

Inventaris Wob-verzoek W20-05									
8829		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
Nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1	Aanvraagformulier, d.d. 1 oktober 2019				x		x	x	
2	NTS	x							
3	Projectvoorstel, d.d. 1 oktober 2019				x		x	x	
4	Bijlage 1, d.d. 1 oktober 2019				x			x	
5	Bijlage 2, d.d. 1 oktober 2019				x			x	
6	Bevestigingsbrief inzake behandeling van aanvraag				x		x	x	
7	Interne e-mail inzake ontvangst van een nieuwe aanvraag, d.d. 4 oktober 2019				x		x	x	
8	Begeleidende e-mail aan vergunninghouder inzake behandeling van aanvraag, d.d. 4 oktober 2019				x		x	x	
9	Ontvangstbevestiging en factuur, d.d. 4 oktober 2019				x		x	x	
10	E-mail van CCD betreffende de DEC-Adviesaanvraag, d.d. 4 oktober 2019				x		x	x	
11	E-mail van CCD aan vergunninghouder betreffende bevestiging van DEC-Adviesaanvraag, d.d. 4 oktober 2019				x		x	x	
12	E-mail van DEC betreffende ontvangst van verzoek van CCD omtrent DEC-Adviesaanvraag, d.d. 4 oktober 2019				x		x	x	



### Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

#### 1 Gegevens aanvrager

1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?

*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

Ja > Vul uw deelnemernummer in  Nee > U kunt geen aanvraag doen

10.2.g

1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam instelling of organisatie  
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde  
KvK-nummer

10.2.g

10.2.e

1.3 Vul de gegevens van het postadres in. *Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*

Straat en huisnummer  
Postbus  
Postcode en plaats  
IBAN  
Tenaamstelling van het rekeningnummer

10.2.g

1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters  
Functie  
Afdeling  
Telefoonnummer  
E-mailadres

10.2.e

Dhr.  Mw.

1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.

(Titel) Naam en voorletters  
Functie  
Afdeling  
Telefoonnummer  
E-mailadres

Dhr.  Mw.

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

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- Startdatum 01 - 12 - 2019
- Einddatum 30 - 11 - 2024
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC DEC 10.2 g
- Postadres Postbus 10.2 g
- E-mailadres dec@10.2 g

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1615,- Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

## 5 Checklist bijlagen

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

## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam

10.2.e

Functie

Plaats

10.2.g

Datum

01 - 10 - 2019

Handtekening

10.2.e

**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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

**1 Algemene gegevens**

- 1.1 Titel van het project Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens
- 1.2 Looptijd van het project 1 december 2019 – 30 november 2024 (5 jaar)
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) Vaccins, flavivirussen, apen, werkzaamheid, veiligheid

**2 Categorie van het project**

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

**3 Projectbeschrijving**

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- In dit project willen wij de werkzaamheid van vaccins tegen het West Nijl virus en het Usutu virus testen in apen. Beide virussen worden overgedragen via muggenbeten en kunnen zeer ernstige ziekteverschijnselen veroorzaken bij de mens, soms met dodelijke afloop. De Wereld Gezondheidsorganisatie WHO heeft beide virussen geplaatst op de 'longlist' van wereldwijd opkomende ziekten die een potentieel gevaar vormen voor de volksgezondheid, en waarvoor nog geen, of onvoldoende, geneesmiddelen of vaccins bestaan. In dit project zullen wij een Usutu virus infectiemodel in resusapen opzetten dat, samen met het al bestaande model voor het West Nijl

virus, zal worden gebruikt om de beschermende werking en veiligheid van kandidaatvaccins te evalueren.

- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? Vaccinatie is de beste methode om mensen te beschermen tegen infectieziekten. Dit onderzoek zal bijdragen aan de ontwikkeling van vaccins voor de mens tegen de steeds vaker voorkomende ernstige infectieziekten veroorzaakt door West Nijl en Usutu virussen.
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? Maximaal 72 resusapen
- 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 onderhuids plaatsen van een meetinstrument. Daarnaast kunnen de dieren ziek worden door de virusinfectie.
- 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 worden aan het einde van het experiment geëuthanaseerd

## 4 Drie V's

- 4.1 **Vervanging**  
Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. Het is nog niet mogelijk om de beschermende werking en veiligheid van vaccins te bepalen zonder het gebruik van proefdieren. Het afweersysteem is dermate ingewikkeld dat de beschermende werking van een vaccin tegen een virusinfectie nog niet in het laboratorium kan worden nagebootst. Vanwege hun grote immunologische overeenkomsten met de mens zijn apen het meest geschikt als proefdiermodel voor dit vaccinonderzoek. Hierdoor kan een gedegen voorspelling wat betreft werkzaamheid bij de mens worden gedaan.
- 4.2 **Vermindering**  
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. Alleen vaccinkandidaten die eerst in knaagdiermodellen zijn getest zullen in apen worden getest op hun beschermende werking. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statistische analyses. Waar mogelijk zullen meerdere vaccins tegelijk getest worden, waardoor maar één controlegroep nodig is. Er wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering: als het vaccin geen immunreactie

opwekt, of als het nadelige invloed heeft op de gezondheid van de dieren, zal niet worden overgegaan op het infecteren van de dieren met het virus.

#### 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.

Om een virusvaccin te ontwikkelen is het nodig een diersmodel te gebruiken dat immunologisch en fysiologisch grote overeenkomsten met de mens vertoont. Knaagdiermodellen zijn belangrijk in de eerste fase van de vaccinontwikkeling waarin vaccinkandidaten worden geselecteerd op hun vermogen om specifieke immunologische reacties op te wekken. In de laatste fase, vóórdat de vaccins bij menselijke vrijwilligers worden toegediend, worden de vaccins op hun effectiviteit en veiligheid getest in resusapen vanwege de immunologisch en fysiologisch overeenkomsten van de apen met de mens.

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

Handelingen zullen 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. De dieren worden intensief geobserveerd zodat wanneer ziekteverschijnselen optreden zeer snel actie kan worden ondernomen. 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



## Format Projectvoorstel dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

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

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

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

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



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

Verschillende muggen-overdraagbare flavivirussen zijn belangrijke ziekteveroorzakers bij de mens. Tot deze virussen behoren o.m. het knokkelkoorts virus (dengue virus; DENV), Zika virus (ZIKV), gele koorts virus (YFV), Japanse encefalitis virus (JEV), en het West Nijl virus (WNV). Daarnaast is het Usutu virus (USUV) in Europa sterk in opkomst [1,30]; USUV infecties zijn de oorzaak van grote sterfte onder verschillende vogelsoorten, in het bijzonder onder de merel, maar minder bekend is dat dit virus ook ernstige ziekteverschijnselen kan veroorzaken bij de mens (zie later). Het aantal infecties met deze muggen-overdraagbare flavivirussen is in de afgelopen decennia sterk toegenomen. Deze virussen worden daarom ingedeeld bij de zgn. opkomende ('emerging') virussen. Hieronder vallen ook andere belangrijke niet-flavivirussen zoals het ebolavirus, vogelgriepvirus, Chikungunya virus, en de SARS en MERS coronavirussen.

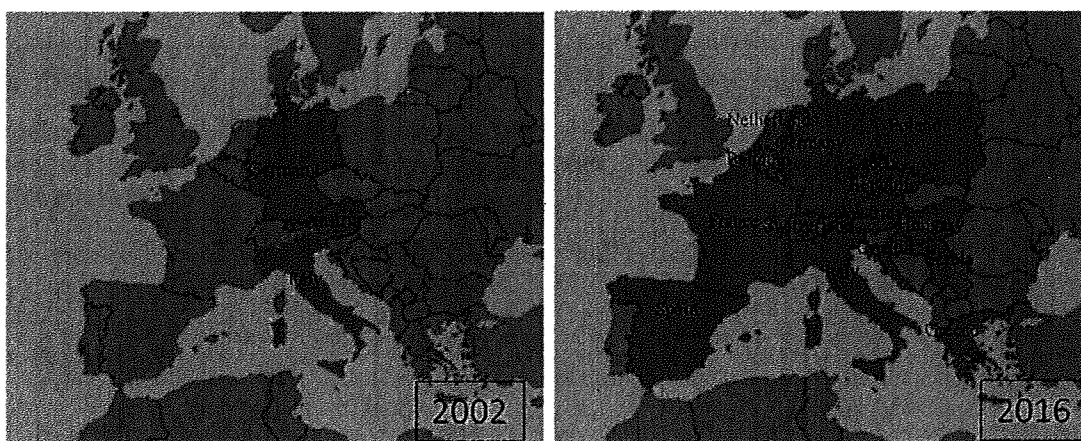
Verschillende factoren, waaronder toename van de wereldbevolking, armoede en globalisering van reizen en handel, zijn (mede)oorzaak van de recente introductie van de flavivirussen in gebieden waar deze nog niet eerder voorkwamen [16]. Daarnaast heeft de wereldwijde klimaatverandering, geassocieerd met stijgende temperaturen en verschuivingen in neerslag, geleid tot een uitbreiding van de verspreidingsgebieden van de muggensoorten die deze virussen kunnen overbrengen [42,43]. De opkomende flavivirussen zijn daarom in toenemende mate een risico voor de gezondheid van mens en dier wereldwijd [14,31].

In dit project richten wij ons specifiek op de ontwikkeling van vaccins tegen twee genetisch nauwverwante flavivirussen: WNV en USUV. Vogels zijn de voornaamste gastheer voor WNV en USUV. Na infectie kunnen vogels enorme hoeveelheden virus in hun bloed hebben. De virussen kunnen dan via bloedzuigende muggen worden overgedragen naar andere gastheren, zoals de mens en andere zoogdieren [11,27,29]. Het WNV komt op alle continenten voor [6], terwijl USUV tot op heden alleen is aangetroffen in Afrika en Europa [13]. In tegenstelling tot YFV, DENV, ZIKV en JEV, worden WNV en USUV voornamelijk overgedragen door muggen van het geslacht *Culex*, waaronder de in Europa zeer algemeen voorkomende Gewone Steekmug (*Culex pipiens*) behoort.

