

Inventaris Wob-verzoek W21-04										
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.	document NTS2016496 en melding -1	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.2, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	aanvraagformulier				x		x		x	
2	NTS	x								
3	projectvoorstel				x				x	
4	Bijlage dierproeven 1 origineel			x						
5	Bijlage dierproeven 2 origineel			x						
6	Ontvangstbevestiging				x		x		x	
7	DEC advies				x		x		x	
8	brief aanhouden beoordelen				x		x			
9	reactie op vragen 1				x		x		x	
10	projectvoorstel aangepast 1				x				x	
11	aanvullende vragen				x					
12	rappel aanvullende vragen				x		x			
13	reactie op vragen 2				x		x		x	
14	projectvoorstel aangepast 2				x		x		x	
15	bijlage 1 aangepast			x						
16	bijlage 2 aangepast			x						
17	Adviesnota CCD				x		x			
18	Aanvullende adviesnota CCD				x		x			
19	Beschikking en vergunning				x		x		x	
20	melding				x		x		x	
21	ontvangstbevestiging melding				x		x		x	

ARD 502002016ugb



Centrale Commissie Dierproeven ¹

28 APR. 2016

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 50200	
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de Instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e
		KvK-nummer	41146967
		Straat en huisnummer	Lange Kleiweg 161
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Postbus	3306
		Postcode en plaats	2288 GJ Rijswijk
		IBAN	10.2.g
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	10.2.e <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Senior researcher
		Afdeling	10.2.e
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Researcher
		Afdeling	10.2.e
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

- 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 - 06 - 2016
- Einddatum 01 - 06 - 2019
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluatie van Zika virus vaccins
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Evaluatie van Zika virus vaccins
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC 10.2.g
- Postadres
- E-mailadres

4 Betaalgegevens

4.1 Om welk type aanvraag gaat het?

Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1.187,- 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 bijlages beschrijving dierproeven

6 Ondertekening

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

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

Naam

Functie

Plaats

Rijswijk

Datum

21 - 04 - 2016

Handtekening

10.2.e

t het f
erteke
Inclusi
eiligde
r de C
r:

trale C
rproeve
tbus 20401
00 EK Den Haag

10.2.e

r uit,
n stuur
gen via de
verbinding
er post

sie

10.2.g

28 APR. 2016

Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Date April 26, 2016

Our ref. 1835/AM

Your letter

10.2.e

Subject Aanvraag projectvergunning dierproeven AVD502002016496

Geachte heer/mevrouw,

Hierbij stuur ik u de aanvraag projectvergunning dierproeven AVD502002016496, getiteld:
"Evaluatie van Zika virus vaccins", alsmede het DEC advies betreffende deze aanvraag.

Met vriendelijke groeten,

10.2.e

Bijlagen:

1. DEC advies
2. Aanvraag projectvergunning dierproeven
3. Niet technische samenvatting
4. Projectvoorstel dierproeven
5. Bijlage 1
6. Bijlage 2

10.2.g



Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50200
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 Vul de titel van het project in. Evaluatie van Zika virus vaccins

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.

In 2015 werd het Zika virus voor het eerst aangetroffen in Zuid-Amerika en daarna heeft het virus zich razendsnel verspreid over Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben [1]. Het Zika virus is een lid van de Flavivirus familie, en is verwant aan de veroorzaker van knokkelkoorts (dengue virus), maar ook aan het gele koorts virus, het Japanse encefalitis virus en het West Nijl virus. Het Zika virus is voor het eerst geïsoleerd in 1947 in het Zika oerwoud in Oeganda uit een resusaap die werd gebruikt bij gele koorts onderzoek [2].

Vóór 2015 werd het Zika virus gezien als de veroorzaker van een vrij milde, griepachtige ziekte. Sindsdien stapelen de, tot nu toe voornamelijk epidemiologische, bewijzen zich op dat Zika virus infectie ook kan leiden tot een ernstige, acute ontsteking van het zenuwstelsel (het Guillain-Barré syndroom; GBS). Daarnaast is bij baby's die geboren zijn bij vrouwen die tijdens hun zwangerschap geïnfecteerd zijn geweest met het Zika virus een toename geconstateerd van microcefalie, een ernstige afwijking van het centrale zenuwstelsel waarbij de hersenen zich niet volledig ontwikkelen met als gevolg een kans op een ernstige verstandelijke handicap. Vaak is er ook sprake van een vertraagde motorische ontwikkeling en aangeboren afwijkingen in andere orgaansystemen [3-7].

Het Zika virus als humaan pathogeen is pas echt bekend sinds 2007 toen een epidemie uitbrak op het eiland Yap in Micronesië welke gepaard ging met koorts, huiduitslag, gewrichtspijnen en conjunctivitis [8]. Onderzoek wees uit dat deze epidemie werd veroorzaakt door de genetische variant van het Zika virus. Dit zgn. Aziatische genotype is ook verantwoordelijk geweest voor uitbraken in Cambodja in 2010, en een vrij grote uitbraak in Frans Polynesië in 2013-2014 waarbij 28.000 mensen ziekteverschijnselen vertoonden [9]. Het Afrikaanse genotype van het Zika virus was de oorzaak van ziektegevallen in 2007 en 2010 in Gabon [10]. Serologisch onderzoek heeft uitgewezen dat humane Zika virus infecties wijdverspreid zijn in Afrika en Zuidoost Azië en op de eilanden in de Stille Zuidzee [11-13]. In 2015 werd voor het eerst melding gemaakt van Zika virus infecties in Brazilië veroorzaakt door het Aziatische genotype. Daarna heeft het virus zich razendsnel verspreid over minstens 33 landen in Zuid-Amerika, Midden-Amerika, en de Caraïben [1]. Het Braziliaanse ministerie van gezondheid heeft geschat dat tot 15 december 2015 tussen de 440 duizend en 1.5 miljoen infecties door het Zika virus zijn voorgevallen in Brazilië. Vanwege de ernst van de epidemie heeft de Wereld Gezondheid Organisatie (WHO) deze epidemie een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid verklaard.

De incubatie periode van het Zika virus is onbekend, maar varieert hoogstwaarschijnlijk tussen 2 tot 7 dagen. De symptomen veroorzaakt door Zika virus infectie zijn over het algemeen vrij mild en worden gekenmerkt door acute koorts, huiduitslag, gewrichtspijn, en conjunctivitis. Deze symptomen duren meestal enkele dagen tot 1 week. Gedurende de recente uitbraak in Brazilië werd echter Zika virus RNA aangetroffen in weefselmonsters van kinderen met microcefalie en in geaborteerde foetussen bij vrouwen die tijdens de zwangerschap besmet waren met het Zika virus [6, 7]. Op 1 februari 2016 heeft de WHO deze mogelijke correlatie bevestigd op basis van een toename in het aantal gevallen van microcefalie tijdens de Zika virus uitbraak in Frans Polynesië in 2014 en tijdens de recente uitbraak in Brazilië (WHO). Het met Zika virus infectie in verband gebrachte GBS is een aandoening van het perifere zenuwstelsel veroorzaakt door een auto-immunreactie die op zijn beurt wordt geïnduceerd door bijv. een virale infectie. Symptomen zijn gevoelsstoornissen, toenemende spierzwakte, verminderde reflexen en verlamingsverschijnselen. Deze symptomen zijn meestal van tijdelijke aard maar genezing kan maanden tot jaren duren [4, 5].

De mug *Aedes aegypti*, de belangrijkste verspreider van dengue en gele koorts, is ook de belangrijkste verspreider van het Zika virus. Daarnaast is ook de tijgermug (*Aedes albopictus*), verspreider van onder meer het West Nijl virus en Chikungunya virus, in staat Zika virus te verspreiden. Beide muggensoorten komen wijdverbreid voor in tropische en subtropische gebieden van zowel Zuid- en Midden-Amerika, Afrika en Azië, maar het gebied waar deze muggen voorkomen breidt zich onder invloed van klimaatverandering, de groeiende wereldbevolking en toename in de wereldhandel verder uit naar Noord-Amerika, Europa en Australië [14]. Beide muggensoorten zijn overdag actief en dit maakt het moeilijker zich tegen deze muggen te beschermen. Behalve verspreiding via muggen is recentelijk ook aangetoond dat het virus seksueel kan worden overgedragen [15]. Andere infectieroutes behoren ook tot de mogelijkheden, aangezien het Zika virus ook is aangetroffen in speeksel, urine en moedermelk [16-18].

Vanwege zijn relatieve onbekendheid tot medio 2015, is er weinig onderzoek verricht aan deze infectieziekte. Weinig is daarom nog bekend over de onderliggende oorzaken van microcefalie en het GBS in relatie tot Zika virus infectie. Studies in proefdieren zijn zeer beperkt uitgevoerd. Dick [19] heeft

de gevoeligheid van muizen voor Zika virus infectie beschreven en heeft aangetoond dat dit virus in muizen neurotroop is en niet kon worden gedetecteerd in andere weefsels. Infectie studies in katoenratten, cavia's en konijnen bleven zonder succes. Bell *et al.* beschreven de replicatie en pathologie in de zenuwcellen van jonge muizen na intracerebrale infectie [20]. Verdere onderzoeken zijn nog niet gepubliceerd, maar zeer recent is in Science melding gemaakt van het feit dat de muis geen goed diermodel is om Zika virus replicatie en de ziekteverwekkende eigenschappen te onderzoeken vanwege de afwijkende pathogenese van het virus in deze knaagdieren [21].

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?

Het doel van dit project is om nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te evalueren. Daarvoor is het nodig om een infectiemodel in resusapen te ontwikkelen voor dit virus. Dit infectiemodel zal vervolgens worden gebruikt om de nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te testen in de allerlaatste, preklinische fase van het onderzoek, vóórdat zij bij mensen worden uitgetest.

Het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd heeft grote expertise opgebouwd op het gebied van het uitvoeren van vergelijkbare studies met dengue virus en West Nijl virus, beide nauw verwant aan het Zika virus.

De infectiestudies op Zika virus zullen worden opgezet naar analogie met die voor dengue en West Nijl virus. De exacte opzet van de Zika virus vaccin evaluatiestudies zal afhankelijk zijn van het type vaccin dat zal worden geselecteerd op basis van immunogeniciteitstesten in knaagdieren. Echter, in grote lijnen zal worden gekozen voor een opzet die eerder succesvol is gebleken bij de ontwikkeling van een West Nijl virus vaccin in het instituut. Het instituut waar deze studies zullen worden uitgevoerd heeft beschikking over een grote fokkolonie van resusapen. Deze resusapen zijn genetisch goed gekarakteriseerd en vrij van verschillende virussen. Op het instituut is de infrastructuur en de expertise aanwezig om deze studies veilig, op DM-3 en ML-3 niveau, en binnen de gestelde termijn uit te voeren.

De resultaten zullen zoveel mogelijk worden gepubliceerd in internationale wetenschappelijke tijdschriften en zodoende bijdragen aan verspreiding van kennis over het infectiemodel en optimalisatie van vaccin strategieën.

Referenties bij 3.1 en 3.2

1. Hennessey, M.; Fischer, M.; Staples, J. E., Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* **2016**, 65, (3), 55-58.
2. Dick, G.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J., Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1952**, 46, (5), 509-520.
3. Broutet, N.; Krauer, F.; Riesen, M.; Khalakdina, A.; Almiron, M.; Aldighieri, S.; Espinal, M.; Low, N.; Dye, C., Zika Virus as a Cause of Neurologic Disorders. *The New England journal of medicine* **2016**.
4. Gatherer, D.; Kohl, A., Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the Americas. *Journal of General Virology* **2015**.
5. Oehler, E.; Watrin, L.; Larre, P.; Leparc-Goffart, I.; Lastere, S.; Valour, F.; Baudouin, L.; Mallet, H.; Musso, D.; Ghawche, F., Zika Virus Infection Complicated by Guillain-Barré Syndrome-Case Report, French Polynesia, December 2013. *Eurosurveillance* **2014**, 19, (9).
6. Schuler-Faccini, L.; Ribeiro, E. M.; Feitosa, I. M. L.; Horovitz, D. D. G.; Cavalcanti, D. P.; Pessoa, A.; Dorqui, M. J. R.; Neri, J. I.; Neto, J. M. d. P.; Wanderley, H. Y. C.; Cernach, M.; El-Husny, A. S.; Pone, M. V. S.; Srao, C. L. C.; Sanseverino, M. T. V.; Force, B. M. G. S. Z. E. T., Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* **2016**, 65, (3), 59-62.

