bieden tegen verschillende bekende en nog onbekende coronavirussen. Afgaande op de recente coronavirus uitbraak, maar ook die van het SARS-coronavirus en het MERS-coronavirussen, kunnen dergelijke vaccins en antivirale middelen veel levens redden bij een toekomstige uitbraken van coronavirussen. |
| 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? | Maximaal 358 resusapen en/of Java apen |
| 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | De dieren ondervinden ongerief door biotechnische handelingen, en het plaatsen van een temperatuurtransponder in de buikholte. Daarnaast kunnen de dieren ziek worden door de virusinfectie. In studies met verwante coronavirussen kregen apen luchtweginfecties, gekenmerkt door kuchen en niezen |
| 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? | Door toepassing van een humaan eindpunt wordt de welzijnsaantasting beperkt tot matig. |
| 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop? | De dieren die tijdens de studies worden geïnfecteerd met het SARS-CoV-2 virus worden aan het einde van het experiment geëuthanaseerd. Niet-geïnfecteerde kunnen deel blijven uitmaken van de experimentele kolonie op het instituut en worden hergebruikt voor ander onderzoek. |

4 Drie V's

- | | |
|---|---|
| 4.1 Vervanging
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig | Het is nog niet mogelijk om de beschermende werking van vaccins en de werkzaamheid van antivirale middelen te bepalen zonder gebruik van proefdieren. Het afweersysteem is dermate ingewikkeld dat de |
|---|---|

is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

beschermende werking van een vaccin tegen coronavirusinfectie nog niet in het laboratorium kan worden nagebootst. Vanwege hun grote immunologische overeenkomsten met de mens zijn apen het meest geschikt voor dit vaccinonderzoek. De grote gelijkheid in metabolisme, en fysiologie met dat van de mens maakt hen ook het meest geschikt voor het onderzoek naar de veiligheid en werkzaamheid van antivirale middelen voordat deze in klinische studies in de mens worden getest.

4.2 Vermindering

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Alleen vaccinkandidaten en antivirale middelen die eerst in andere proefdiersoorten veilig en veelbelovend zijn getest zullen in apen worden getest op hun werkzaamheid. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statistische analyses. Waar mogelijk zullen meerdere vaccins of middelen tegelijk getest worden, waardoor maar één controlegroep nodig is. Bij vaccins wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering: als het vaccin geen immuunreactie opwekt, of als het nadelige invloed heeft op de gezondheid van de dieren, zal niet worden overgegaan op het infecteren met coronavirus. In farmacokinetiek studies voor antivirale middelen zal worden onderzocht hoe lang een stof aanwezig en werkzaam blijft in het lichaam. In deze studies zullen meerdere doseringen worden getest in hetzelfde dier, waardoor het totale aantal dieren in deze studies zo beperkt mogelijk zal zijn. In de effectiviteitsstudies wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering. Na de eerste fase vindt statistische analyse plaats van de tot dan toe bereikte resultaten. Op basis van deze analyse wordt dan besloten om wel of niet door te gaan

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.

Onderzoek naar de werkzaamheid van coronavirusvaccins kan in diverse dieren worden uitgevoerd. Alleen in de laatste fase van de vaccinontwikkeling, voorafgaan aan testen in de mens, is uittesten in apen nodig omdat deze dieren wat betreft hun fysiologie en afweersysteem het meest op de mens lijken. Andere proefdieren, zoals knaagdieren zijn in deze fase van het onderzoek niet geschikt omdat deze virussen in muizen vaak niet een goede infectie geven en wat betreft hun afweersysteem op diverse punten afwijken van de mens. Daarom is in apen de kans het grootst dat eventuele onverwachte nadelige effecten alsnog opgespoord kunnen worden en een goede voorspelling gedaan kan worden wat betreft werkzaamheid bij de mens. Telemetrie (draadloze meting met behulp van een sensor) zal worden gebruikt voor het continu meten de lichaamstemperatuur. Deze informatie wordt gebruikt om de ziekteprogressie te volgen en om tijdig in te grijpen om ongerief te voorkomen. Daarbij wordt een klinische scorelijst gebruikt om te bepalen of een dier een humaan eindpunt heeft bereikt.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De verwachte ziekteverschijnselen zijn te vergelijken met een luchtweginfectie. De dieren worden intensief geobserveerd zodat wanneer ziekteverschijnselen optreden zeer snel actie kan worden ondernomen. Alle biotechnische handelingen worden uitgevoerd onder verdoving. Waar nodig wordt pijnstilling gegeven. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan de toediening van de verdoving. Om de dieren zo veel mogelijk natuurlijk gedrag te laten vertonen is op het onderzoeksinstituut een uitgebreid programma voor diertraining en kooiverrijking opgezet.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Ja

Andere opmerkingen