Bij de mens zal 80% van de WNV-infecties ongemerkt voorbijgaan. In 20% van de gevallen veroorzaakt WNV milde griepachtige verschijnselen ('West Nijl koorts'), maar in een klein aantal gevallen (< 1%) kan een WNV-infectie leiden tot ernstige aandoeningen, zoals encefalitis en meningitis. In sommige gevallen kan WNV-infectie een dodelijke afloop hebben (<0.1%), in het bijzonder bij mensen met een verminderde afweer [8]. Het WNV is voor het eerst geïsoleerd in het West Nijl district in Oeganda in 1937. Tot aan de 90-er jaren van de vorige eeuw werden verschillende genetische varianten van dit virus voornamelijk gevonden in Afrika, India, en Australië. Echter sinds 1990 heeft het virus zich verspreid naar Europa, en in 1999 heeft WNV de overstap gemaakt naar Noord-Amerika. Deze overstap heeft geleid tot een zeer snelle verspreiding over het Amerikaanse continent, en is verantwoordelijk voor een aanzienlijke hoeveelheid ziekte- en sterftegevallen. Alleen al in de Verenigde Staten zijn tussen 1999 en 2017 meer dan 48.000 gevallen van WNV koorts gedocumenteerd, waarvan 23.000 gevallen van ernstige neuro-invasieve infectie. Dit heeft geleid tot 2.163 sterftegevallen [40]. In Europa werd het virus voor het eerst in de 90-er jaren rond de Middellandse zee aangetroffen (Israël). Sindsdien is WNV ook in andere Mediterrane landen en Midden-Europese landen, zoals Italië, Griekenland, Roemenië en Hongarije, endemisch geworden. In 2018 zijn in Europa en omliggende landen 2083 bevestigde gevallen van West Nijl koorts gerapporteerd. Dit is een factor 7.2 toename ten opzichte van 2017. In Europa alleen heeft dit geresulteerd in 181 gevallen met fatale afloop. Daarnaast is het WNV in 2018 voor het eerst aangetroffen in Duitsland. Dit betrof WNV-infecties van verschillende vogels en een paard [41].

Het Usutu virus is voor het eerst geïsoleerd in 1959, in Zuid-Afrika, uit *Culex neavi* muggen [37]. USUV is genetisch zeer nauw verwant aan WNV, en wordt overgedragen door dezelfde muggensoorten behorende tot geslacht *Culex*. In 2001 werd het virus voor het eerst aangetroffen in Europa, in Oostenrijk [35]. Hier was het virus verantwoordelijk voor een grote sterfte onder merels, zwaluwen en grijze uilen. Sindsdien heeft het virus zich over een groot deel van Europa verspreid. In 2016 is het virus voor het eerst

aangetroffen in Nederland [27]. Net als WNV, kan USUV ook mensen infecteren. USUV kan bij mensen met milde tot ernstige ziekteverschijnselen veroorzaken die worden gekenmerkt door koorts, huiduitslag, geelzucht, hoofdpijn, nekstijfheid, handtremor en hyperreflexie. Tot dusverre werden mensen beschouwd als incidentele gastheren met een zeer lage prevalentie, maar recente onderzoeken wijzen erop dat humane USUV-infecties geen sporadische gebeurtenis zijn, en mogelijk zelfs vaker voorkomen dan WNV-infecties [5].



Saiz and Blázquez (2017) Usutu virus Current knowledge and future perspectives. Virus Adaptation and Treatment 9 27 40.

De eerste ernstige gevallen van USUV-infectie in mensen in Europa zijn beschreven in Italië in 2009. Het betrof hier twee personen met verzwakt immuunsysteem, die ernstige meningo-encefalitis ontwikkelden na USUV-infectie [4,25]. Sindsdien zijn meerder ernstige ziektegevallen beschreven in Italië (2011 en 2017), Kroatië (2015), Frankrijk (2016), en Duitsland (2016). Screening van bloeddonoren, bosarbeiders, en WNV-positieve sera heeft uitgewezen dat USUV-infecties van mensen vaker voorkomen dan eerst werd aangenomen, en dat USUV-positieve sera vaak (door kruisreactie van antilichamen) abusievelijk als WNV-positief zijn gerapporteerd. De huidige status van USUV lijkt sterk op die van WNV in Europa rond 1990 toen dit virus slechts sporadisch ziekte veroorzaakte bij de mens [17]. Echter, **USUV heeft de potentie om een serieus humaan pathogeen te worden** door zijn brede gastheergebruik (het virus is tot nu toe aangetroffen in acht verschillende, wijdverbreid voorkomende muggensoorten) in combinatie met de uitbreiding van het verspreidingsgebied van deze gastheren [5]. Daarnaast bestaat **de mogelijkheid dat het virus zich aanpast aan nieuwe gastheren, of veranderde omstandigheden**, zoals dit bij de West Nijl en Zika flavivirussen is gebeurd [23,34], maar ook bij andere virale infecties zoals is bijvoorbeeld bij Chikungunya virus, en de SARS- en MERS-coronavirussen [9,18]. In een dergelijke situatie kunnen de beschikbaarheid van een kandidaatvaccin en een relevant diermodel voor de ontwikkeling van geneesmiddelen van grote waarde zijn voor een snelle interventie bij een virusziekte uitbraak.

#### 'Preparedness'

De kennis die is opgedaan met bovengenoemde recente virusuitbraken heeft geleid tot fundamenteel nieuwe inzichten bij internationale gezondheidsorganisaties zoals de Wereld Gezondheids Organisatie (WHO), het European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in de VS, en stichtingen zoals de Coalition for Epidemic Preparedness Innovations (CEPI). Naast de snelle interventie ter voorkoming van verdere verspreiding van virusuitbraken, zoals bij de uitbraken van SARS en MERS, en de recente Ebolavirus uitbraken in Afrika, is het besef ontstaan dat men ook **voorbereid moet zijn ('preparedness') op toekomstige uitbraken van onbekende virussen (de zgn. 'Disease X') en (minder)bekende pathogenen met potentie om ernstige ziekte te veroorzaken bij de mens.**

De recente Zika virusepidemie kan model staan voor 'Disease X'. ZIKV was al bekend sinds 1947, en het was al bekend dat dit virus ziekte bij mensen kon veroorzaken: in de jaren vóór de uitbraak in Midden- en Zuid-Amerika waren er al verschillende uitbraken geweest in gebieden in de Stille Oceaan. Een snelle reactie op deze eerste tekenen van serieuze ziekte door ZIKV had de wereld mogelijk kunnen voorbereiden op de verdere verspreiding van ZIKV-infecties, en daarmee het aantal gevallen van ZIKV-gerelateerde microcefalie bij baby's kunnen beperken.

Vanwege hun ziekteverwekkende eigenschappen, en hun potentieel om zich via veelvoorkomende muggensoorten zeer snel te verspreiden heeft de WHO het West Nijl virus en het Usutu Virus geplaatst op de 'long-list' van wereldwijd opkomende ziekten die een potentieel gevaar vormen voor de volksgezondheid en waarvoor nog geen, of onvoldoende, geneesmiddelen of vaccins bestaan [36].

### **Apen proefdiermodellen**

Het gebruik van niet-humane primaten (NHP) ten behoeve van een vaccin onderzoek is essentieel. Het evalueren van vaccins voor gebruik in mensen heeft een proefdiermodel dat geïnfecteerd kan worden met het hetzelfde agens waartegen de mens dient te worden beschermd en dat tevens een immuunsysteem heeft dat sterk overeenkomt met dat van de mens. De evolutionaire afstand tussen de muis en de mens is 65 miljoen jaar [10]. Het is dan ook niet verwonderlijk dat het immuunsysteem van de muis een groot aantal essentiële verschillen met dat van de mens vertoont, waardoor bevindingen uit het muizenonderzoek vaak moeilijk, of slechts beperkt te vertalen zijn naar de mens [3,10,15,19,22,24,26,28]. De verschillen in immuunsysteem zijn vaak nog groter bij inteelt of knock-out muizenstammen [33,38] met als gevolg dat de rol van de muis in preklinisch onderzoek teleurstellend is gebleken [10,26]. Muizen worden alleen gebruikt in preklinisch vaccinonderzoek om het vermogen van een vaccin om een immuunrespons op te wekken en om vaccin formuleringen te testen. Onderzoek in muizen is echter niet geschikt om te voorspellen hoe de immuunreactie in de mens zal zijn. Daarom is vaccin testen in NHP nodig voordat toepassing in de mens mogelijk is. NHP zijn evolutionair veel nauwer verwant aan de mens dan muizen. De evolutionaire afstand tussen mens en bijv. resusaap wordt geschat op 25-32 miljoen jaar [26]. Het immuunsysteem van NHP vertoont grote gelijkens met dat van de mens, en de door virale infectie of vaccinatie opgewekte immuunresponsen in apen zijn in hoge mate vergelijkbaar met die van de mens.