7. WHO, P., Increase of microcephaly in the northeast of Brazil. *Epidemiological Alert* Nov 17, 2015, pp 1-2.
8. Lanciotti, R. S.; Kosoy, O. L.; Laven, J. J.; Velez, J. O.; Lambert, A. J.; Johnson, A. J.; Stanfield, S. M.; Duffy, M. R., Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases* **2008**, *14*, (8), 1232-1239.
9. Musso, D.; Nilles, E. J.; Cao-Lormeau, V.-M., Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clinical microbiology and infection* **2014**, O595-O596.
10. Grard, G.; Caron, M.; Mombou, I. M.; Nkoghe, D.; Mboui Ondo, S.; Jiolle, D.; Fontenille, D.; Paupy, C.; Leroy, E. M., Zika Virus in Gabon (Central Africa) – 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS neglected tropical diseases* **2014**, *8*, (2), e2681.
11. Cao-Lormeau, V.-M.; Musso, D., Emerging arboviruses in the Pacific. *The Lancet* **2014**, *384*, (9954), 1571-1572.
12. Cao-Lormeau, V.-M.; Roche, C.; Teissier, A.; Robin, e.; Berry, A.-L.; Mallet, H.-P.; Sall, A. A.; Musso, D., Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerging Infectious Diseases* **2014**, *20*, (6), 1085-1086.
13. Hayes, E. B., Zika Virus Outside Africa. *Emerging Infectious Diseases* **2009**, *15*, (9), 1347-1350.
14. Kraemer, M. U. G.; Sinka, M. E.; Duda, K. A.; Mylne, A. Q. N.; Shearer, F. M.; Barker, C. M.; Moore, C. G.; Carvalho, R. G.; Coelho, G. E.; Van Bortel, W.; Hendrickx, G.; Schaffner, F.; Elyazar, I. R. F.; Teng, H.-J.; Brady, O. J.; Messina, J. P.; Pigott, D. M.; Scott, T. W.; Smith, D. L.; Wint, G. R. W.; Golding, N.; Hay, S. I., The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife* **2015**, *4*, e08347.
15. Mansuy, J. M.; Dutertre, M.; Mengelle, C.; Fourcade, C.; Marchou, B.; Delobel, P.; Izopet, J.; Martin-Blondel, G., Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *The Lancet Infectious Diseases* **2016**, 1-1.
16. Barzon, L.; Pacenti, M.; Berto, A.; Sinigaglia, A.; Franchin, E.; Lavezzo, E.; Brugnaro, P.; Palù, G. Isolation of infectious Zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. (10),
17. Dupont-Rouzeyrol, M.; Biron, A.; O'Connor, O.; Huguon, E.; Descloux, E., Infectious Zika viral particles in breastmilk. *The Lancet* **2016**, *387*, (10023), 1051.
18. Gourinat, A.-C.; O'Connor, O.; Calvez, E.; Goarant, C.; Dupont-Rouzeyrol, M., Detection of Zika Virus in Urine. *Emerging Infectious Diseases* **2015**, *21*, (1), 84-86.
19. Dick, G., Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1952**, *46*, (5), 521-534.
20. Bell, T. M.; Field, E. J.; Narang, H. K., Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Archiv für die gesamte Virusforschung* **1971**, *35*, (2), 183-193.
21. Vogel, G., A race to explain Brazil's spike in birth defects. *Science (New York, NY)* Feb 08, 2016, pp 110-111.

10.2.e, 10.2.e en 10.2.g

3.3 Belang

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

De recente uitbraak van Zika virus infecties in Midden- en Zuid-Amerika heeft de urgentie duidelijk gemaakt van een Zika virus vaccin. De eerste introductie in 2015 van dit virus in de immunologisch

naïeve populatie van Zuid-Amerika heeft geleid tot de recente grote epidemie onder de bevolking van Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben van dit door muggen overgedragen virus. Eind 2015 waren in Brazilië alleen al naar schatting 1.5 miljoen mensen besmet geraakt met het Zika virus, en in de verschillende Braziliaanse deelstaten waren meer dan 4000 verdachte gevallen van microcefalie gemeld. In Colombia wordt verwacht dat gedurende deze epidemie meer dan 600.000 infecties zullen plaatsvinden met als mogelijk gevolg 500 gevallen van microcefalie en 500 patiënten met GBS. Aangezien tot op heden in 33 landen Zika virus infecties zijn gemeld zal het totaal aantal infecties in de miljoenen gaan lopen. Dit heeft als gevolg dat, naast de humanitair-sociale impact van deze epidemie, er een onaanvaardbaar grote aanslag op de gezondheidszorg budgetten in deze economisch vaak zwakkere landen zal worden gepleegd. Ook zal de Zika virus epidemie naar verwachting grote invloed hebben op toerisme en economie van deze landen.

De verwachting is dat de epidemie zich over nog meer landen zal verspreiden omdat het leefgebied van de muggensoorten die dit virus kunnen overdragen steeds verder toeneemt onder invloed van de opwarming van de aarde en de introductie in nieuwe gebieden via internationale handel en het internationale vliegverkeer.

Dit alles heeft de WHO er toe gebracht de Zika virus epidemie als een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid te verklaren, en de ontwikkeling van een vaccin als een prioriteit te zien (<http://www.who.int/emergencies/zika-virus/response/en/>).

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project bestaat uit twee fasen:

1. Het opzetten van een Zika virus infectiemodel in resusapen
2. De preklinische vaccin evaluatie waarin verschillende vaccins of vaccinstrategieën worden getest voor hun effectiviteit tegen Zika virus infectie in het resusaap diermodel

Bij het opzetten van het infectiemodel zullen diverse aspecten van de Zika virus infectie bestudeerd worden, zoals het infectie en ziekte beloop, de verspreiding van het virus over de organen, en de pathologie van het Zika virus in resusapen. Ook zal het model geoptimaliseerd worden voor toepassing in de tweede fase. Hiervoor zal worden gekeken naar de infectie dosis, de infectie route, en zal worden onderzocht welk Zika virus isolaat het meest geschikt is voor de studies.

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

In de eerste fase van het project zullen resusapen worden geïnfecteerd met het Zika virus. In deze fase zal het infectiebeloop worden onderzocht en zullen de apen met verschillende doses virus worden geïnfecteerd. Na infectie zal bij de dieren bloed worden afgenomen voor bepaling van de mate van infectie en voor verschillende andere bepalingen. De verwachting is dat de viremie niet langer zal duren dan 21 dagen. In deze studie willen wij de dieren volgen totdat zij minimaal één week virus-vrij (in het bloed) zijn. Aan het einde van de studie zullen de dieren worden geëuthanaseerd voor de analyse van virus-geïnduceerde schade aan de verschillende weefsels en organen. Ook zal in deze materialen worden gekeken naar de aan/afwezigheid van virus.

Het is mogelijk dat vervolgstudies nodig zullen zijn voor verdere optimalisatie van het infectiemodel (beschreven in Bijlage 1) om een zo goed mogelijk model te verkrijgen voor het testen van het vaccin in fase 2.

In fase 2 zullen verschillende experimentele vaccins tegen het Zika virus worden geëvalueerd in het resusaap proefdier model voor Zika virus infectie (beschreven in Bijlage 2). Deze vaccins zijn, vóórdat zij worden getest in dit apen diermodel, uitvoerig getest in knaagdieren. Tijdens de immunisatieperiode worden de dieren nauwkeurig gevolgd en onderzocht op mogelijke nadelige gezondheidseffecten van de immunisaties. Ook worden regelmatig bloedmonsters afgenomen om de vaccin-geïnduceerde immuunresponsen te meten. De aanwezigheid van duidelijke anti-Zika virus immuunresponsen na de laatste immunisatie/vaccinatie is een voorwaarde om door te gaan met de experimentele infectie van de gevaccineerde dieren. Een groep van niet-gevaccineerde dieren zal tegelijkertijd worden geïnfecteerd als controle voor infectie. Daarna worden de dieren intensief geobserveerd en zullen regelmatig bloedmonsters worden afgenomen om de af- of aanwezigheid van het virus vast te stellen

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.

In de eerste fase wordt gekeken naar de gevoeligheid van resusapen voor Zika virus infectie, het verloop van de virus infectie, pathogenese en mogelijke ziekteverschijnselen in deze diersoort. Op basis van de resultaten uit de infectie studie zal de resusaap verder worden ontwikkeld als diermodel voor humane Zika virus infectie. Gekeken wordt o.m. naar:

1. de overeenkomsten met humane Zika virus infectie,
2. de reproduceerbaarheid van de infectie. Raken alle dieren in dezelfde mate geïnfecteerd, en vertonen zij een vergelijkbaar ziekte of infectie verloop?
3. de meetbaarheid van de infectie. Hogere virus titers vergemakkelijken de detecteerbaarheid van de effecten van vaccinatie.

Het is mogelijk dat vóórdat het infectiemodel kan worden gebruikt in bijv. een vaccinatie studie, aanpassing van bepaalde onderdelen van de infectie nodig is. Te denken valt aan het gebruikte virus isolaat, de gebruikte infectiedosis, of de route van de infectie. Naar verwachting zal hierna het Zika virus infectiemodel in de resusaap geschikt zijn voor de nadere bestudering van het virus, voor pathogenese studies, en voor preklinische vaccin evaluatie.

In principe zal een virus gekozen worden dat zo dicht mogelijk verwant is aan het virus dat zich momenteel verspreidt in Zuid Amerika. Echter, de uiteindelijke keuze zal ook beïnvloed kunnen worden door het specifiek ontwikkelde vaccin.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Zika virus infectie in resusapen
2	Zika virus vaccin evaluatie 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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50200
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|----------------------------------|
| 1 | Zika virus infectie 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.

De ontwikkeling van een werkend infectiemodel voor het Zika virus in resusapen is essentieel voor de uitvoering van vaccin studies tegen het Zika virus in deze diersoort. Alleen wanneer wij de beschikking hebben over dit infectiemodel kunnen wij de werkzaamheid van kandidaat vaccins testen. Omdat het Zika virus door muggen wordt overgedragen, wordt primair gekozen voor een infectieroute die het dichtst in de buurt komt van de natuurlijke weg. Deze intradermale route is op het instituut al succesvol gebruikt om apen met verwante virussen (Dengue virus, West Nijl virus) te infecteren. Het succes van infectie zal worden bepaald aan de hand van de detectie van het virus in het bloed. Wanneer na Zika virus infectie 1) het virus kan worden gedetecteerd in het bloed, en 2) daarbij minimaal 10^5 virale RNA deeltjes per ml plasma worden gemeten tijdens de piekviremie, wordt een infectie succesvol beschouwd. Aan het einde van de studie zullen de dieren worden geëuthanaseerd en zal pathologisch onderzoek worden verricht naar mogelijke virus-geïnduceerde schade. Ook zullen de weefsels worden onderzocht op de mogelijke aanwezigheid van virus nadat dit uit het bloed is verdwenen.