Momenteel zijn alleen muizen gebruikt in het onderzoek naar USUV [2,21,6]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals USUV, zijn NHP vanwege hun immunologische en fysiologische overeenkomsten met de mens daarom onmisbaar als preklinisch proefdiermodel voor evaluatie van de effectiviteit en de veiligheid van vaccins. Van zowel resusapen als marmosets is bekend dat zij zeer gevoelig zijn voor infecties met verschillende flavivirussen zoals DENV, ZIKV, en WNV [12]. Van USUV zijn nog geen infectiestudies met NHP gepubliceerd, maar uit eigen onderzoek is reeds gebleken dat cellijnen en primaire cellen afkomstig van NHP eenvoudig kunnen worden geïnfecteerd met dit virus. Op basis van deze bevindingen, en het feit dat USUV mensen kan infecteren, kan worden aangenomen dat NHP ook gevoelig zijn voor infectie met USUV.

Het lichaamsgewicht van resusapen (> 7kg) maakt het verzamelen van relatief grote bloedvolumes mogelijk. Dit is cruciaal voor experimentele infectie- en vaccin-evaluatiestudies, omdat het monitoren van de viremie een dagelijkse bemonstering voor een langere periode noodzakelijk maakt. Daarnaast zijn voor de verschillende immunologische testen die nodig zijn om de immuunreacties na vaccinatie te onderzoeken, bloedvolumina nodig die niet bij de marmoset kunnen worden afgenomen. Omdat het immuunsysteem van de resusaap meer op dat van de mens lijkt dan dat van marmosets, en om de bovengenoemde praktische redenen, is voor dit project is specifiek gekozen voor de resusaap als diermodel voor de vaccinstudies met WNV en USUV.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

De algemene doelstelling van dit onderzoeksproject is de evaluatie van de werkzaamheid en de veiligheid van nieuwe WNV en USUV vaccins die zijn ontwikkeld voor gebruik bij de mens. Dit onderzoek zal worden uitgevoerd met behulp van de USUV en WNV resusaap-infectie modellen.

Het instituut heeft uitgebreide en langdurige expertise in het uitvoeren van onderzoeken met niet-menselijke primaten. Sinds 2012 werken onderzoekers van het instituut met niet-humane primatenmodellen aan muggen-overgedragen flavivirus infecties, zoals het West Nijl virus, Zika virus en dengue virus [32]. Het instituut beschikt over de geschikte faciliteiten en ervaring om te werken met pathogene virussen bij DM-III en ML-III niveau. Bovendien hebben ze de juiste virologische en immunologische testen voor beoordeling van de werkzaamheid tegen deze virussen. De ruime ervaring met deze virussen garandeert dat deze vaccin-evaluatiestudies in resusapen adequaat zullen worden uitgevoerd.

### 3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

WNV en USUV zijn door muggen overdraagbare virussen waarvan in de afgelopen decennia het verspreidingsgebied sterk is uitgebreid. WNV is de veroorzaker van een ernstige neuro-invasieve infectie bij de mens die kan leiden tot langdurige of chronische neurologische verschijnselen. In sommige gevallen kan West Nijlziekte fataal zijn. USUV is nauw verwant aan het WNV en is de veroorzaker van sporadisch ernstige gevallen van meningo-encefalitis en meningitis bij de mens. Het doel van dit project is de evaluatie van USUV- en WNV-vaccins voor humaan gebruik. Na bewezen werkzaamheid en veiligheid in NHP kunnen deze vaccins worden gebruikt voor de bescherming van specifieke doelgroepen (personen met verminderd immuunsysteem, of zij die door specifieke werkzaamheden een grotere kans hebben met deze virussen geïnfecteerd te raken). Ook kunnen zij bij virusuitbraken direct worden ingezet voor de bescherming van de gehele bevolking.

Vanwege hun potentie (USUV), of bewezen vermogen (WNV) om op grote schaal ernstige ziekte te veroorzaken bij de mens, en vanwege het feit dat geen vaccins of geneesmiddelen beschikbaar zijn tegen deze virusinfecties, heeft de WHO beide virussen op een long-list gezet van wereldwijd opkomende pathogenen waarvoor méér onderzoek en versnelde ontwikkeling van geneesmiddelen en vaccins nodig is. De ontwikkeling van USUV en WNV vaccins voor humaan gebruik past in de door de WHO gepubliceerde 'Research and Development Blueprint' waarin de noodzaak van ontwikkeling van nieuwe diagnostica, geneesmiddelen en vaccins voor o.m. deze virussen wordt benadrukt.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Om de effectiviteit van vaccins tegen WNV en USUV te testen in resusapen is het nodig om eerst verschillende doses van een virus inoculum te testen op het vermogen om apen te infecteren. Het WNV inoculum is in het verleden al gemaakt in het kader van een studie. Daarom is de optimale virusdosering in het inoculum is al bepaald en er zijn al inoculi beschikbaar voor de virusinfecties.

Voor USUV is dit niet het geval. In het kader van dit project zal USUV worden vermeerderd met behulp van insectencellen in celkweek. Dit inoculum zal worden gebruikt voor het opzetten van het USUV

infectiemodel in resusapen (Bijlage 1) en in de vaccinstudies (Bijlage 2). De infectie zal worden uitgevoerd via intradermale toediening (om de muggensteek na te bootsen) en met verschillende virushoeveelheden. Het precieze verloop van de infectie (start, tijdsduur en totale virusproductie) zal worden onderzocht in het bloed van deze dieren. Ook zal een mogelijke ziekteontwikkeling en symptomen worden gedocumenteerd en zal na afloop van de studie onderzocht worden of er nog virus aanwezig is in verschillende organen en weefsels.

De werkzaamheid van de nieuwe vaccins zal worden getest door immunisatie van de dieren, gevolgd door experimentele virusinfectie. Tijdens de immunisatie zal de ontwikkeling van vaccin-geïnduceerde immuunresponsen worden gemeten. Na infectie zal de aanwezigheid/afwezigheid van viremie (= virusdeeltjes in bloed) worden gemeten als belangrijke indicator voor de werkzaamheid van het vaccin. Weefselmonsters zullen worden verzameld en geanalyseerd op afwezigheid of aanwezigheid van door vaccins geïnduceerde pathologie en overgebleven virus.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

1. Experimentele infectie van resusapen met USUV
2. Evaluatie van immunogeniciteit en beschermende werking van nieuwe WNV- en USUV-vaccins in de WNV en USUV vaccinatie-infectie diermodellen

Ad.1. Het opzetten van een model voor USUV infectie, naast het reeds beschikbare WNV infectiemodel, is een essentieel onderdeel van dit project met als primair doel de evaluatie van kandidaatvaccins tegen USUV en WNV. Vaccin-evaluaties kunnen alleen worden uitgevoerd met behulp van een goed gekarakteriseerd infectiemodel waarin de werkzaamheid van een vaccin kan worden bepaald aan de hand van verschillende klinische, virologische en histologische parameters zoals deze beschreven zijn in Bijlage 1. Deze parameters moeten eerst worden vastgesteld in een infectiemodel. Het opzetten van dit model kan daarom niet los worden gezien van het uiteindelijke doel van dit project, te weten het uitvoeren van vaccin-evaluatie studies.

Ad.2 Voor de ontwikkeling van vaccinkandidaten wordt onder meer samengewerkt met een Europese partner. Met deze partner heeft ons instituut al een langlopende en succesvolle samenwerking op het gebied van flavivirus vaccinontwikkeling [32, 44]. De eerder geteste WNV vaccins zullen binnen dit project verder worden ontwikkeld. De nadruk zal liggen op de inductie van sterkere vaccin-geïnduceerde immuunresponsen waardoor in de toekomst bescherming mogelijk moet worden na een enkele vaccinatie. USUV vaccins gebaseerd op geïnactiveerd virus en op de expressie van virale eiwitten in insectencellen, zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling. Tevens zal de mogelijkheid voor het gebruik van DNA vaccins worden onderzocht.

Voor het testen van de werkzaamheid en veiligheid van de vaccins zullen resusapen worden geïmmuniseerd. Vervolgens wordt de ontwikkeling van vaccin-geïnduceerde immuunresponsen gemeten in bloedmonsters van deze dieren. Vervolgens, wanneer adequate immuunreacties zijn geïnduceerd, zal de werkzaamheid van de vaccins tegen infectie worden getest door experimentele infectie met WNV of USUV. Een groep niet-gevaccineerde dieren zal worden gebruikt als infectiecontroles (Bijlage 2).

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

Het is essentieel voor een vaccin-evaluatiestudie dat gebruikt wordt gemaakt van een goed gekarakteriseerd virusinoculum om de beschermende werking van een vaccin te testen. Op het instituut is een gekarakteriseerd WNV inoculum reeds. Dit inoculum is gebruikt in een eerdere studie [32, 44], en voldoet aan de hieronder vermelde criteria. Voor het testen van Usutu virus vaccins zal eerst een inoculum worden gemaakt op weefselkweekcellen, waarna de infectiviteit van dit virus en het verloop van de infectie zal worden geëvalueerd in resusapen (Bijlage 1).

Om door te gaan naar een vaccinstudie in resusapen moet het gebruikte inoculum aan de volgende criteria voldoen:

- a) 100% van de dieren moet geïnfecteerd worden, en
- b) de variatie tussen de dieren moet zodanig zijn dat in een vaccin-evaluatieonderzoek maximaal 6 dieren per testgroep nodig zullen zijn om voldoende statistisch significante resultaten te verkrijgen.


Voordat een vaccinstudie in resusapen wordt uitgevoerd moeten de vaccins hebben voldaan aan de volgende criteria:

1. Het vaccin, of de vaccincomponenten mogen niet toxisch zijn.  
Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst in vitro (celkweek) en in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De gebruikte vaccinstrategie moet nieuw zijn voor de specifieke virusinfectie.  
De te testen strategie is nog niet eerder getest in andere niet-humane primatenstudies. Dit kan betrekking hebben op de keuze van het antigeen, de formulering met adjuvants of andere drager, de route van toediening, of de wijze waarop het vaccin wordt toegediend.
3. De vaccins kunnen niet afdoende worden getest voor hun beschermend effect in andere dan in niet-humane primatendiermodellen vanwege het niet-representatief zijn van deze modellen voor de humane infectie.
4. Nieuwe vaccinkandidaten zullen pas worden getest in niet-humane primaten nadat de immunogeniciteit van het vaccin is bewezen in andere diermodellen.