Naast de detectie van virus, zal ook een aantal klinische, virologische en histologische parameters worden onderzocht, zoals o.m.:

1. hematologie en bloedchemie
2. lichaamstemperatuur en gewicht
3. verandering in cytokine productie
4. productie van antistoffen
5. verandering van aantal verschillende celtypes in het bloed
6. pathologisch onderzoek bij euthanasie
7. histologisch onderzoek naar virus-geïnduceerde cel schade

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 Zika virus is identiek aan studies die eerder zijn uitgevoerd op het instituut met 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. Op dit tijdstip zal onder narcose via een kleine chirurgische ingreep een temperatuurmeter worden geplaatst in de buikholte. 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 Zika virus en wordt vóór infectie bloed afgenomen voor een tweede nulwaarde bepaling. 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 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. Nadat de dieren virus-negatief zijn geworden in de PCR zullen zij nog 7 dagen worden gevolgd. Als in deze periode geen virus meer wordt gedetecteerd in het bloed zullen zij geëuthanaseerd worden. Hierna zal necropsie worden uitgevoerd en worden weefselmonsters verzameld voor histopathologisch en virologisch onderzoek.

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

Vanwege het feit dat bijna niets bekend is over Zika virus infectie bij makaken is een statistische bepaling van het aantal dieren dat nodig is om een infectie model op te zetten niet mogelijk. Voor Zika virus willen wij in de eerste infectie studie 6 dieren gebruiken. Dit stelt ons in staat om de gewenste klinische, virologische en histologische parameters (zie boven) te onderzoeken. Met de gegevens uit de eerste studie kan het aantal dieren in vervolgstudies verder gedefinieerd en onderbouwd worden. Zeer recent zijn via internet de eerste voorlopige data beschikbaar gekomen van een Zika virus infectie studie in resusapen, uitgevoerd op de Universiteit van Madison-Wisconsin (<http://dx.doi.org/10.1101/046334>). Uit deze data blijkt dat de infectie dosis en het gebruikte virus isolaat invloed hebben op het infectie verloop. Omdat in deze studie per infectie-variabele slechts één dier is gebruikt, kunnen de data niet worden gebruikt voor een statistische analyse van het aantal apen dat nodig is in onze studie. Wel zullen de data worden gebruikt als uitgangspunt voor onze studie waarvan de details zullen worden gecommuniceerd met de Instantie voor Dierenwelzijn (IVD).

Vervolgstudies kunnen nodig zijn wanneer niet de gewenste hoeveelheid virus in het bloed wordt bereikt, of wanneer de gebruikte infectieroute niet heeft geleid tot infectie van alle dieren. Ook kunnen in vervolgstudies andere Zika virus isolaten getest worden die beter geschikt zijn voor de vaccin evaluatie studies zoals beschreven in Bijlage 2. De noodzaak en de exacte opzet van deze vervolgstudies zal met de IVD worden afgestemd.

B. De dieren

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

Resusapen (*Macaca mulatta*), volwassen, M/V, n= 18 dieren

Gekozen is voor de resusaap. De resusapen zullen afkomstig zijn van het eigen fokprogramma.

Van resusapen is bekend dat zij gevoelig zijn voor Zika virus infectie (het originele virus isolaat uit 1952 komt uit een resusaap, en recentelijk zijn de eerste experimentele infecties van resusapen op internet gepubliceerd). In de Zika virus uitbraken in mensen is niet gebleken dat bepaalde leeftijdsgroepen meer gevoelig zijn voor infectie dan anderen. Omwille van het feit dat het bij volwassen dieren eenvoudiger is om regelmatig bloed af te nemen is daarom gekozen voor volwassen dieren. Ook is in deze uitbraken niet gebleken dat er verschillen zijn tussen de sexen wat betreft gevoeligheid voor Zika virus infectie.

De aantallen dieren zijn de maximale aantallen. Statistisch onderbouwing van de aantallen is nog niet mogelijk omdat er op het instituut nog geen ervaring is opgedaan met Zika virus infectie in resusapen, en omdat in de op internet gepubliceerde studie (<http://dx.doi.org/10.1101/046334>) per variabele slechts één dier is gebruikt. Wij willen in deze studies groepen van 6 dieren gebruiken waarbij per variabele minimaal 2 dieren worden gebruikt. Wanneer tijdens de voorbereidingen van de studies nieuwe gegevens bekend worden betreffende Zika virus infecties, dan kan dit aantal worden aangepast

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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 plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven.

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

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

Met de hedendaagse stand van de wetenschap kunnen vaccins voor humaan gebruik nog steeds alleen worden ontwikkeld met behulp van proefdieren. Recente studies in knaagdiermodellen voor het Zika virus zijn niet gepubliceerd, maar studies in muizen met verwante flavivirussen hebben aangetoond dat muizen weliswaar infecteerbaar zijn met deze virussen, maar dat viremie, tropisme voor bepaalde celtypen, en ziekteverloop in knaagdieren vaak sterk afwijkend zijn van dat in de mens. Ook is het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend van de mens dat vaccin geïnduceerde immuunresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde hebben voor de effectiviteit in de mens [1-4]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, zijn nonhumane primaten daarom vanwege hun immunologische en fysiologische overeenkomsten met de mens het meest geschikt als preklinisch proefdiermodel voor evaluatie van de effectiviteit en de veiligheid van Zika virus vaccins.

Vermindering

Een statistische onderbouwing van de aantallen is nog niet mogelijk omdat er nauwelijks ervaring is opgedaan met Zika virus infectie in apen. De keuze voor de aantallen dieren is gemaakt op basis van ervaring met verwante virussen in deze diersoorten. Omdat uit de literatuur bekend is dat resusapen gevoelig zijn voor Zika virus infectie willen wij deze apensoort gebruiken in onze studies.

Verfijning

Het gebruik van temperatuurmeters maakt het mogelijk om gedurende de virusinfectie iedere 15 minuten de lichaamstemperatuur te meten. Lichte verhogingen in lichaamstemperatuur, maar ook kortdurende koortspieken kunnen op deze manier worden geregistreerd, iets wat m.b.v. een rectale temperatuurmeter tijdens bloedafnames niet of niet goed mogelijk is. Na de chirurgische ingreep, nodig voor het plaatsen van een temperatuurmeter, zal pijnstilling worden toegediend. Infectie en bloedafname vinden plaats onder verdoving en tegelijkertijd zullen de dieren dan worden gewogen en onderzocht. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of de virusinfectie.

1. Bolker, J. (2012). Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*, 491(7422), 31-33.
2. Louz, D., Bergmans, H. E., Loos, B. P., & Hoeben, R. C. (2013). Animal models in virus research: their utility and limitations. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(4), 325-361.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 112(C), 59-79.
4. Zompi, S., & Harris, E. (2012). Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses*, 4(12), 62-82.

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 om stress van solitaire huisvesting te voorkomen. Om de dieren zo veel mogelijk natuurlijk gedrag te laten uitvoeren heeft het instituut een uitgebreid programma voor kooiverrijking. Tijdens de studies hebben zij de beschikking over speelmateriaal en krijgen verrijking met voedsel.

Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door ervaren verzorgers. Tijdens de infectieperiode zal het aantal observaties verhoogd worden. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of is er verandering van ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld. Mocht een dier ernstig ziek worden tijdens de studie, dan wordt het dezelfde dag geëuthanaseerd en wordt necropsie uitgevoerd. Op ieder tijdstip van bloedafname zullen de dieren nader worden onderzocht. Gedurende de eerst 10 dagen na infectie worden de dieren dagelijks verdoofd voor bloedafname. Om de impact van deze verdovingen op voedsel inname te verminderen zullen de dieren tijdens deze periode vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde.

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.

NVT, dit is geen wettelijk vereist onderzoek.

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 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.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > 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 temperatuurmeter zal pijnbestrijding worden toegepast op voorschrift van de veterinaire met een daartoe geschikte pijnstiller

In het geval er symptomen optreden door de Zika virus infectie 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. Stress door veranderde huisvesting
2. ongerief door toediening per injectie
3. ongerief door inbrengen temperatuurmeter
4. verminderde eetlust door regelmatige verdovingen
5. ongerief door Zika virus infectie met klinische symptomen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De dieren moeten worden verhuisd naar een DM-III faciliteit
2. De toediening kan lichte irritatie geven
3. De dieren kunnen pijn ondervinden door de chirurgische ingreep die nodig is voor het inbrengen van de temperatuurmeter
4. De dieren worden regelmatig verdoofd voor infectie en bloedafnames. Dit kan invloed hebben op de eetlust.
5. Zika virus infectie kan ziekteverschijnselen veroorzaken. Ziekteverschijnselen bij de mens die mogelijk ook bij apen kunnen optreden zijn koorts, huiduitslag, gewrichtspijn en oogontsteking (conjunctivitis)

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

1. In de DM-III faciliteit worden de dieren per kooi sociaal gehuisvest en krijgen een acclimatisatie periode van minimaal 4 weken
2. indien er irritatie optreedt, zal deze naar verwachting licht zijn. Het zal daarom niet nodig zijn extra maatregelen te nemen
3. Na chirurgie krijgen de dieren pijnstilling toegediend
4. om de negatieve effecten te verlichten zullen de dieren in de periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen
5. 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.

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.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Omdat Zika virus infectie in makaken niet eerder is beschreven, is het niet mogelijk duidelijke criteria te geven wanneer een humaan eindpunt moet worden gehanteerd. Door intensieve monitoring van de dieren na experimentele Zika virus infectie zullen afwijkingen in gedrag, eetlust etc. snel worden opgemerkt. Daarnaast worden de dieren bij elke bloedafname gewogen. Een grote gewichtsafname van > 20% t.o.v. het gewicht bij infectie wordt gezien als humaan eindpunt. Bij overschrijding hiervan wordt een dier geëuthanaseerd.

Een klinische scoringslijst zal worden ontwikkeld en gehanteerd. Aan de hand van de waargenomen verschijnselen in de eerste studie zal deze verder geoptimaliseerd worden.

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

Na infectie met Zika virus loopt ieder dier 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 Zika virus infectie optreden zal het totale ongerief 'matig' zijn.

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 Zika 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.
- 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 het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--|
| 2 | Zika virus vaccin evaluatie 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 Zika virus vaccinatie studie in apen zullen wij uitgaan van de opzet zoals die is gebruikt in de succesvolle West Nijl virus vaccinatie studie. Daarnaast kan het aantal immunisaties variëren afhankelijk van het type vaccin. Naar analogie van de West Nijl virus studie opzet worden verschillende groepen van apen één of meerdere malen geïmmuniseerd met een experimenteel vaccin. Na iedere immunisatie wordt regelmatig bloed afgenomen en getest op de vorming van een immuunrespons tegen het Zika virus, zoals anti-Zika virus antilichaam responsen en γ -interferon productie. Na de laatste immunisatie vindt er een evaluatie plaats van de opgewekte anti-Zika virus immuunresponsen. Alleen wanneer deze sterk genoeg zijn zal worden overgegaan tot een experimentele infectie. Deze zal plaatsvinden zoals is beschreven in de Bijlage 1 'Zika virus infectie van resusapen'. Het succes van de geteste vaccins zal worden bepaald aan de hand van de aan- of afwezigheid van het virus in het bloed en in de organen welke worden verzameld op het tijdstip van euthanasie.

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 gaat uit van 3 immunisaties, elk 3 weken na elkaar. Op ieder tijdstip van immunisatie, en twee weken daarna, wordt bloed afgenomen voor de evaluatie van vaccin-geïnduceerde immuunresponsen. Na de laatste immunisatie vindt een extra bloedafname plaats op 5 weken post-immunisatie. De uitkomst van de metingen op dit tijdstip is essentieel voor de go/no-go beslissing om door te gaan met experimentele infectie. Tot infectie zal worden overgegaan wanneer er duidelijke anti-Zika virus antilichaam responsen meetbaar zijn in een test die gericht is op het meten van alle antilichamen gericht tegen het virus, en in een virus neutralisatie test. Deze criteria zullen worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn. Op ongeveer 2 maanden na de laatste vaccinatie worden de dieren geïnfecteerd met het Zika virus. Dit tijdstip is gekozen om het immuunsysteem de tijd te geven

immunologisch geheugen verder op te bouwen na de laatste immunisatie. Tegelijkertijd met de infectie zal een groep niet-gevaccineerde dieren worden toegevoegd aan de studie als infectie controles. Na infectie worden de dieren gedurende minimaal 3 weken gevolgd. De exacte lengte van deze follow-up hangt af van de uitkomsten van de Zika virus infectie studies. 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.