Gedurende de immunisatiefase zullen de vaccin-geïnduceerde immuunreacties worden gemeten. Aan het einde van deze fase zal op basis van deze analyses een beslissing worden genomen wel/niet over te gaan met de experimentele infectie.

#### Literatuur referenties

1. Benzarti, E., Linden, A., Desmecht, D., & Garigliany, M. (2019). Mosquito-borne epornitic flaviviruses: an update and review. *Journal of General Virology*, 100(2), 119–132.
2. Blázquez, A.-B., Escribano-Romero, E., Martín-Acebes, M. A., Petrović, T., & Saiz, J.-C. (2017). Limited susceptibility of mice to Usutu virus (USUV) infection and induction of flavivirus cross-protective immunity. *Virology*, 482(C), 67–71.
3. Bolker, J. Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*. 2012; 491:31–33.
4. Cavrini, F., Gaibani, P., Longo, G., Pierro, A. M., Rossini, G., Bonilauri, P., et al. (2009). Usutu virus infection in a patient who underwent orthotropic liver transplantation, Italy, August–September 2009. *Euro Surveillance*, 14(50).
5. Cheng, Y., Tjaden, N. B., Jaeschke, A., Lühken, R., Ziegler, U., Thomas, S. M., & Beierkuhnlein, C. (2018). Evaluating the risk for Usutuvirus circulation in Europe: comparison of environmental niche models and epidemiological models. *International Journal of Health Geographics*, 1–14.
6. Ciota, A., & Kramer, L. (2013). Vector-Virus Interactions and Transmission Dynamics of West Nile Virus. *Viruses*, 5(12), 3021–3047.
7. Clark KB, Onlamoon N, Hsiao H-M, Perng GC, Villinger F. Can non-human primates serve as models for investigating dengue disease pathogenesis? *Front Microbiol*. 2013; 4:1-17
8. Colpitts, T. M., Conway, M. J., Montgomery, R. R., & Fikrig, E. (2012). West Nile Virus: Biology, Transmission, and Human Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), 635–648.
9. Cui, J., Li, F., & Shi, Z.-L. (2018). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 1–12.
10. Davis MM. A Prescription for Human Immunology. *Immunity*. 2008; 29(6):835-8.
11. Diamond, M. S. (2009). West Nile Encephalitis Virus Infection. *Springer Science & Business Media*.
12. Estes, J. D., Wong, S. W., & Brenchley, J. M. (2018). Nonhuman primate models of human viral infections. *Nature Reviews Immunology*, 1–15.
13. Gaibani, P., & Rossini, G. (2017). An overview of Usutu virus. *Microbes and Infection*, 19(7-8), 382–387.

14. Gautam, R., Mishra, S., Milhotra, A., Nagpal, R., Mohan, M., Singhal, A., & Kumari, P. (2017). Challenges with Mosquito-borne Viral Diseases: Outbreak of the Monsters. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(19).
15. Hong HS, Rajakumar PA, Billingsley JM, Reeves RK, Johnson RP. No monkey business: why studying NK cells in non-human primates pays off. *Front Immunol*. 2013; 4:1-7.
16. Hotez, P. J. (2016). Southern Europe's Coming Plagues: Vector-Borne Neglected Tropical Diseases. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(6), e0004243.
17. Hubálek, Z., Halouzka, J., & Juricová, Z. (1999). West Nile fever in Czechland. *Emerging Infectious Diseases*, 5(4), 594-595.
18. Lounibos, L. P., & Kramer, L. D. (2016). Invasiveness of *Aedes Aegypti* and *Aedes Albopictus* and Vectorial Capacity for Chikungunya Virus. *Journal of Infectious Diseases*, 214(suppl 5), S453-S458.
19. Louz, D., Bergmans, H. E., Loos, B. P., & Hoeben, R. C. Animal models in virus research: their utility and limitations. *Critical Reviews in Microbiology*. 2013; 39(4): 325-361.
20. Khanna R, Burrows SR. Human immunology: a case for the ascent of non-furry immunology. *Immunology and Cell Biology*, 2011; 89(3):330-31.
21. Martín-Acebes, M. A., Blázquez, A.-B., Cañas-Arranz, R., Vázquez-Calvo, Á., Merino-Ramos, T., Escribano-Romero, E., et al. (2016). A recombinant DNA vaccine protects mice deficient in the alpha/beta interferon receptor against lethal challenge with Usutu virus. *Vaccine*, 34(18), 2066-2073
22. Mestas J, Hughes CCW. Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *The Journal of Immunology*, 2004; 172(5):2731-8.
23. Monini, M., Falcone, E., Busani, L., Romi, R., & Ruggeri, F. M. (2010). West Nile virus: characteristics of an African virus adapting to the third millennium world. *The Open Virology Journal*, 4, 42-51.
24. Nimmerjahn F, Gordan S, Lux A. FcγR dependent mechanisms of cytotoxic, agonistic, and neutralizing antibody activities. *Trends in Immunology*, 2015; 36(6):325-36.
25. Pecorari, M., Longo, G., Gennari, W., Grottola, A., Sabbatini, A., Tagliazucchi, S., et al. (2009). First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August-September 2009. *Euro Surveillance*, 14(50).
26. Perelman P, Johnson W, Roos C, Seuánez H. A Molecular Phylogeny of Living Primates. *PLoS Genetics*, 2011; 7(3):e1001342.
27. Rijks, J. M., Kik, M. L., Slaterus, R., Foppen, R., Stroo, A., IJzer, J., et al. (2016). Widespread Usutu virus outbreak in birds in the Netherlands, 2016. *Euro Surveillance*, 21(45), 30391.
28. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 2014; 112: 59-79.
29. Smith, D. R. (2017). Waiting in the wings: The potential of mosquito transmitted flaviviruses to emerge. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(4), 405-422.
30. Vazquez, A., Jimenez-Clavero, M., Franco, L., Donoso-Mantke, O., Sambri, V., Niedrig, M., et al. (2011). Usutu virus: potential risk of human disease in Europe. *Eurosurveillance*, 16(31).
31. Venter, M. (2017). Assessing the zoonotic potential of arboviruses of African origin. *Current Opinion in Virology*, 28, 74-84.
32. 
33. von Herrath MG, Nepom GT. Lost in translation: barriers to implementing clinical immunotherapeutics for autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*, 2005; 202(9):1159-62.
34. Wang, L., Valderramos, S. G., Wu, A., Ouyang, S., Li, C., Brasil, P., et al. (2016). From Mosquitos to Humans: Genetic Evolution of Zika Virus. *Cell Host & Microbe*, 1-5.
35. Weissenböck, H., Kolodziejek, J., Url, A., Lussy, H., Rebel-Bauder, B., & Nowotny, N. (2002). Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 8(7), 652-656.
36. WHO Research and Development Blueprint. (2018). WHO Research and Development Blueprint, 1-17.
37. Williams, M. C., Simpson, D. I. H., Haddow, A. J., & Knight, E. M. (1964). The Isolation of West Nile Virus from Man and of Usutu Virus from the Bird-Biting Mosquito *Mansonia Aurites*(Theobald) in the Entebbe Area of Uganda. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 58(3), 367-374.

38. Woodward B. Fidelity in Animal Modeling: Prerequisite for a Mechanistic Research Front Relevant to the Inflammatory Incompetence of Acute Pediatric Malnutrition. *Int J Mol Sci.*, 2016; 17(4):541.
39. Zompi, S., and Harris, E. Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses.* 2012; 4: 62–82.
40. <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2018/index.html>
41. <https://ecdc.europa.eu/en/news-events/epidemiological-update-west-nile-virus-transmission-season-europe-2018>
42. Samy, A. M., Elaagip, A. H., Kenawy, M. A., Ayres, C. F. J., Peterson, A. T., & Soliman, D. E. (2016). Climate Change Influences on the Global Potential Distribution of the Mosquito *Culex quinquefasciatus*, Vector of West Nile Virus and Lymphatic Filariasis. *PloS One*, 11(10), e0163863.
43. Vogels, C. B. F., Göertz, G. P., Pijlman, G. P., & Koenraadt, C. J. M. (2017a). Vector competence of northern and southern European *Culex pipiens pipiens* mosquitoes for West Nile virus across a gradient of temperatures. *Medical and Veterinary Entomology*, 31(4), 358–364.
44. 10.2.e en 10.2.g

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Infectie van resusapen met Usutu virus
2	Evaluatie van vaccins tegen West Nijl virus en Usutu virus in resusapen
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	





## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

10.2.g

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Infectie van resusapen met Usutu virus

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Voor het evalueren van de werkzaamheid van vaccins is het essentieel dat een goed-gekaracteriseerd en relevant diermodel beschikbaar is. Voor West Nijl virusinfecties bij de mens is hiervoor reeds een infectiemodel in resusapen beschikbaar op dit instituut. Voor Usutu virus (USUV) is dit niet het geval. Daarom zal eerst een USUV-infectiemodel in resusapen worden opgezet, dat in de tweede fase van dit project samen met het West Nijl virus infectiemodel gebruikt zal worden voor de vaccin-evaluatie van WNV en USUV vaccins voor gebruik bij de mens. Voor de ontwikkeling van vaccinkandidaten wordt onder meer samengewerkt met een Europese partner. Met deze partner heeft ons instituut al een langlopende en succesvolle samenwerking op het gebied van flavivirus vaccinontwikkeling. USUV vaccins gebaseerd op geïnactiveerd virus en op de expressie van virale eiwitten in insectencellen, zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling. Tevens zal door deze partner de mogelijkheid voor het gebruik van DNA vaccins worden onderzocht.