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

Alleen het minimum aantal dieren dat nodig is voor een gefundeerde statistische analyse van de resultaten zal worden gebruikt. Voor de statistische analyses zal gebruik worden gemaakt van data uit de infectie studies. Indien mogelijk kunnen dieren uit de infectie studie dienen als 'historische' controle en kan het aantal dieren in deze groep beperkt worden tot het minimum.

B. De dieren

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

Resusapen (*Macaca mulatta*), volwassen, M/V, eigen fok

Het maximale aantal apen $n = 40$ dieren. In principe wordt uitgegaan van een studie met twee vaccin groepen en 1 controle groep (totaal max. 30 apen). Als alternatief kan ook worden gekozen om elk vaccin apart te testen met ieder een controle groep, d.w.z. totaal max. $2 \times 20 = 40$ dieren. De aangegeven aantallen dieren zijn de maximale aantallen die in deze studie zullen worden gebruikt.

De exacte studie opzet zal met de Instantie voor Dierenwelzijn worden afgestemd.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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, niet-gerelateerde studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven.

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

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

Met de hedendaagse stand van de wetenschap kunnen vaccins voor humaan gebruik nog steeds alleen worden ontwikkeld met behulp van proefdieren. Recente studies in knaagdiermodellen voor Zika virus zijn niet gepubliceerd, maar studies in muizen met verwante flavivirussen hebben aangetoond dat muizen weliswaar infectiebaar zijn met deze virussen, maar dat viremie, tropisme voor bepaalde celtypen, en ziekteverloop in knaagdieren vaak sterk afwijkend zijn van dat in de mens. Ook is het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend van de mens dat vaccin geïnduceerde Immunresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde hebben voor de effectiviteit in de mens [1-4]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, zijn nonhumane primaten daarom vanwege hun immunologische en fysiologische overeenkomsten met de mens het meest geschikt als preklinisch proefdiermodel voor evaluatie van de effectiviteit en de veiligheid van Zika virus vaccins.

Vermindering

Statistische berekeningen voor het aantal dieren per vaccin groep zullen worden gebaseerd op de resultaten van de infectie studies. Deze poweranalyses zullen het minimale aantal dieren geven die nodig zijn voor een statistisch verantwoorde proefopzet. Indien mogelijk kunnen dieren uit de infectie studie dienen als

'historische' controle en kan het aantal dieren in deze groep beperkt worden tot het minimum.

Verfijning

Het gebruik van temperatuurmeters maakt het mogelijk om gedurende de virusinfectie iedere 15 minuten de lichaamstemperatuur te meten. Lichte verhogingen in lichaamstemperatuur, maar ook kortdurende koortspieken kunnen op deze manier worden geregistreerd, iets wat m.b.v. een rectale temperatuurmeting tijdens bloedafnames niet of niet goed mogelijk is. Na de chirurgische ingreep, nodig voor het plaatsen van een temperatuurmeter, zal pijnstilling worden toegediend. Infectie en bloedafname vinden plaats onder verdoving en tegelijkertijd zullen de dieren dan worden gewogen en onderzocht. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of de virusinfectie.

Indien een dier gedragsafwijkingen, gewichtsverlies, of ziekteverschijnselen gaat vertonen zal in overleg met de dierenarts worden besloten of behandeling nodig is. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd om verder ongerief te voorkomen.

1. Bolker, J. (2012). Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*, 491(7422), 31-33.
2. Louz, D., Bergmans, H. E., Loos, B. P., & Hoeben, R. C. (2013). Animal models in virus research: their utility and limitations. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(4), 325-361.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 112(C), 59-79.
4. Zompi, S., & Harris, E. (2012). Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses*, 4(12), 62-82.

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 om stress van solitaire huisvesting te voorkomen. Om de dieren zo veel mogelijk natuurlijk gedrag te laten uitvoeren heeft het instituut een uitgebreid programma voor kooiverrijking. Tijdens de studies hebben zij de beschikking over speelmateriaal en krijgen verrijking met voedsel.

Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door ervaren verzorgers. Tijdens de infectieperiode zal het aantal observaties verhoogd worden. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of is er verandering van ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld. Mocht een dier ernstig ziek worden tijdens de studie, dan wordt het dezelfde dag geëuthanaseerd en wordt necropsie uitgevoerd. Op ieder tijdstip van bloedafname zullen de dieren nader worden onderzocht. Gedurende de eerst 10 dagen na infectie worden de dieren dagelijks verdoofd voor bloedafname. Om de impact van deze verdovingen op voedsel inname te verminderen zullen de dieren tijdens deze periode vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde.

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.

NVT, dit is geen wettelijk vereist onderzoek.

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 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.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > 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 temperatuurmeter zal pijnbestrijding worden toegepast op voorschrift van de veterinaire met een daartoe geschikte pijnstiller

In het geval er symptomen optreden door de Zika virus infectie 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. Stress door veranderde huisvesting
2. ongerief door toediening per injectie
3. ongerief door inbrengen temperatuurmeter
4. verminderde eetlust door regelmatige verdovingen
5. ongerief door Zika virus infectie met klinische symptomen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De dieren moeten worden verhuist naar een DM-III faciliteit
2. De toediening kan lichte irritatie geven
3. De dieren kunnen pijn ondervinden door de chirurgische ingreep die nodig is voor het inbrengen van de temperatuurmeter
4. De dieren worden regelmatig verdoofd voor infectie en bloedafnames. Dit kan invloed hebben op de eetlust.
5. Zika virus infectie kan ziekteverschijnselen veroorzaken. Ziekteverschijnselen bij de mens die mogelijk ook bij apen kunnen optreden zijn koorts, huiduitslag, gewrichtspijn en oogontsteking (conjunctivitis)

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

1. in de DM-III faciliteit worden de dieren per kooi sociaal gehuisvest met een partner en krijgen een acclimatisatie periode van minimaal 4 weken
2. indien er irritatie optreedt, zal deze naar verwachting licht zijn. Het zal daarom niet nodig zijn extra maatregelen te nemen
3. Na chirurgie krijgen de dieren pijnstilling toegediend
4. om de negatieve effecten te verlichten zullen de dieren in de periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen

5. 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.

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.

Omdat Zika virus infectie in makaken nog nauwelijks is beschreven, is het niet mogelijk duidelijke criteria te geven wanneer een humaan eindpunt moet worden gehanteerd. Echter, tijdens de experimentele infecties zoals beschreven in Bijlage 1, zal een klinische scoringslijst worden ontwikkeld. Deze zal gebruikt worden in de studies zoals hier beschreven. Door intensieve monitoring van de dieren na experimentele Zika virus infectie zullen afwijkingen in gedrag, eetlust etc. snel worden opgemerkt. Daarnaast worden de dieren bij elke bloedafname gewogen. Een grote gewichtsafname van > 20% t.o.v. het gewicht bij infectie wordt gezien als humaan eindpunt. Bij overschrijding hiervan wordt een dier geëuthanaseerd.

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

Na infectie met Zika virus loopt ieder dier 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 Zika virus infectie optreden zal het totale ongerief 'matig' zijn.

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 Zika 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



6

Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre

10.2.e

Postbus 3306

2288 GJ RIJSWIJK

10.2.g

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD502002016496

Bijlagen

2

Datum 28 april 2016

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 28 april 2016.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD502002016496. 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. 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

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 50200
Naam instelling of organisatie: Biomedical Primate Research Centre
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: 10.2.e
KvK-nummer: 41146967
Straat en huisnummer: Lange Kleiweg 161
Postbus: 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK
IBAN: 10.2.g
Tenaamstelling van het rekeningnummer: Stichting Biomedical Primate Research Centre

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 10.2.e
Functie: Senior researcher
Afdeling:
Telefoonnummer: 10.2.e
E-mailadres: 10.2.e

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 10.2.e
Functie: Researcher
Afdeling: 10.2.g
Telefoonnummer: 10.2.e
E-mailadres: 10.2.e

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 juni 2016
Geplande einddatum: 1 juni 2019
Titel project: Evaluatie van Zika Virus vaccins
Titel niet-technische samenvatting: Evaluatie van Zika Virus vaccins
Naam DEC: 10.2.g
Postadres DEC: 10.2.g
E-mailadres DEC: 10.2.e

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.187,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: DEC-advies

Ondertekening

Naam: 10.2.e
Functie: 10.2.g
Plaats: Rijswijk
Datum: 21 april 2016



Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre

10.2.e

Postbus 3306

2288 GJ RIJSWIJK

10.2.g

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

centralecommissiedierproeven.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD502002016496

Bijlagen

2

Datum 28 april 2016

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 28 april 2016

Vervaldatum: 28 mei 2016

Factuurnummer: 10.2.g

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD502002016496	€ 1.187,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL41RBOS 056.999.6317 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

DEC-advies

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

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer AVD502002016496
2. Titel van het project: Evaluatie van Zika virus vaccins
3. Titel van de NTS: Evaluatie van Zika virus vaccins
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: 10.2.g
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2.e
 - mailadres contactpersoon: 10.2.e
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 30-03-2016
 - aanvraag compleet: 30-03-2016
 - in vergadering besproken: 06-04-2016 en 21-04-2016
 - anderszins behandeld: de door de DEC gevraagde verdere aanpassingen aan de op 19-04-2016 ingediende aangepaste versie van de projectaanvraag hebben geleid tot een verder gewijzigde aanvraag, die op 21-04-2016 is ingediend. De aanpassingen zijn door de secretaris gecontroleerd en daarna geaccepteerd.
 - termijnonderbreking(en) van 11-04-2016 tot 19-04-2016
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag 19-04-2016 en 21-04-2016
 - advies aan CCD 26-04-2016
7. Eventueel horen van aanvrager - n.v.t.
8. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum 11-04-2016 en 21-04-2016

- **Strekking van de vraag / vragen:** De onderzoeker werd verzocht de aanvraag tekstueel te verbeteren en meer inzicht te verschaffen in de opeenvolgende experimenten voor het opzetten van het Zika virus infectie model.
 - **Datum antwoord** 19-04-2016 en 21-04-2016
 - **Strekking van het (de) antwoord(en):** Tekstuele verbeteringen zijn aangebracht en de eisen waaraan een adequaat infectiemodel moet voldoen en de mogelijke noodzaak voor vervolgstudies zijn verder uitgewerkt en verduidelijkt.
 - **De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag:** Ja.
9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) - nvt

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren: De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen de virologie, vaccinologie, immunologie, onderzoek met niet-humane primaten, en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op het gebied van ontwerp van proeven, de proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, de ethiek en van proefdieren en hun bescherming. De DEC heeft ervaring met het beoordelen van vaccin onderzoek tegen virale infecties in niet-humane primaten.
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering. Er waren geen conflicterende belangen bij de beoordeling van dit voorstel.

C. Beoordeling (inhoud):

1. Het project is:
 - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en). Het betreft toegepast onderzoek naar het opzetten van een infectiemodel ten behoeve van het onderzoek naar de veiligheid en werkzaamheid van nieuwe kandidaat vaccins ter bescherming van mensen tegen een Zika virus infectie.

3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het belang wordt ingeschat als een essentieel belang: Gezien de mogelijk ernstige gevolgen van Zika virus infectie voor de mens en de snelle verspreiding van het virus onder de bevolking over continenten en is het opzetten van een diemodel voor bestudering van pathogenese van een Zika virus infectie en testen van kandidaat vaccins uitermate gewenst. Ook zijn er in de reeds getroffen landen ernstige sociaal-economische gevolgen van een uitbraak te verwachten, door maatschappelijke ontwrichting, kostenstijging in de gezondheidszorg en het instorten van inkomsten uit toerisme. Op instigatie van de WHO heeft de ontwikkeling van vaccins een zeer hoge prioriteit.
4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Het voorgestelde onderzoek bestaat uit twee fasen, te weten 1) ontwikkeling van een Zika virus infectiemodel en 2) evaluatie van de veiligheid en effectiviteit van kandidaat vaccins tegen een Zika virus in dit infectiemodel. Alleen kandidaat vaccins, die veilig en effectief zijn gebleken in dit niet-humane primaten model komen in aanmerking voor verder klinisch onderzoek. Aangezien het Zika virus eerder uit een resus aap is geïsoleerd en deze diersoort gevoelig blijkt te zijn voor een experimentele infectie met het Zika-virus is het gekozen diemodel geschikt. Eerder zijn binnen de instelling infectiestudies met het verwante West Nile Virus en Dengue-virussen uitgevoerd en zijn de immunogeniciteit, veiligheid en effectiviteit van vaccins tegen het West Nile Virus in niet-humane primaten getest. De gekozen strategie voor infectie en vaccinatie is mede gebaseerd op deze eerdere studies. De expertise voor het verrichten van de voorgestelde experimenten is beschikbaar binnen de instelling en bij de betrokken onderzoekers. Op dit moment is er nog geen kandidaat vaccin tegen Zika virus beschikbaar, maar de verwachting is dat er binnen afzienbare tijd verschillende kandidaat vaccins getest moeten worden. Het is uiteraard niet mogelijk om te voorspellen of deze kandidaten succesvol zullen zijn. Immers er zijn voorbeelden van een voorspoedige ontwikkeling van vaccins (eenvoudige formulering, goede uitkomst in termen van bescherming en veiligheid) maar er zijn ook voorbeelden van zeer moeizaam verlopende vaccin ontwikkeling (er wordt al decennia gewerkt aan vaccins tegen HIV, tuberculose en malaria, nu pas met het eerste zicht op een breed toepasbaar malaria vaccin maar nog geen HIV- en tuberculose-vaccin). Het infectiemodel en de resultaten van vaccinstudies zullen worden gepubliceerd in internationale wetenschappelijke tijdschriften zodat alle belanghebbenden daarvan kennis kunnen nemen.
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd. Het experiment wordt uitgevoerd met niet-humane primaten (resusaap). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op eerdere aanwijzingen voor gevoeligheid voor infectie met Zika virus en zeer grote fysiologische, met

name cerebrale, en immunologische overeenkomsten met de mens. De kandidaat vaccins zijn tevoren zo goed mogelijk gekarakteriseerd in *in vitro* en *in vivo* modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins is het echter noodzakelijk om onderzoek te verrichten naar vaccin veiligheid en effectiviteit in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccins voor humane toepassing worden bovendien getest bij niet-humane primaten omdat deze qua immunorespons grotere overeenkomst met de mens vertonen dan andere diersoorten. Het evalueren van kandidaat vaccins in niet-humane primaten is een essentiële stap naar verder onderzoek in de mens. In dit diermodel zullen eventuele nadelige effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van immunoresponsen en hun interactie met het infectieus agens) en zelfs tegengestelde effecten (niet beschermend tegen infectie maar juist bevorderend) van de kandidaat vaccins proefondervindelijk worden vastgesteld.

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Het ongerief is correct als matig ingeschat, op basis van ervaring met verwante flavi-virussen in niet-humane primaten en recent beschreven experimentele infectie in de resus aap. Ook de toegepaste experimentele technieken en de vaccinaties zijn terecht als matig ongerief ingeschat.
7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen **vervangen**. Helaas niet. *In vitro* kweek technieken zijn beschikbaar voor het bestuderen van virus tropisme (bijvoorbeeld embryonale neuronale kweekmodellen) en direct effect op bijvoorbeeld cellen van het embryonaal centraal zenuwstelsel. *In vitro* technieken geven inzicht in allerlei relevante eigenschappen van het vaccin, zoals zuiverheid en stabiliteit. Met *in vitro* technieken kan echter niet de immunorespons of beschermende werking van vaccins worden aangetoond. Met onderzoek in andere diersoorten kan de immunogeniciteit van kandidaat vaccins worden gescreend hetgeen van belang is bij het ontwikkelen van vaccin-formuleringen (combinaties van componenten). Muizen zijn gevoelig gebleken voor dit virus, maar het verloop van de infectie is sterk afwijkend van wat bij de mens plaats vindt. Er zijn ook geen andere knaagdier modellen voorhanden. Daarom vormen knaagdieren geen geschikt model om de virus replicatie en ziekteverwekkende eigenschappen te bestuderen. Helaas blijft het noodzakelijk om de gekozen formulering te onderzoeken in niet-humane primaten om zicht te krijgen op veiligheid en werkzaamheid wanneer toegepast bij de mens. Dit dient te gebeuren in voorbereiding op klinische studies om proefpersonen geen onnodige risico's te laten lopen. Direct onderzoek met menselijke vrijwilligers is in dit stadium van de vaccin ontwikkeling niet verantwoord. Juist voor onderzoek naar veiligheid en effectiviteit zijn niet-humane primaten nodig, wegens de grote fysiologische en immunologische verwantschap met de mens.
8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch

ingeschat. Bij de infectie experimenten wordt uitgegaan van 6 dieren per groep. Gegevens verkregen uit de voorbereidende infectiestudies of door anderen gegenereerd, zullen worden meegenomen voor het berekenen van de groeps grootte in de vervollexperimenten. Voor de vaccinstudie is gekozen voor 10 dieren per groep. Het aantal te gebruiken dieren zal geminimaliseerd worden aan de hand van gegevens verkregen uit studies in andere diersmodellen en de voorafgaande infectiestudies in apen. Eventueel zullen dieren uit de infectiestudies meegenomen worden als historische controle in de vaccin studie. Tenslotte zal getracht worden de studies naar de beide kandidaat vaccins gelijktijdig uit te voeren, waardoor met één controle groep kan worden volstaan (i.p.v. twee).

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten. De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, de toepassing van sedatie en pijnbestrijding wanneer geïndiceerd, en doorlopende (temperatuur-)metingen en waarnemingen zonder de dieren te hoeven hanteren. Bij onverwacht grotere welzijnsaantasting dan voorzien in het protocol worden humane eindpunten toegepast. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd. De niet-technische samenvatting is een zelfstandig leesbare en evenwichtige weergave van het project en is begrijpelijk geformuleerd.

D. Ethische afweging

De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van dieren, de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij dit aantal dieren wordt gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Het is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. Op termijn kan het project voordelen opleveren voor mens, dier of milieu

Het belang van de doelstelling wordt door de DEC onderschreven in het licht van de recente toename van het verspreidingsgebied van Zika virus, de vele geïnfecteerde mensen, de soms ernstige gevolgen voor de gezondheid en de grote sociaal-economische impact. De concrete doelstellingen zijn in lijn met het beleid van de WHO, haalbaar en kunnen alleen met inzet van niet-humane primaten worden behaald. De resultaten van het onderzoek naar het opzetten van het infectie-model zullen via publicatie ter beschikking komen van alle belanghebbenden inclusief vaccin-ontwikkelaars. Als laatste pre-

klinische fase in de ontwikkeling van een vaccin tegen Zika virus infectie is testen van veiligheid, immunogeniciteit en effectiviteit van kandidaat-vaccins tegen Zika virus infectie in niet humane primaten essentieel. Er is geen alternatief diermodel voorhanden voor bestuderen van de beschermende werking en veiligheid van vaccins tegen Zika virus infectie dat voldoende voorspellend is voor eerste toepassing bij de mens.

Binnen de instelling en bij de onderzoeker is veel ervaring beschikbaar met het uitvoeren van dit type onderzoek, met dit type virussen. Daardoor is het mogelijk de dierstudies met de grootst mogelijke zorgvuldigheid uit te voeren, waarbij de vereiste uitkomsten verkregen worden met een zo beperkt mogelijk aantal dieren en zo min mogelijk aantasting van hun welzijn.

De principes van vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven zijn toegepast voor zover mogelijk. Bij de proefdieren en hun verzorging, behandeling en huisvesting wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de specifieke eigenschappen en sociaal gedrag van deze diersoort en wordt in ruime mate aandacht besteed aan verrijking. Ziekteverschijnselen en mogelijk afwijkend gedrag ten gevolge van de infectie worden zorgvuldig gemonitord. Dit zijn behalve wetenschappelijke uitkomsten ook belangrijke parameters om het welzijn van de dieren te waarborgen

Voor het voorgestelde onderzoek is het gebruik van niet-humane primaten naar het oordeel van de commissie essentieel en ethisch aanvaardbaar.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

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

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

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus



8

Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre
t.a.v. 10.2.e
Postbus 3306
2288 GJ Rijswijk

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD502002016496

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 19 mei 2016
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 28 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van Zika virus vaccins" met aanvraagnummer AVD502002016496. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

- 1) In de wet wordt gesteld dat: niet humane primaten "worden niet in dierproeven gebruikt, tenzij door middel van een wetenschappelijke motivering wordt aangetoond dat het doel van de dierproef niet kan worden bereikt door gebruikmaking van dieren behorende tot een andere soort dan een niet-menselijke primatensoort...". Wij vinden de onderbouwing voor het gebruik van niet humane primaten in deze aanvraag onvoldoende. Wij verzoeken u een betere onderbouwing te geven voor de noodzaak om voor deze doelstelling resusapen te gebruiken.
- 2) Het opzetten van het model, zoals beschreven in bijlage 1, zou als fundamenteel onderzoek gezien kunnen worden. Wat is hier uw mening over?
- 3) In uw projectvoorstel onder vraag 3.4.3 beschrijft u dat de keuze van het virus afhankelijk kan zijn van het ontwikkelde vaccin, wat zou kunnen afwijken van het virus dat zich momenteel verspreidt in Zuid Amerika. Kunt u onderbouwen wat de criteria zijn waarop de keuze van het te testen vaccin wordt gebaseerd?
- 4) Kunt u een go/no go moment beschrijven tussen deel 1 en deel 2? En wat zijn de criteria hiervan?
- 5) In bijlage 1 beschrijft u dat u bij de dieren via een kleine chirurgische ingreep een temperatuurtransponder zult plaatsen. Deze chirurgische ingreep vindt plaats voorafgaand aan de acclimatisatieperiode, terwijl in het algemeen gesteld wordt

dat dieren pas na acclimatisatie handelingen zouden mogen ondergaan. Kunt u verhelderen waarom de chirurgische ingreep plaatsvindt voorafgaande aan de acclimatisatieperiode, hierbij het dierenwelzijn in overweging nemend?

Datum
19 mei 2016

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD502002016496

6) In bijlage 1 beschrijft u dat de dieren via een sonde gevoed zullen worden. Kunt u beschrijven hoe dit toedienen van sondevoeding het welzijn van de dieren beïnvloedt?

7) In bijlage 1 beschrijft u de opzet van het diermodel. Het is ons echter niet helder welke stappen u in deze modelontwikkeling zult zetten. Graag deze verhelderen.

8) In bijlage 1 en 2 beschrijft u onder vraag K alleen de ongeriefsclassificatie wanneer geen ziekteverschijnselen optreden. Hoe schat u de ongeriefsclassificatie in wanneer wel ziekteverschijnselen optreden en hoe groot schat u deze kans?

9) U beschrijft in bijlage 2 onder vraag B: "Als alternatief kan ook worden gekozen om elk vaccin apart te testen met ieder een controle groep". Waarop baseert u de keuze om de vaccins apart te testen in plaats van gelijktijdig?