WNV vaccins op basis van virale eiwitten en DNA vectoren zijn reeds eerder getest op hun effectiviteit in resusapen. Deze vaccins zullen binnen dit project verder worden ontwikkeld. De nadruk zal liggen op de inductie van sterkere vaccin-geïnduceerde immunoresponsen waardoor in de toekomst bescherming mogelijk moet worden na een enkele vaccinatie.

In het USUV-infectiemodel worden de normaalwaarden (waarden vóór experimentele infectie), en de veranderingen in deze waarden veroorzaakt door USUV infectie bepaald van een aantal virologische, klinische, immunologische en histologische parameters.

De primaire uitkomstparameter voor virusinfectie is:

- viremie: wanneer begint virusreproductie, wat is de piek van de virushoeveelheid, hoeveel virus wordt er totaal geproduceerd.

Secundaire parameters zijn:

hematologie en bloedchemie

- lichaamstemperatuur en gewicht
- cytokine productie
- productie van antistoffen
- veranderingen van celtypes in het bloed

Na euthanasie en sectie van de dieren volgt dan nog:

- pathologie onderzoek
- histologisch onderzoek
- bepaling van hoeveelheid virus in verschillende organen

Het effect van vaccinatie op de USUV infectie zal uiteindelijk worden bepaald aan de hand van deze verschillende parameters, met als primaire uitleesparameter de viremie.

Om een infectiemodel op te zetten wordt een goed gedefinieerd USUV inoculum gebruikt dat is geproduceerd met behulp van een muggencellijn. In de eerste studie zal de hoeveelheid virus die nodig is voor een infectie worden bepaald. Verschillende doses van het virus zullen worden toegediend via de intradermale weg. Hiervoor is gekozen omdat dit de natuurlijke transmissieroute van het virus (via muggenbeten) het best nabootst. De intradermale route is op ons instituut al succesvol gebruikt voor experimentele infecties met de verwante dengue, Zika en West Nijl virussen, die ook door muggen worden overgebracht. Na infectie wordt op regelmatige tijdstippen bloed afgenomen om te bepalen hoeveel, en gedurende welke periode er virus kan worden gedetecteerd. Een USUV infectie wordt als succesvol beschouwd wanneer na infectie 1) het virus kan worden gedetecteerd in het bloed van meer dan 80% van de dieren, en 2) daarbij minimaal  $10^5$  virale RNA deeltjes per ml plasma worden gemeten tijdens de piekviremie. Dit wordt beschouwd als een go/no go moment voor de beslissing om te starten met deel 2 van het project, het uitvoeren van een vaccinstudie (Bijlage 2.). Tijdens een infectiestudie wordt op regelmatige tijdstippen bloedmonsters afgenomen voor de bepaling van de bovengenoemde parameters. Op het tijdstip van euthanasie wordt pathologisch onderzoek gedaan en worden weefselmonsters genomen voor het histologisch onderzoek en voor de bepaling van mogelijk aanwezig virus in de verschillende organen.

Aan het einde van de eerste fase van dit project, de modelontwikkeling, zal bekend zijn:

1. welke hoeveelheid virus nodig is om resusapen te infecteren met USUV
2. hoe verschillende virologische, klinische en histologische parameters worden beïnvloed door deze virus infectie, d.w.z. welke parameters zullen worden gebruikt voor de evaluatie van nieuw ontwikkelde USUV vaccins

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

De infectiestudie met het Usutu virus is identiek aan studies die eerder zijn uitgevoerd op het instituut met het Zika virus, Dengue virus en West Nijl virus. De dieren worden minimaal 4 weken voor de infectie verhuist naar de experimentele huisvesting (DM-III faciliteit), waar zij sociaal zullen worden gehuisvest met een sociaal-compatibele partner. Op dit tijdstip zal onder narcose via een chirurgische ingreep een telemetrie-transponder voor het meten van lichaamstemperatuur en activiteit onderhuids worden geplaatst. Tegelijkertijd zal ook bloed worden afgenomen voor bepaling van de nulwaarden. De dieren hebben dan een herstel- en acclimatisatieperiode van minimaal 4 weken. Na deze periode worden de dieren geïnfecteerd met het USUV. Na infectie zal van de dieren gedurende 10 dagen dagelijks bloed worden afgenomen voor het monitoren van het verloop van de virusinfectie. Deze intensieve bemonstering is nodig omdat in deze periode, naar analogie met Zika, dengue en West Nijl virus, grote en snelle veranderingen in de hoeveelheid virus in het bloed kunnen optreden. Gedurende deze periode zullen de dieren vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde omdat de dagelijkse verdoving een negatieve invloed heeft op de eetlust van de dieren. Op deze manier wordt het welzijn van de dieren zo min mogelijk aangetast. Na deze periode zal de frequentie van bloedafnames omlaag worden gebracht naar max. 1 maal per 2 dagen. Naar verwachting zal, naar analogie met DENV, WNV en ZIKV, het virus niet langer dan 2-3 weken in het bloed detecteerbaar zijn. Nadat de dieren virus-negatief zijn geworden in de PCR zullen zij nog maximaal 14 dagen worden gevolgd. Wanneer de dieren langer viremisch blijven dan verwacht, dan zal een maximale follow-up periode van 8 weken worden aangehouden.

Na deze periode zullen de dieren geëuthanaseerd worden. Hierna zal necropsie worden uitgevoerd en worden weefselmonsters verzameld voor (histo)pathologisch en virologisch onderzoek. Dit pathologisch en virologisch onderzoek is van bijzonder belang omdat overgebleven, maar replicatie-competent virus in weefsels kan bijdragen aan het opnieuw activeren van de virusinfectie.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Voor USUV willen wij in de eerste infectiestudie 6 dieren gebruiken met 2 dieren per virusverdunding. In eerder studies hebben wij ruime ervaring opgedaan met het uitvoeren van flavivirus infecties in makaken, waaronder Zika, dengue en West Nijl virus. Ook in deze studies gebruikten wij twee dieren per virusverdunding en vonden in alle dieren, ongeacht de dosis toegediend virus, virusreplacatie en vergelijkbare (piek)viremie. De opzet van de USUV-infectiestudie hebben wij daarom gebaseerd op de ervaring met bovengenoemde flavivirussen.

We verwachten dat met dit aantal dieren een adequate beoordeling kan worden gemaakt van de reproduceerbaarheid van infectie (alle dieren moeten virusreplacatie vertonen) en van de variatie in viremie, zoals gemeten in plasma. Op basis van de gegevens van de experimentele infecties kan een berekening worden gemaakt van het aantal dieren dat nodig is in een vaccinevaluatiestudie.

Een vervolgstudie kan nodig zijn wanneer niet de beoogde hoeveelheid virus in het bloed wordt bereikt of niet heeft geleid tot infectie van alle dieren. Ook kan zo nodig in een vervolgstudie getest worden of andere USUV stammen beter geschikt zijn voor de vaccin evaluatiestudies zoals beschreven in Bijlage 2. De noodzaak en de exacte opzet van deze vervolgstudies zal aan de IvD worden voorgelegd.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Resusapen (*Macaca mulatta*), volwassen, M/V, n= 12 dieren

De resusapen zijn afkomstig van het eigen fokprogramma. De aantallen dieren zijn de maximale aantallen. Wij willen per studie 6 dieren gebruiken waarbij per variabele 2 dieren wordt gebruikt. Deze opzet heeft zich bewezen voor eerdere infectiestudies met vergelijkbare flavivirussen, zoals DENV, WNV, en ZIKV.

Indien een vervolgstudie nodig is zal deze ook uit maximaal 6 dieren bestaan. Maximaal zullen voor het opzetten van het USUV infectiemodel 12 makaken worden gebruikt. Wanneer tijdens de voorbereidingen van de studies nieuwe gegevens bekend worden betreffende USUV infecties in apen, dan kan dit aantal mogelijk naar beneden worden aangepast.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

X Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Dieren die eerder zijn gebruikt in andere flavivirus infectiestudies zijn niet geschikt voor hergebruik vanwege de sterke immunologische kruisreactiviteit tussen de verschillende flavivirussen. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaatsvinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1<sup>e</sup> van de Wet op de Dierproeven

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

X Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

### Vervanging

Verschillende diersoorten, voornamelijk knaagdieren en niet-humane primaten zijn gebruikt om een flavivirus-infecties te bestuderen. Van deze verschillende soorten hebben niet-humane primaten het voordeel dat ze

fysiologisch en immunologisch het meest op mensen lijken. Dit heeft belangrijke gevolgen voor zowel vaccinevaluatie-studies en de interactie van de gastheer met het virus, aangezien deze worden beïnvloed door zowel de fysiologie en de reactie van het aangeboren en adaptieve immuunsysteem. De juiste evaluatie van de vaccins voor humaan gebruik vereist adequate infectiemodellen in NHP, hetgeen het doel is van de hier voorgestelde onderzoeken.

#### **Vermindering**

Deze studie omvat de ontwikkeling van een Usutu virus-infectiemodel in resusapen voor gebruik bij testen van de werkzaamheid van vaccins. Op basis van de uitgebreide ervaring met andere (flavi)virale infectiemodellen binnen het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd, verwachten we dat een groep van zes dieren met twee dieren per virusdosis voldoende zal zijn in het eerste experiment. Op basis van de uitkomst van de eerste studie kan het aantal dieren dat nodig is in een mogelijk vervolgentoets worden berekend en kunnen minder dieren nodig zijn.