10) In bijlage 2 beschrijft u een algemene opzet die uitgaat van 3 immunisaties. Is dit het maximum aantal immunisaties dat u zult uitvoeren, of zou dit nog kunnen wijzigen? Kunt u het maximale aantal immunisaties noemen?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

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

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw gegevens

1.1 Vul de gegevens in.

Naam aanvrager		
Postcode		Huisnummer

1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?
Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.

Aanvraagnummer	
----------------	--

2 Bijlagen

2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.

<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	
<input type="checkbox"/>	

3 Ondertekening

3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Naam	
Datum	- - 20

Handtekening

--

Rijswijk, 1 juni 2016

Betreft: aanvullende informatie projectnummer AVD502002016496

Geachte leden van de Centrale Commissie Dierproeven,

Naar aanleiding van uw brief dd. 19 mei 2016 betreffende aanvullende informatie op onze aanvraag voor een projectvergunning dierproeven 'Evaluatie van Zika virus vaccins' (aanvraagnummer AVD502002016496) stuur ik u hierbij onze reactie. In deze brief vindt u een puntsgewijze reactie op de door u gestelde vragen en/of opmerkingen. Tevens zijn deze punten, voor zover mogelijk, aangepast in de documenten van de aanvraag (bijgaand; 3 bijlages).

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

Met vriendelijke groet,

10.2.e

10.2.g

P.O. Box 3306, 2280 GH Rijswijk, The Netherlands
+31 10.2.e

1) In de wet wordt gesteld dat: niet humane primaten "worden niet in dierproeven gebruikt, tenzij door middel van een wetenschappelijke motivering wordt aangetoond dat het doel van de dierproef niet kan worden bereikt door gebruikmaking van dieren behorende tot een andere soort dan een niet- menselijke primatensoort...". Wij vinden de onderbouwing voor het gebruik van niet humane primaten in deze aanvraag onvoldoende. Wij verzoeken u een betere onderbouwing te geven voor de noodzaak om voor deze doelstelling resusapen te gebruiken.

Re: Het gebruik van niet-humane primaten (NHP) ten behoeve van het Zika virus vaccin onderzoek is essentieel. Het evalueren van geheel nieuwe vaccins voor gebruik in mensen behoeft een proefdiermodel dat geïnfecteerd kan worden met het agens waartegen de mens dient te worden beschermd en dat tevens een immuunsysteem heeft dat sterk overeenkomt met dat van de mens. Momenteel worden twee diersoorten gebruikt in Zika virus onderzoek: muizen en resusapen [1-4].

De evolutionaire afstand tussen de muis en de mens is 65 miljoen jaar [5]. 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 [5-9]. De verschillen in immuunsysteem zijn vaak nog groter bij inteelt of knock-out muizenstammen [10, 11] met als gevolg dat de rol van de muis in preklinisch onderzoek teleurstellend is gebleken [5, 7]. Ook zijn de infectiemodellen voor humane virussen, zoals opgezet in verschillende muizenstammen, vaak in hoge mate artificieel door het gebruik van hoge infectiedoses, sterk afwijkende infectieroutes, bijv. intracerebrale toediening, of door gebruik van immuundeficiënte muizenstammen, terwijl viremie en pathogenese afwijken van die in de mens [1, 2, 4, 12]. 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 immuunrespons in de mens zal zijn. Daarom is testen in niet-humane primaten nodig voordat toepassing in de mens mogelijk is.

De bevindingen met de muizenmodellen staan in sterk contrast met die verkregen in NHP modellen. Makaken, zoals resusapen en cynomolgus apen, zijn evolutionair veel nauwer verwant aan de mens dan muizen. De evolutionaire afstand tussen mens en makaak wordt geschat op 5.1 miljoen jaar [13]. Het immuunsysteem van NHP vertoont grote gelijkheid met dat van de mens, en de door virale infectie of vaccinatie opgewekte immuunresponsen in makaken zijn in hoge mate vergelijkbaar met die van de mens.

Doordat het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend is van de mens hebben vaccin geïnduceerde immuunresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde voor de effectiviteit in de mens [14-17]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, 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 Zika virus vaccins. Translatie direct van muis naar mens zou onverantwoord zijn aangezien vaccin-geïnduceerde immuunresponsen ook een schadelijke werking kunnen hebben hetgeen ze dan ongeschikt maakt om klinisch te worden onderzocht. Het gaat hier immers om vaccinconcepten ter bescherming tegen een virusziekte waartegen nog geen vaccins bestaan. Voorts zijn er geen aanwijzingen dat een andere diersoort hiervoor goed zou kunnen modelleren en de complexiteit van het immuunsysteem met de vele regulatoire mechanismen kan niet *in vitro* gemodelleerd worden.

1. Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JLM, Guimarães KP, et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*. 2016; in press.
2. Dowall SD, Graham VA, Rayner E, Atkinson B, Hall G, Watson RJ, et al. A Susceptible Mouse Model for Zika Virus Infection. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(5):e0004658.
3. Dudley DM, Aliota MT, Mohr EL, Weiler AM, Lehrer-Brey G, Weisgrau KL, et al. Natural history of Asian lineage Zika virus infection in macaques. *BioRxiv*. 2016.
4. Lazear HM, Govero J, Smith AM, Platt DJ, Fernandez E, Miner JJ, et al. A Mouse Model of Zika Virus Pathogenesis. *Cell Host & Microbe*. 2016; 19:1-11.
5. Davis MM. A Prescription for Human Immunology. *Immunity*. 2008; 29(6):835-8.
6. 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.
7. Khanna R, Burrows SR. Human immunology: a case for the ascent of non-furry immunology. *Immunology and Cell Biology*. 2011; 89(3):330-31.
8. Mestas J, Hughes CCW. Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *The Journal of Immunology*. 2004; 172(5):2731-8.
9. Nimmerjahn F, Gordan S, Lux A. FcγR dependent mechanisms of cytotoxic, agonistic, and neutralizing antibody activities. *Trends in Immunology*. 2015; 36(6):325-36.
10. von Herrath MG, Nepom GT. Lost in translation: barriers to implementing clinical immunotherapeutics for autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*. 2005; 202(9):1159-62.
11. 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.
12. 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.
13. Perelman P, Johnson W, Roos C, Seuánez H. A Molecular Phylogeny of Living Primates. *PLoS Genet*. 2011; 7(3):e1001342.
14. Bolker, J. Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*. 2012; 491:31-33.

15. 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.
16. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*. 2014; 112: 59–79.
17. Zompi, S., and Harris, E. Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses*. 2012; 4: 62–82.

In Bijlage 1, vraag B wordt nu uitgebreid ingegaan op de overweging om resusapen te gebruiken in het Zika virus vaccin project. In dit hoofdstuk wordt nu ingegaan op de verschillen tussen knaagdieren en niet-humane primaat als proefdier, en de redenen waarom NHP geschikter zijn voor dit specifieke onderzoek, te weten de ontwikkeling van vaccin voor gebruik in de mens. De aangepaste delen zijn weergegeven in italic.

In Bijlage 2, vraag B staat een verwijzing naar de overwegingen beschreven in Bijlage 1

2) Het opzetten van het model, zoals beschreven in bijlage 1, zou als fundamenteel onderzoek gezien kunnen worden. Wat is hier uw mening over?

Re: Het opzetten van een model voor Zika virus infectie als losstaande studie zou inderdaad kunnen worden gezien als fundamenteel onderzoek. In deze aanvraag maakt de modelontwikkeling echter onlosmakelijk deel uit van een groter project met als primair doel de evaluatie van nieuw ontwikkelde Zika virus vaccins, wat naar onze mening valt in de categorie 'translationeel of toegepast onderzoek'. Een dergelijke redenering wordt ook door de Europese Commissie gevolgd in nadere toelichtingen op de vereisten m.b.t. de statistische rapportage zoals de lidstaten die moeten uitvoeren (<http://www.bbsrc.ac.uk/documents/1601-discussion-paper-reporting-statistical-data-pdf/>).

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 1A. 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 Zika virus vaccin-evaluatie studies, en moet daarom naar onze mening als toegepast onderzoek worden gezien.

In het projectvoorstel, onder vraag 3.1 is een laatste alinea toegevoegd waarin dit wordt verduidelijkt (in italic).

3) In uw projectvoorstel onder vraag 3.4.3 beschrijft u dat de keuze van het virus afhankelijk kan zijn van het ontwikkelde vaccin, wat zou kunnen afwijken van het virus dat zich momenteel verspreidt in Zuid Amerika. Kunt u onderbouwen wat de criteria zijn waarop de keuze van het te testen vaccin wordt gebaseerd?

Re: Onze formulering van het antwoord op vraag 3.4.3 was inderdaad niet geheel duidelijk. De Zika virus epidemie, zoals die op het ogenblik heerst in Zuid- en Midden-Amerika, wordt veroorzaakt door een variant van het Aziatische genotype. Alle Zika virussen die tot nu toe gedurende deze epidemie zijn geïsoleerd en gesequenced zijn sterk met elkaar verwant (Wang *et al.*, From Mosquitos to Humans: Genetic Evolution of Zika Virus, *Cell Host & Microbe* 2016 19:1-5). De momenteel in ontwikkeling zijnde vaccins zijn daarom gericht op bescherming tegen deze groep virussen. Kandidaat vaccinvirussen worden ook aan deze groep ontleend of zijn er mee vergelijkbaar (antigene overeenkomsten) maar zijn in principe geen primaire isolaten van het circulerende virus.

Virussen muteren in het algemeen vrij snel tijdens hun verspreiding in de menselijke populatie en het is mogelijk dat virusvarianten ontstaan waartegen de nu in ontwikkeling zijnde vaccins geen bescherming bieden. Dan zal het vaccin moeten worden aangepast om ook bescherming te bieden tegen andere Zika virus varianten. Om de breedte van de bescherming door een vaccin te testen kan het mogelijk zijn dat gekozen wordt voor een virus variant die afwijkt van de circulerende 'Amerikaanse' virussen.

De laatste alinea is toegevoegd aan vraag 3.4.3., en is weergegeven in italic.

4) Kunt u een go/no go moment beschrijven tussen deel 1 en deel 2? En wat zijn de criteria hiervan?

Re: In Bijlage 1, vraag A, wordt beschreven dat een infectie als succesvol wordt beschouwd wanneer na Zika virus infectie 1) het virus kan worden gedetecteerd in het bloed, en 2) daarbij minimaal 10^5 virale RNA deeltjes per ml plasma worden gemeten tijdens de piekviremie, aangezien dit wijst op virus vermeerdering. Dit beschouwen wij als een go/no go moment. Pas wanneer aan deze voorwaarden voor een succesvolle Zika virus infectie is voldaan kan het model worden gebruikt voor Zika virus vaccin evaluatie.

In bijlage 1, vraag A, staat nu dat wanneer een infectie succesvol is '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.)'.

5) In bijlage 1 beschrijft u dat u bij de dieren via een kleine chirurgische ingreep een temperatuurtransponder zult plaatsen. Deze chirurgische ingreep vindt plaats voorafgaand aan de acclimatisatieperiode, terwijl in het algemeen gesteld wordt dat dieren pas na acclimatisatie handelingen zouden mogen ondergaan. Kunt u verhelderen waarom de chirurgische ingreep plaatsvindt voorafgaande aan de acclimatisatieperiode, hierbij het dierenwelzijn in overweging nemend?

Re: De reden waarom de temperatuurtransponders worden geplaatst voorafgaande aan de acclimatisatie periode is het minimaliseren van het ongerief bij deze dieren.