#### **Verfijning**

Het gebruik van telemetrie om lichaamstemperatuur en activiteit te meten maakt het mogelijk om real-time de gegevens van de dieren te controleren en te verzamelen, zodat het veterinaire personeel op het vroegst mogelijke tijdstip actie kan ondernemen als een van deze parameters wordt beïnvloed door de virusinfectie, zelfs voordat deze wordt gedetecteerd door visuele inspectie. Plaatsing van de telemetrische apparaten vereist een operatie, die onder narcose wordt uitgevoerd. Vervolgens zullen dieren zo lang als nodig pijnstillers krijgen. De dieren zijn getraind om zoveel mogelijk samen te werken met biotechnische handelingen, zoals het geven van sedatie of een virusinfectie. Alle observaties zullen worden gedocumenteerd en toegevoegd aan het klinische scoreformulier dat zal worden opgezet als onderdeel van de experimentele infectieonderzoeken.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De dieren worden sociaal gehuisvest met een sociaal-compatibele partner. Tevens is er een uitgebreid programma voor kooiverrijking in ons instituut. Tijdens de studies zullen dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde dierenverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust of ontlasting, dan worden deze gedocumenteerd en wordt er een dierenarts op de hoogte gebracht. Dan zullen, indien nodig, maatregelen worden getroffen. Alle experimentele procedures worden uitgevoerd onder sedatie met ketamine. Telkens wanneer een dier wordt gesedeerd, zal het dier worden gewogen en zal het dier nauwkeurig worden onderzocht. Ons instituut gebruikt een aangepaste database die alle individuele dieren in het instituut documenteert. Algemene observaties zoals gedrag, eetlust en ontlasting maken deel uit van deze database. Deze database vergemakkelijkt vroege herkenning van kleine veranderingen in deze algemene parameters. In het geval dat een dier pijn lijdt, zal een dierenarts op de hoogte worden gebracht en zal het dier, indien nodig, pijnstillers krijgen om de pijn te verlichten. In het geval een dier ernstig ziek is, zoals beoordeeld door de dierenarts, zal het dier op een vroeg tijdstip humaan worden geëuthanaseerd. Tijdens de eerste 2 weken van de infectie krijgt het dier sondevoeding. Dit is nodig omdat de dagelijkse sedaties van de dieren het vasten van de dieren noodzakelijk maken en de voedselinname tijdens deze periode anders zeer beperkt zou zijn. Omdat de sondevoeding plaatsvindt tijdens de verdoving die nodig is voor de bloedafnames zal het welzijn van de dieren door deze voedingen niet extra worden aangetast. De onderzoeken worden uitgevoerd volgens de Nederlandse wetgeving en veroorzaken geen schadelijke effecten op het milieu.

## **Herhaling en duplicering**

### **E. Herhaling**

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Niet van toepassing

## **Huisvesting en verzorging**

### **F. Huisvesting en verzorging**

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

#### **G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest**

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

X Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

### **Ongeriefinschatting/humane eindpunten**

#### **H. Pijn en pijnbestrijding**

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

X Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

XJa > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Na het plaatsen van de telemetrie-transponder zal pijnbestrijding worden toegepast op voorschrift van de veterinaire met een daartoe geschikte pijnstillers

In het geval er symptomen optreden door de virusinfectie dan kan dit resulteren in pijn. Hiervoor zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire

#### **I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen**

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door inbrengen telemetrie-transponder
2. verminderde eetlust door regelmatige verdovingen
3. ongerief door virusinfectie met klinische symptomen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De dieren kunnen pijn ondervinden door de chirurgische ingreep die nodig is voor het inbrengen van de temperatuur/bewegings-transponder
2. De dieren worden regelmatig verdoofd voor infectie en bloedafnames. Dit kan invloed hebben op de eetlust.
3. USUV infectie kan ziekteverschijnselen veroorzaken. Omdat geen USUV infecties in makaken zijn beschreven, zal een scorelijst van ziekteverschijnselen zal worden opgesteld op basis van vergelijkbare flavivirussen. Deze zal op basis van de eerste infectiestudie verder worden aangepast of uitgebreid.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

1. Na chirurgie krijgen de dieren pijnstilling toegediend

2. om de negatieve effecten te verlichten zullen de dieren in de periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen
3. Bij ziekteverschijnselen zal in overleg met de veterinaire adequate actie worden ondernomen. Krijgt een dier pijn dan wordt orale of parenterale pijnstilling toegediend na overleg met de veterinaire. In het geval een dier ernstig ziek is, zoals beoordeeld door de dierenarts, zal het dier worden geëuthanaseerd

#### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Over USUV infecties bij de mens is nog zeer weinig bekend. Echter, in het geval van infecties met verwante flavivirussen bij de mens is ongeveer 10% van de infecties klinisch relevant. In de beschreven gevallen van USUV bij de mens zijn de klinische symptomen erg divers en tot nu toe is er geen biomarker om het ziekteverloop van tevoren te voorspellen. Geen van de resusapen uit onze infectiestudies met DENV, ZIKV en WNV vertoonden klinische symptomen welke toe konden worden beschreven aan de virusinfectie. Als gevolg hiervan ontbreken klinische scorelijsten met ziekteverschijnselen voor deze aan USUV verwante virussen welke zouden kunnen worden gebruikt in deze studies.

In plaats daarvan zal de algemene toestand van de dieren intensief worden gecontroleerd. Als een dier ziek wordt zullen dierenverzorgers rechtstreeks contact opnemen met de onderzoeker en de dierenarts. Samen met alle beschikbare informatie (hematologie, klinische chemie, algemeen gedrag, extra klinische scoring en virologische status, telemetrie data) beoordeelt de dierenarts de algehele conditie van het dier en stelt hij de vereiste follow-up voor. In het geval een dier ernstig ziek is, zoals beoordeeld door de dierenarts, zal het dier op een vroeg tijdstip humaan worden geëuthanaseerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Ieder dier loopt de kans deze criteria te halen. Het percentage is dus 100%

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Indien geen ziekteverschijnselen ten gevolge van de virusinfectie optreden zal het totale ongerief 'matig' zijn. Afgaande op onze ruime ervaring met de infectie van resusapen met nauwverwante virussen, gaan wij er van uit dat de kans zeer klein is dat er ziekteverschijnselen optreden. Echter, in geval van ernstige ziekteverschijnselen bij de apen zal onverwijld, zeker binnen 24 uur euthanasie worden toegepast om onnodig lijden te beperken, gevolgd door volledige monsternamen. Er is dan geen sprake van langdurig ernstig ongerief, en het cumulatief ongerief kan daarom als 'matig' worden geclassificeerd

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Ten einde onderzoek te kunnen doen naar de aanwezigheid van virus in weefsel en organen, en voor het onderzoek naar mogelijke weefselschade door het Usutu virus is het noodzakelijk de dieren te euthanaseren. Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

10.2.g

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.

Volgnummer	Type dierproef
2	Evaluatie van vaccins tegen West Nijl virus en Usutu virus in resusapen

*Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Voor de opzet van de West Nijl virus (WNV) en Usutu virus (USUV) vaccinatie studies in resusapen zullen wij uitgaan van de opzet zoals die is gebruikt in eerdere flavivirus vaccinatiestudies. Het aantal immunisaties en de toedieningsroute kunnen variëren afhankelijk van het type vaccin. Verschillende groepen van apen zullen één of meerdere malen geïmmuniseerd worden met een experimenteel vaccin. Na iedere immunisatie wordt regelmatig bloed afgenomen en getest op de vorming van een immuunrespons tegen het vaccin, zoals antilichaamresponsen en  $\gamma$ -interferon productie. Na de laatste immunisatie vindt er een evaluatie plaats van de opgewekte immuunresponsen. Virus-neutraliserende antilichaamtiteren zullen worden bepaald met behulp van plaque-reductie neutralisatietests voor WNV en USUV (PRNT50). Deze zijn gebaseerd op de DENV neutralisatietest zoals beschreven in de 'Guidelines for plaque reduction neutralization testing of human antibodies to dengue virus (World Health Organization, 2007)'. Alleen bij een PRNT50 waarde  $>10^3$  zal worden overgegaan tot een experimentele infectie. Dit besluit zal worden genomen in overleg met de IvD. De apen zullen experimenteel worden geïnfecteerd via de intradermale route om de natuurlijke transmissieroute van het virus (via muggenbeten) zo goed mogelijk na te bootsen. Na infectie wordt op regelmatige tijdstippen bloed afgenomen voor de bepaling van de aan- of afwezigheid van virus.

De primaire uitkomstparameters voor vaccinevaluatie zijn:

- Immunogeniciteit: inductie van vaccine-geïnduceerde immuunresponsen.
- Werkzaamheid: de afwezigheid of vermindering van de hoeveelheid virus in plasma na experimentele infectie.