De dieren die voor deze studie geselecteerd worden zijn al aanwezig binnen het instituut. De selectie van de dieren vindt plaats na een uitgebreide gezondheidscontrole. De dieren worden onder sedatie naar de experimentele ruimte verhuisd; tegelijkertijd wordt dan een temperatuurtransponder ingebracht. Op advies van de dierenartsen wordt de apen een herstelperiode gegund van 4 weken na het plaatsen van de transponder voordat mag worden gestart met de studie. Zou het plaatsen van de transponder plaatsvinden nadat de dieren volledig zijn geacclimatiseerd, dan zou dit betekenen dat deze dieren 3 weken langer experimenteel gehuisvest moeten worden (voor volledige acclimatisatie wordt een periode van minimaal 3 weken gerekend).

Omdat in onze aanvraag het plaatsen van de temperatuurtransponder tegelijk wordt uitgevoerd met de verhuizing en de gezondheidscontrole wordt het extra ongerief geminimaliseerd.

In Bijlage 1 vraag I. is een extra alinea toegevoegd waarin wij uitleggen waarom deze handelingen tegelijkertijd worden uitgevoerd (weergegeven in italic).

6) In bijlage 1 beschrijft u dat de dieren via een sonde gevoed zullen worden. Kunt u beschrijven hoe dit toedienen van sondevoeding het welzijn van de dieren beïnvloedt?

Re: Zoals staat vermeld in Bijlage 1 veroorzaken de dagelijkse verdovingen gedurende de eerste 10 dagen van de experimentele infectie een verminderde eetlust, met als gevolg een aantasting van het algehele welzijn. Om deze welzijnsaantasting te minimaliseren zullen de dieren in deze periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde. 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 maar juist worden bevorderd omdat ze beter in conditie blijven.

In Bijlages 1 en 2 vraag D, onder het kopje 'Verfijning' hebben wij een gedeelte van de laatste alinea aangepast waardoor bovenstaande wordt verduidelijkt. Het aangepaste deel van de alinea luidt nu; 'Dit veroorzaakt een verminderde eetlust, met als gevolg een aantasting van het algehele welzijn. Om deze welzijnsaantasting te minimaliseren zullen de dieren in deze periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde. 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 maar juist worden bevorderd omdat zij beter in conditie blijven.'

7) In bijlage 1 beschrijft u de opzet van het diermodel. Het is ons echter niet helder welke stappen u in deze modelontwikkeling zult zetten. Graag deze verhelderen.

Re: Het opzetten van een Zika virus infectiemodel in resusapen is essentieel voor de tweede fase in dit project, de vaccin-evaluatie. In het infectiemodel worden de normaalwaarden (waarden vóór experimentele infectie), en de veranderingen in deze waarden veroorzaakt door Zika virus infectie bepaald van een aantal virologische, klinische en histologische parameters, zoals o.m.:

1. hoeveelheid virus in bloed
2. hematologie en bloedchemie
3. lichaamstemperatuur en gewicht
4. cytokine productie
5. productie van antistoffen
6. celtypes in het bloed

Na euthanasie en sectie van de dieren volgt dan nog:

7. pathologie onderzoek
8. histologisch onderzoek
9. bepaling van hoeveelheid virus in verschillende organen

Het effect van vaccinatie op de Zika virus infectie zal uiteindelijk worden bepaald aan de hand van deze verschillende parameters.

Om een infectiemodel op te zetten wordt een goed gedefinieerde Zika virusstock gebruikt die is geproduceerd met behulp van een muskietencellijn.

In de eerste studie zal de hoeveelheid virus die nodig is voor een infectie worden bepaald. Het virus zal worden toegediend via de intradermale weg. Hiervoor is gekozen omdat dit de natuurlijke transmissieroute van het virus (via muggenbeten) het best nabootst. Deze route is op ons instituut al succesvol gebruikt voor experimentele infecties met de verwante dengue 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. Zoals vermeld is in ons antwoord op vraag 4, wordt een Zika virus infectie als

succesvol beschouwd wanneer na infectie 1) het virus kan worden gedetecteerd in het bloed, en 2) daarbij minimaal 10^5 virale RNA deeltjes per ml plasma worden gemeten tijdens de piekviremie.

Een vervolgstudie kan nodig zijn wanneer niet de beoogde hoeveelheid virus in het bloed wordt bereikt, of wanneer de gebruikte infectieroute niet heeft geleid tot infectie van alle dieren. Andere mogelijke methoden voor infectie zijn subcutane of intraveneuze toediening. Ook kan zo nodig in een vervolgstudie getest worden of andere Zika virus stammen beter geschikt zijn voor de vaccin evaluatie studies zoals beschreven in Bijlage 2. De noodzaak en de exacte opzet van deze vervolgstudies zal aan de IvD worden voorgelegd.

Tijdens iedere infectiestudie wordt op regelmatige tijdstippen bloedmonsters afgenomen voor de bepaling van de bovengenoemde parameters (nrs 1,2 4, 5 en 6). 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 Zika virus stam wordt gebruikt voor de vaccin evaluatie
2. welke hoeveelheid virus nodig is om resusapen te infecteren met Zika virus
3. de definitieve route van virus toediening die zal worden gebruikt in de vaccinstudies
4. hoe verschillende virologische, klinische en histologische parameters worden beïnvloed door Zika virus infectie, d.w.z. welke parameters zullen worden gebruikt voor de evaluatie van nieuw ontwikkelde Zika virus vaccins

Wij hebben in Bijlage 1 vraag A. het eerste gedeelte herschreven waardoor de stappen in modelontwikkeling verduidelijkt zijn. Ook is de laatste alinea (betreffende vervolgstudies) aangepast. Beide zijn in italic weergegeven.

8) In bijlage 1 en 2 beschrijft u onder vraag K alleen de ongeriefsclassificatie wanneer geen ziekteverschijnselen optreden. Hoe schat u de ongeriefsclassificatie in wanneer wel ziekteverschijnselen optreden en hoe groot schat u deze kans?

Re: In het algemeen treden bij de mens alleen lichte griepachtige verschijnselen op na Zika virus infectie. Het enige acute ernstige ziekteverschijnsel veroorzaakt door het Zika virus is het Guillain-Barré syndroom, hetgeen gepaard gaat met verlamningsverschijnselen. Deze symptomen treden slechts sporadisch op, bij 0.24 van de 1000 infecties (Cao-Lormeau V-M *et al.* Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. Lancet 2016 380: 1-9). Het valt dan ook niet te verwachten dat dit ziektebeeld zal gevonden worden bij het beperkte aantal dieren dat in deze studie gebruikt wordt. Echter, in geval van vergelijkbare 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 geëvalueerd.

Omdat de Zika virus epidemie van vrij recente datum is en daarom nog maar weinig dieronderzoek is gedaan met het virus, is moeilijk een schatting te geven van de kans op ziekteverschijnselen bij de apen na Zika virus infectie. Uitgaande van onze eigen ervaringen met verwante flavivirussen, zoals het dengue virus en het West Nijl virus, en op basis van gepubliceerde onderzoeken (Sariol CA *et al.* Front. Immunol 2014 5: 115; Ratterree MS *et al.* J. Infect. Dis. 2004 189: 669-676), gaan wij er van uit dat de kans zeer klein is dat er ziekteverschijnselen optreden.

In beide bijlages onder vraag K hebben wij devolgende alinea toegevoegd: 'Omdat de Zika virus epidemie van vrij recente datum is en daarom nog maar weining dieronderzoek is gedaan met het virus, is moeilijk een schatting te geven van de kans op ziekteverschijnselen bij de apen na Zika virus infectie. Uitgaande van onze eigen ervaringen met verwante flavivirussen, zoals het dengue virus en het West Nijl virus, en op basis van gepubliceerde onderzoeken (Sariol CA et al. Front. Immunol 2014 5: 115; Ratterree MS et al. J. Infect. Dis. 2004 189: 669-676), gaan wij er van uit dat de kans zeer klein is dat er ziekteverschijnselen optreden. Echter, in het 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'.

9) U beschrijft in bijlage 2 onder vraag B: "Als alternatief kan ook worden gekozen om elk vaccin apart te testen met ieder een controle groep". Waarop baseert u de keuze om de vaccins apart te testen in plaats van gelijktijdig?

Re: Omdat Zika vaccins in verschillende stadia van ontwikkeling zijn is nog niet bekend welk(e) vaccin(s) zullen worden getest in het kader van dit project. Het geniet onze voorkeur om in geval van twee vaccinkandidaten deze tegelijkertijd te evalueren zodat maar één controle groep nodig is en onnodig proefdiergebruik wordt vermeden. Het is echter mogelijk dat een vaccin, na de eerste evaluatie, verbetering behoeft, en dat een verbeterde versie van dit vaccin pas later getest wordt, hiernaar verwijst de zinsnede "Als alternatief kan ook worden gekozen om elk vaccin apart te testen met ieder een controle groep".

*In Bijlage 2, vraag B is de alinea aangepast om dit te verduidelijken. Deze luidt nu als volgt:
'Het maximale aantal apen n= 40 dieren. In principe wordt uitgegaan van een studie met twee vaccin groepen en 1 controle groep (totaal max. 30 apen). Het is echter mogelijk dat een vaccin, na de eerste evaluatie, verbetering behoeft, en dat een verbeterde versie van dit vaccin pas later getest wordt. In dit geval behoeft elk vaccin een aparte controle groep, d.w.z. totaal max. 2 x 20 = 40 dieren. De aangegeven aantallen dieren zijn de maximale aantallen die in deze studie zullen worden gebruikt. De exacte studie opzet zal met de Instantie voor Dierenwelzijn worden afgestemd'.*

10) In bijlage 2 beschrijft u een algemene opzet die uitgaat van 3 immunisaties. Is dit het maximum aantal immunisaties dat u zult uitvoeren, of zou dit nog kunnen wijzigen? Kunt u het maximale aantal immunisaties noemen?

Re: Inderdaad werd bedoeld dat dit het maximale aantal immunisaties is dat wij willen uitvoeren.

Wij hebben dit aangepast. er staat nu 'Een algemene opzet van een vaccinatie studie bestaat uit maximaal 3 immunisaties'.



Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

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

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

In 2015 werd het Zika virus voor het eerst aangetroffen in Zuid-Amerika en daarna heeft het virus zich razendsnel verspreid over Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben [1]. Het Zika virus is een lid van de Flavivirus familie, en is verwant aan de veroorzaker van knokkelkoorts (dengue virus), maar ook aan het gele koorts virus, het Japanse encefalitis virus en het West Nijl virus. Het Zika virus is voor het eerst geïsoleerd in 1947 in het Zika oerwoud in Oeganda uit een resusaap die werd gebruikt bij gele koorts onderzoek [2].

Vóór 2015 werd het Zika virus gezien als de veroorzaker van een vrij milde, griepachtige ziekte. Sindsdien stapelen de, tot nu toe voornamelijk epidemiologische, bewijzen zich op dat Zika virus infectie ook kan leiden tot een ernstige, acute ontsteking van het zenuwstelsel (het Guillain-Barré syndroom; GBS). Daarnaast is bij baby's die geboren zijn bij vrouwen die tijdens hun zwangerschap geïnficeerd zijn geweest met het Zika virus een toename geconstateerd van microcefalie, een ernstige afwijking van het centrale zenuwstelsel waarbij de hersenen zich niet volledig ontwikkelen met als gevolg een kans op een ernstige verstandelijke handicap. Vaak is er ook sprake van een vertraagde motorische ontwikkeling en aangeboren afwijkingen in andere orgaansystemen [3-7].