- Afwezigheid van klinische symptomen, afwezigheid van nadelige effecten van het vaccin op algemeen gedrag, afwezigheid van lokale reacties en de afwezigheid van veranderingen in bloedparameters.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Een algemene opzet van een vaccinatie studie bestaat uit maximaal 3 immunisaties, elk met een tussenpoos van maximaal 8 weken. Na iedere immunisatie wordt met regelmatige tussenpozen bloed afgenomen voor de evaluatie van vaccin-geïnduceerde immuunresponsen en de aan- of afwezigheid van vaccin-relateerde gezondheidseffecten. De uitkomst van de metingen na de laatste immunisatie is essentieel voor de go/no-go beslissing om door te gaan met experimentele infectie. Tot infectie zal worden overgegaan wanneer er duidelijke antilichaam responsen meetbaar zijn in een test die gericht is op het meten van alle antilichamen gericht tegen het virus, en in een virusneutralisatietest (PRNT50 waarde  $>10^3$ ). Wanneer deze drempelwaarde niet wordt gehaald, of slechts in een deel van de dieren, kan worden besloten tot een extra immunisatie gevolgd door een extra monitoring periode van maximaal 8 weken. Wanneer dan niet alle dieren uit een groep de drempelwaarde hebben gehaald zal niet worden overgegaan tot infectie omdat dan geen statistisch verantwoorde conclusies kunnen worden getrokken met betrekking tot de beschermende werking van dat specifieke vaccin. Dit zal worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD). Wanneer besloten wordt tot infectie zal tegelijkertijd met de infectie van de gevaccineerde dieren een groep niet-gevaccineerde dieren worden toegevoegd aan de studie als infectiecontroles. Na infectie worden de dieren gedurende minimaal 3 weken gevolgd. De exacte lengte van deze follow-up hangt af van de uitkomsten van de virusinfectiestudies, maar zal niet langer zijn dan 8 weken. Gedurende deze periode worden de dieren eerst dagelijks (tot dag 10) en daarna minder frequent gebloed. Dit is nodig voor de analyse van de hoeveelheid virus in het bloed m.b.v. real-time PCR. Aan het einde van de studie worden alle dieren geëuthanaseerd. Op dat tijdstip wordt extra bloed en weefselmonsters verzameld voor PCR-analyse en histologie.

De details van elke studie, met betrekking tot het interval tussen de immunisaties, het aantal en de tijdstippen van de bemonstering, de specifieke criteria om door te gaan met een virale infectie, het tijdsinterval tussen de laatste immunisatie en de infectie hangen af van het werkelijke type vaccin dat wordt getest en dit zal worden voorgelegd aan de IvD.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Het aantal dieren per groep zal gebaseerd zijn op statistische power-analyse. Hierbij zal worden rekening gehouden met:

1. Immunogeniciteit van het vaccin, gedefinieerd als de humorale immuunreactie, en
2. Effectiviteit van het vaccin, gedefinieerd als het aantal dieren per groep waarbij na challenge geen virusdeeltjes detecteerbaar is, of waar een vermindering van de virusbelasting in het plasma wordt gemeten.

De immunogeniciteitsberekeningen houden rekening met het aantal dieren dat nodig is om een significante inductie van immuunresponsen te detecteren in vergelijking met niet-gevaccineerde controles. Het minimaal detecteerbare alternatief is 1,8 x de standaardafwijkingen voor 6 dieren (op basis van  $\alpha = 0.05$ ,  $\beta = 0.2$  [power = 80%], Student t-verdeling).

Voor de werkzaamheid van het vaccin worden berekeningen uitgevoerd om het aantal dieren vast te stellen dat nodig is om de werkzaamheid van het vaccin te detecteren, gedefinieerd als:

1. een vermindering van het aantal geïnfecteerde dieren (vaccineffectiviteit  $> 85\%$  voor 6 dieren, geanalyseerd door 2 x 2 contingentietabellen en Fisher's exact-test), en
2. een vermindering in hoeveelheid virus in plasma in de vaccingroepen vs. de infectie-controlegroep (log-virusbelasting wordt normaal verdeeld, statistische vergelijkingen zullen worden uitgevoerd door Student t-test). Net als bij de immunogeniciteitstest, is het minimaal detecteerbare alternatief 1,8 x standaarddeviaties voor 6 dieren (op basis van  $\alpha = 0.05$ ,  $\beta = 0.2$  [power = 80%], Student t-verdeling).

Alleen het minimumaantal dieren per groep dat nodig is, zal worden gebruikt. Wanneer historische gegevens beschikbaar zijn van infecties bij niet-gevaccineerde dieren, gebruik makend van dezelfde virusstock (Bijlage 1), kunnen doorgaans minder dieren worden gebruikt in de niet-gevaccineerde controlegroep dan in de



vaccingroepen. Voor elk individueel onderzoek zal de groepsgrootteberekening worden gecommuniceerd met de IvD.

## B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Resusapen (*Macaca mulatta*), volwassen, M/V, n = 60 dieren. De resusapen zijn afkomstig van het eigen fokprogramma. De aantallen dieren zijn de maximale aantallen

Per virus (WNV of USUV) wordt in principe uitgegaan van één studie met twee vaccingroepen en een controlegroep (totaal max.  $3 \times 6 = 18$  apen per virus; totaal max. 36 apen). Het is mogelijk dat een vaccin, na de eerste evaluatie, verbetering of verfijning behoeft. In dit geval behoeft elk vaccin een aparte controlegroep, d.w.z. totaal max.  $2 \times 6 = 12$  dieren per virus (= 24 dieren). Mogelijk kan in deze studies worden volstaan met minder dieren in de controlegroep. De aangegeven aantallen dieren zijn de maximale aantallen die in deze studie zullen worden gebruikt over een periode van 5 jaar.

De exacte studieopzet zal met de IvD worden afgestemd.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

X Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Dieren die eerder zijn gebruikt in andere flavivirus infectiestudies zijn niet geschikt voor hergebruik vanwege de sterke immunologische kruisreactiviteit tussen de verschillende flavivirussen. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaatsvinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1<sup>e</sup> van de Wet op de Dierproeven

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

XNee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

### Vervanging

Verskillende diersoorten, voornamelijk knaagdieren en niet-humane primaten zijn gebruikt om een flavivirus-infecties te bestuderen. Van deze verschillende soorten hebben niet-humane primaten het voordeel dat ze fysiologisch en immunologisch het meest op mensen lijken. Dit heeft belangrijke gevolgen voor zowel vaccinevaluatie en de interactie van de gastheer met het virus, aangezien deze worden beïnvloed door zowel de fysiologie en de reactie van het aangeboren en adaptieve immuunsysteem. De juiste evaluatie van de vaccins voor humaan gebruik vereist adequate infectiemodellen in NHP, hetgeen het doel is van de hier voorgestelde onderzoeken.

### Vermindering

Statistische berekeningen voor het aantal dieren per vaccingroep zullen worden gebaseerd op de resultaten van de infectiestudies. Deze poweranalyses zullen het minimale aantal dieren geven die nodig zijn voor een statistisch verantwoorde proefopzet. Indien mogelijk kunnen dieren uit de infectiestudie dienen als 'historische' controle en kan het aantal dieren in deze groep beperkt worden tot het minimum.

### Verfijning

De dieren worden getraind om zoveel mogelijk samen te werken met invasieve biotechnische handelingen, zoals het geven van sedatie of een virusinfectie. Alle observaties zullen worden gedocumenteerd en toegevoegd aan het klinische scoreformulieren die zijn opgezet als onderdeel van de ontwikkeling van het infectiemodellen. Indien uit de studies beschreven in Bijlage 1 (opzetten van USUV infectiemodel in resusapen) blijkt dat m.b.v. telemetrie in vroeg stadium veranderingen in lichaamstemperatuur en activiteit worden

gemeten in resusapen na USUV infectie, dan zal dit ook worden toegepast voor de USUV vaccin evaluaties. Is dit niet het geval, dan zal in deze fase van het project geen telemetrie worden toegepast om onnodig extra ongerief te vermijden. Bij het opzetten van het WNV infectiemodel in resusapen zijn temperatuurloggers gebruikt om veranderingen in de lichaamstemperatuur door WNV infectie te meten. Ook hier zijn door ons geen veranderingen in de lichaamstemperatuur gemeten. Telemetrie zal daarom bij ook bij de WNV vaccinstudies niet worden toegepast.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De dieren worden sociaal gehuisvest met een sociaal-compatibele partner. Tevens is er een uitgebreid programma voor kooiverrijking in ons instituut. Tijdens de studies zullen dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust of ontlasting, dan worden deze gedocumenteerd in de scoringslijst en wordt er een dierenarts op de hoogte gebracht. Dan zullen, indien nodig, maatregelen worden getroffen. Alle experimentele procedures worden uitgevoerd onder sedatie met ketamine. Telkens wanneer een dier wordt gesedeerd zal het dier nauwkeurig worden onderzocht. Ons instituut gebruikt een aangepaste database die alle individuele dieren in het instituut documenteert. Algemene observaties zoals gedrag, eetlust en ontlasting maken deel uit van deze database. Deze database vergemakkelijkt vroege herkenning van kleine veranderingen in deze algemene parameters. Tijdens het onderzoek zal erop worden gelet dat pijn wordt gesignaleerd en behandeld. In het geval dat een dier pijn lijdt, zal een dierenarts op de hoogte worden gebracht en zal het dier pijnstillers krijgen om de pijn te verlichten. In het geval een dier ernstig ziek is, zoals beoordeeld door de dierenarts, zal het dier op een vroeg tijdstip humaan worden geëuthanaseerd. Tijdens de eerste 2 weken van de infectie krijgt het dier sondevoeding. Dit is nodig omdat de dagelijkse sedaties van de dieren het vasten van de dieren noodzakelijk maken en de voedselinname tijdens deze periode anders zeer beperkt zou zijn. Omdat de sondevoeding plaatsvindt tijdens de verdoving die nodig is voor de bloedafnames zal het welzijn van de dieren door deze voedingen niet extra worden aangetast.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

X Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

XJa > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

Na het plaatsen van de telemetrie-transponder (indien hiertoe besloten) zal pijnbestrijding worden toegepast op voorschrift van de veterinaire met een daartoe geschikte pijnstiller. In het geval er symptomen optreden door de virusinfectie dan kan dit resulteren in pijn. Hiervoor zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire.

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door inbrengen telemetrie-transponder
2. verminderde eetlust door regelmatige verdovingen
3. ongerief door virusinfectie met klinische symptomen
4. ongerief door toediening van vaccins en virus

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De dieren kunnen pijn ondervinden door de chirurgische ingreep die nodig is voor het inbrengen van de telemetrie-transponder.
2. De dieren worden regelmatig verdoofd voor infectie en bloedafnames. Dit kan invloed hebben op de eetlust.
3. Virusinfectie kan ziekteverschijnselen veroorzaken.
4. De toedieningen kunnen lokaal irritatie veroorzaken

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

1. Na chirurgie krijgen de dieren pijnstilling toegediend
2. Om de negatieve effecten te verlichten zullen de dieren in de periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen
3. Bij ziekteverschijnselen zal in overleg met de veterinaire adequate actie worden ondernomen. Krijgt een dier pijn door klinische symptomen dan wordt orale of parenterale pijnstilling toegediend na overleg met de veterinaire.
4. Irritatie door de toedieningen zal naar verwachting mild zijn. Daardoor is het niet noodzakelijk extra maatregelen te nemen

### J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Over USUV-infecties bij de mens is nog zeer weinig bekend. Echter, in het geval van infecties met verwante flavivirussen bij de mens is ongeveer 10% van de infecties klinisch relevant. In de beschreven gevallen van USUV bij de mens zijn de klinische symptomen erg divers en tot nu toe is er geen biomarker om het ziekteverloop van tevoren te voorspellen.

Bij WNV-infecties bij resusapen zijn tot nu toe geen ziekteverschijnselen gezien en de kans is daarom klein dat deze zullen optreden.

Voor beide virussen zal de algemene toestand van de dieren strikt worden gecontroleerd. Als een dier ziek wordt zullen dierenverzorgers rechtstreeks contact opnemen met de onderzoeker en de dierenarts. Samen met alle beschikbare informatie (hematologie, klinische chemie, algemeen gedrag, extra klinische scoring en virologische status, data van telemetrie) beoordeelt de dierenarts de algehele conditie van het dier en stelt hij de vereiste follow-up voor.

In het geval een dier ernstig ziek is, zoals beoordeeld door de dierenarts, zal het dier op een vroeg tijdstip humaan worden geëthanaseerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

#### K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Indien geen ziekteverschijnselen ten gevolge van de virusinfectie optreden zal het totale ongerief 'matig' zijn.

Afgaande op onze ruime ervaring met de infectie van resusapen met verwante virussen, gaan wij er van uit dat de kans zeer klein is dat er ziekteverschijnselen optreden. Echter, in geval van ernstige ziekteverschijnselen bij de apen zal onverwijld, zeker binnen 24 uur, euthanasie worden toegepast om onnodig lijden te beperken, gevolgd door volledige monstername. Er is dan geen sprake van langdurig ernstig ongerief, en het cumulatief ongerief kan daarom als 'matig' worden geclassificeerd

### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee

X Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Ten einde onderzoek te kunnen doen naar de aanwezigheid van virus in weefsel en organen, en voor het onderzoek naar mogelijke weefselschade door de virussen en/of de vaccins is het noodzakelijk de dieren te euthanaseren

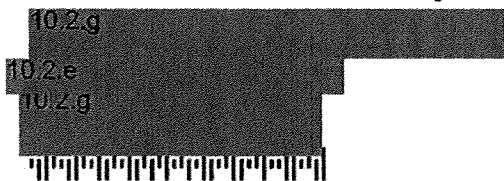
Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag



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  
[redacted] 8829

Datum  
Betreft Vervolg aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [redacted] 10.2.e

Op 1 oktober 2019 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens" met aanvraagnummer AVD [redacted] 10.2.g 8829. Uw aanvraag wordt in behandeling genomen. In deze brief leest u wanneer u een beslissing kunt verwachten.

**Wanneer een beslissing**

Wij nemen uiterlijk 26 november 2019 een beslissing. Als wij nog informatie nodig hebben, kan dit later worden. Voor een complexe aanvraag staat een langere termijn. In beide gevallen ontvangt u daarover bericht. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** vrijdag 4 oktober 2019 10:11  
**Aan:** Kasbeheer  
**Onderwerp:** Betaalgegevens AVD 10.2.g 8829

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

**NAW-gegevens:**

10.2.g

Postbus 10.2.g

10.2.g

Factuurdatum: 04-10-2019

Factuurnummer: 198829

Aanvraagnummer: AVD 10.2.g 8829

Factuurbedrag: EUR 1.615,00

Met vriendelijke groet,

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

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

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl

10.2.e

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** vrijdag 4 oktober 2019 10:16  
**Aan:** 10.2.e  
**Onderwerp:** Ontvangstbevestiging AVD 10.2.g 8829  
**Bijlagen:** OntvangstBevestiging AVD 10.2.g 8829.pdf

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 oktober 2019. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD 10.2.g 8829.

Aan deze mail is de ontvangstbevestiging en factuur toegevoegd als bijlage.

Met vriendelijke groeten,

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

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

.....  
T: 0900 2800028

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



> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g

10.2.e

Postbus 10.2.g

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 8829  
Bijlagen  
2

Datum 4 oktober 2019

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 oktober 2019. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD 10.2.g 8829. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

#### **Wacht met de uitvoering van uw project**

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

#### **Factuur**

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



**Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

**Datum:**

4 oktober 2019

**Aanvraagnummer:**

AVD102.g



**Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA:

10.2.g

Naam instelling of organisatie:

Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde:

10.2.e

Straat en huisnummer:

10.2.g

Postbus:

Postcode en plaats:

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

Afdeling:

Telefoonnummer:

E-mailadres:

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

Afdeling:

Telefoonnummer:

E-mailadres:

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?

Nieuwe aanvraag

Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve  
gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve  
gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 december 2019  
Geplande einddatum: 30 november 2024  
Titel project: Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens  
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens  
Naam DEC: DEC-10.2.g  
Postadres DEC: Postbus 10.2.g  
E-mailadres DEC: dec@10.2.g

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 1.615,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:  Projectvoorstel  
 Beschrijving Dierproeven  
 Niet-technische samenvatting

**Ondertekening**

Naam: 10.2.e  
Functie:  
Plaats: 10.2.g  
Datum: 1 oktober 2019



Centrale Commissie Dierproeven

> 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-8829  
**Bijlagen**  
2

**Datum** 4 oktober 2019

**Betreft** Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 4 oktober 2019

Vervaldatum: 3 november 2019

Factuurnummer: 198829

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD-8829	€ 1.615,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

10.2.a

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** vrijdag 4 oktober 2019 10:19  
**Aan:** dec@10.2.g  
**Onderwerp:** Verzoek om advies over projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g 8829  
**Bijlagen:** 1\_aanvraagform.pdf; 5\_bijlage\_2.pdf; 4\_bijlage\_1.pdf; 3\_projectvoorstel.pdf; 2\_NTS.pdf

Geachte leden van DEC-10.2.g

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening (of wijziging van een vergunning) advies te geven over het project met als titel: "Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens" en aanvraagnummer: AVD 10.2.g 8829.

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

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

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

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 04-10-2019, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommekeer per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager wordt de termijn opgeschort en geeft u in uw advies aan wanneer dit is geweest. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt. Mocht u verwachten door een andere reden dan opschorting uw advies later dan 20 werkdagen na 04-10-2019 bij de CCD in te dienen, dan verzoeken wij u dit direct aan de CCD te melden.

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

Met vriendelijke groet,  
Centrale Commissie Dierproeven

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

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

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

10.2.e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** vrijdag 4 oktober 2019 10:20  
**Aan:** 10.2.e  
**CC:**  
**Onderwerp:** Verzoek om advies AVD 10.2.g 8829 verstuurd aan DEC

11

Geachte meneer, mevrouw,

Op 01-10-2019 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens" met aanvraagnummer AVD 10.2.g 8829.

Uw aanvraag is naar 10.2.g gestuurd. Zij zal hierover advies aan de CCD uitbrengen. Als de DEC vragen heeft, zal zij contact met u opn

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

Met vriendelijke groet,

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

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

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

10.2.g

**Van:** 10.2.e  
**Verzonden:** vrijdag 4 oktober 2019 11:14  
**Aan:** info@zbo-ccd.nl  
**Onderwerp:** Re: Verzoek om advies over projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 8829

12

**Categorieën:** DEC adviezen

Geachte leden van de CCD,

Hierbij bevestig ik de ontvangst van projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 8829. Wij zullen de aanvraag in behandeling nemen en bespreken in de vergadering van 18 oktober 2019.

Vriendelijke groeten,

10.2.e

Secretaris DEC- 10.2.e en  
10.2.g

10.2.g

10.2.e

10.2.g

10.2.e

www.10.2.g

**Van:**

**Beantwoorden - Aan:**

**Datum:** vrijdag 4 oktober 2019 om 10:19

**Aan:** DEC

**Onderwerp:** Verzoek om advies over projectvergunningaanvraag AVD 10.2.g 8829

Geachte leden van DEC- 10.2.g

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening (of wijziging van een vergunning) advies te geven over het project met als titel: "Ontwikkeling van vaccins tegen nieuwe en opkomende flavivirus infecties bij de mens" en aanvraagnummer: AVD 10.2.g 8829.

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

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

Voor het in te dienen advies dient de DEC gebruik te maken van de meest actuele versie van het op de website van

de CCD gepubliceerde Format DEC-advies en de toelichting daarbij. U dient deze aanvraag vertrouwelijk te behandelen. Voor de communicatie met de CCD dient u gebruik te maken van FileSecure.

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 04-10-2019, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommekeer per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager wordt de termijn opgeschort en geeft u in uw advies aan wanneer dit is geweest. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt. Mocht u verwachten door een andere reden dan opschorting uw advies later dan 20 werkdagen na 04-10-2019 bij de CCD in te dienen, dan verzoeken wij u dit direct aan de CCD te melden.

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

Met vriendelijke groet,  
Centrale Commissie Dierproeven

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

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

.....  
T: 0900 2800028

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