Het Zika virus als humaan pathogeen is pas echt bekend sinds 2007 toen een epidemie uitbrak op het eiland Yap in Micronesië welke gepaard ging met koorts, huiduitslag, gewrichtspijnen en conjunctivitis [8]. Onderzoek wees uit dat deze epidemie werd veroorzaakt door de genetische variant van het Zika virus. Dit zgn. Aziatische genotype is ook verantwoordelijk geweest voor uitbraken in Cambodja in 2010, en een vrij grote uitbraak in Frans Polynesië in 2013-2014 waarbij 28.000 mensen ziekteverschijnselen vertoonden [9]. Het Afrikaanse genotype van het Zika virus was de oorzaak van ziektegevallen in 2007 en 2010 in Gabon [10]. Serologisch onderzoek heeft uitgewezen dat humane Zika virus infecties wijdverspreid zijn in Afrika en Zuidoost Azië en op de eilanden in de Stille Zuidzee [11-13]. In 2015 werd voor het eerst melding gemaakt van Zika virus infecties in Brazilië veroorzaakt door het Aziatische genotype. Daarna heeft het virus zich razendsnel verspreid over minstens 33 landen in Zuid-Amerika, Midden-Amerika, en de Caraïben [1]. Het Braziliaanse ministerie van gezondheid heeft geschat dat tot 15 december 2015 tussen de 440 duizend en 1.5 miljoen infecties door het Zika virus zijn voorgevallen in Brazilië. Vanwege de ernst van de epidemie heeft de Wereld Gezondheid Organisatie (WHO) deze epidemie een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid verklaard.

De incubatie periode van het Zika virus is onbekend, maar varieert hoogstwaarschijnlijk tussen 2 tot 7 dagen. De symptomen veroorzaakt door Zika virus infectie zijn over het algemeen vrij mild en worden gekenmerkt door acute koorts, huiduitslag, gewrichtspijn, en conjunctivitis. Deze symptomen duren meestal enkele dagen tot 1 week. Gedurende de recente uitbraak in Brazilië werd echter Zika virus RNA aangetroffen in weefselmonsters van kinderen met microcefalie en in geaborteerde foetussen bij vrouwen die tijdens de zwangerschap besmet waren met het Zika virus [6, 7]. Op 1 februari 2016 heeft de WHO deze mogelijke correlatie bevestigd op basis van een toename in het aantal gevallen van microcefalie tijdens de Zika virus uitbraak in Frans Polynesië in 2014 en tijdens de recente uitbraak in Brazilië (WHO). Het met Zika virus infectie in verband gebrachte GBS is een aandoening van het perifere zenuwstelsel veroorzaakt door een auto-immunreactie die op zijn beurt wordt geïnduceerd door bijv. een virale infectie. Symptomen zijn gevoelsstoornissen, toenemende spierzwakte, verminderde reflexen en verlamingsverschijnselen. Deze symptomen zijn meestal van tijdelijke aard maar genezing kan maanden tot jaren duren [4, 5].

De mug *Aedes aegypti*, de belangrijkste verspreider van dengue en gele koorts, is ook de belangrijkste verspreider van het Zika virus. Daarnaast is ook de tijgermug (*Aedes albopictus*), verspreider van onder meer het West Nijl virus en Chikungunya virus, in staat Zika virus te verspreiden. Beide muggensoorten komen wijdverbreid voor in tropische en subtropische gebieden van zowel Zuid- en Midden-Amerika, Afrika en Azië, maar het gebied waar deze muggen voorkomen breidt zich onder invloed van klimaatverandering, de groeiende wereldbevolking en toename in de wereldhandel verder uit naar Noord-Amerika, Europa en Australië [14]. Beide muggensoorten zijn overdag actief en dit maakt het moeilijker zich tegen deze muggen te beschermen. Behalve verspreiding via muggen is recentelijk ook aangetoond dat het virus seksueel kan worden overgedragen [15]. Andere infectieroutes behoren ook tot de mogelijkheden, aangezien het Zika virus ook is aangetroffen in speeksel, urine en moedermelk [16-18].

Vanwege zijn relatieve onbekendheid tot medio 2015, is erg weinig onderzoek verricht aan deze infectieziekte. Weinig is daarom nog bekend over de onderliggende oorzaken van microcefalie en het GBS in relatie tot Zika virus infectie. Studies in proefdieren zijn zeer beperkt uitgevoerd. Dick [19] heeft

de gevoeligheid van muizen voor Zika virus infectie beschreven en heeft aangetoond dat dit virus in muizen neurotroop is en niet kon worden gedetecteerd in andere weefsels. Infectie studies in katoenratten, cavia's en konijnen bleven zonder succes. Bell *et al.* beschreven de replicatie en pathologie in de zenuwcellen van jonge muizen na intracerebrale infectie [20]. Verdere onderzoeken zijn nog niet gepubliceerd, maar zeer recent is in Science melding gemaakt van het feit dat de muis geen goed diermodel is om Zika virus replicatie en de ziekteverwekkende eigenschappen te onderzoeken vanwege de afwijkende pathogenese van het virus in deze knaagdieren [21].

Het opzetten van een model voor Zika virus infectie is een onderdeel van een groter project met als primair doel de evaluatie van nieuw ontwikkelde Zika virus vaccins. Echter, 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 1A. 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 Zika virus vaccin-evaluatie studies, en valt dus in de categorie 'translationeel of toegepast onderzoek'.

Een dergelijke redenering wordt ook door de Europese Commissie gevolgd in nadere toelichtingen op de vereisten m.b.t. de statistische rapportage zoals de lidstaten die moeten uitvoeren (<http://www.bbsrc.ac.uk/documents/1601-discussion-paper-reporting-statistical-data-pdf/>).

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?

Het doel van dit project is om nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te evalueren. Daarvoor is het nodig om een infectiemodel in resusapen te ontwikkelen voor dit virus. Dit infectiemodel zal vervolgens worden gebruikt om de nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te testen in de allerlaatste, preklinische fase van het onderzoek, vóórdat zij bij mensen worden uitgetest.

Het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd heeft grote expertise opgebouwd op het gebied van het uitvoeren van vergelijkbare studies met dengue virus en West Nijl virus, beide nauw verwant aan het Zika virus 10.2.g

De infectiestudies met het Zika virus zullen worden opgezet naar analogie met die voor dengue en West Nijl virus. De exacte opzet van de Zika virus vaccin evaluatiestudies zal afhankelijk zijn van het type vaccin dat zal worden geselecteerd op basis van immunogeniciteitstesten in knaagdieren. Echter, in grote lijnen zal worden gekozen voor een opzet die eerder succesvol is gebleken bij de ontwikkeling van een West Nijl virus vaccin in het instituut 10.

Het instituut waar deze studies zullen worden uitgevoerd heeft beschikking over een grote fokkolonie van resusapen. Deze resusapen zijn genetisch goed gekarakteriseerd en vrij van verschillende virussen. Op het instituut is de infrastructuur en de expertise aanwezig om deze studies veilig, op DM-3 en ML-3 niveau, en binnen de gestelde termijn uit te voeren.

Referenties bij 3.1 en 3.2

1. Hennessey, M.; Fischer, M.; Staples, J. E., Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* **2016**, *65*, (3), 55-58.
2. Dick, G.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J., Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1952**, *46*, (5), 509-520.
3. Broutet, N.; Krauer, F.; Riesen, M.; Khalakdina, A.; Almiron, M.; Aldighieri, S.; Espinal, M.; Low, N.; Dye, C., Zika Virus as a Cause of Neurologic Disorders. *The New England journal of medicine* **2016**.
4. Gatherer, D.; Kohl, A., Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the

Americas. *Journal of General Virology* **2015**.

5. Oehler, E.; Watrin, L.; Larre, P.; Leparç-Goffart, I.; Lastere, S.; Valour, F.; Baudouin, L.; Mallet, H.; Musso, D.; Ghawche, F., Zika Virus Infection Complicated by Guillain-Barré Syndrome-Case Report, French Polynesia, December 2013. *Eurosurveillance* **2014**, *19*, (9).
6. Schuler-Faccini, L.; Ribeiro, E. M.; Feitosa, I. M. L.; Horovitz, D. D. G.; Cavalcanti, D. P.; Pessoa, A.; Doriqui, M. J. R.; Neri, J. I.; Neto, J. M. d. P.; Wanderley, H. Y. C.; Cernach, M.; El-Husny, A. S.; Pone, M. V. S.; Srao, C. L. C.; Sanseverino, M. T. V.; Force, B. M. G. S. Z. E. T., Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* **2016**, *65*, (3), 59-62.
7. WHO, P., Increase of microcephaly in the northeast of Brazil. *Epidemiological Alert* Nov 17, 2015, pp 1-2.
8. Lanciotti, R. S.; Kosoy, O. L.; Laven, J. J.; Velez, J. O.; Lambert, A. J.; Johnson, A. J.; Stanfield, S. M.; Duffy, M. R., Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases* **2008**, *14*, (8), 1232-1239.
9. Musso, D.; Nilles, E. J.; Cao-Lormeau, V.-M., Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clinical microbiology and infection* **2014**, *0595-0596*.
10. Grard, G.; Caron, M.; Mombo, I. M.; Nkoghe, D.; Mboui Ondo, S.; Jiolle, D.; Fontenille, D.; Paupy, C.; Leroy, E. M., Zika Virus in Gabon (Central Africa) - 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS neglected tropical diseases* **2014**, *8*, (2), e2681.
11. Cao-Lormeau, V.-M.; Musso, D., Emerging arboviruses in the Pacific. *The Lancet* **2014**, *384*, (9954), 1571-1572.
12. Cao-Lormeau, V.-M.; Roche, C.; Teissier, A.; Robin, e.; Berry, A.-L.; Mallet, H.-P.; Sall, A. A.; Musso, D., Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerging Infectious Diseases* **2014**, *20*, (6), 1085-1086.
13. Hayes, E. B., Zika Virus Outside Africa. *Emerging Infectious Diseases* **2009**, *15*, (9), 1347-1350.
14. Kraemer, M. U. G.; Sinka, M. E.; Duda, K. A.; Mylne, A. Q. N.; Shearer, F. M.; Barker, C. M.; Moore, C. G.; Carvalho, R. G.; Coelho, G. E.; Van Bortel, W.; Hendrickx, G.; Schaffner, F.; Elyazar, I. R. F.; Teng, H.-J.; Brady, O. J.; Messina, J. P.; Pigott, D. M.; Scott, T. W.; Smith, D. L.; Wint, G. R. W.; Golding, N.; Hay, S. I., The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife* **2015**, *4*, e08347.
15. Mansuy, J. M.; Dutertre, M.; Mengelle, C.; Fourcade, C.; Marchou, B.; Delobel, P.; Izopet, J.; Martin-Blondel, G., Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *The Lancet Infectious Diseases* **2016**, 1-1.
16. Barzon, L.; Pacenti, M.; Berto, A.; Sinigaglia, A.; Franchin, E.; Lavezzo, E.; Brugnaro, P.; Palù, G. Isolation of infectious Zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. (10),
17. Dupont-Rouzeyrol, M.; Biron, A.; O'Connor, O.; Huguon, E.; Descloux, E., Infectious Zika viral particles in breastmilk. *The Lancet* **2016**, *387*, (10023), 1051.
18. Gourinat, A.-C.; O'Connor, O.; Calvez, E.; Goarant, C.; Dupont-Rouzeyrol, M., Detection of Zika Virus in Urine. *Emerging Infectious Diseases* **2015**, *21*, (1), 84-86.
19. Dick, G., Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1952**, *46*, (5), 521-534.
20. Bell, T. M.; Field, E. J.; Narang, H. K., Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Archiv für die gesamte Virusforschung* **1971**, *35*, (2), 183-193.
21. Vogel, G., A race to explain Brazil's spike in birth defects. *Science (New York, NY)* Feb 08, 2016, pp 110-111.

10

.2.

g

3.3 Belang

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

De recente uitbraak van Zika virus infecties in Midden- en Zuid-Amerika heeft de urgentie duidelijk gemaakt van een Zika virus vaccin. De eerste introductie in 2015 van dit virus in de immunologisch naïeve populatie van Zuid-Amerika heeft geleid tot de recente grote epidemie onder de bevolking van Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben van dit door muggen overgedragen virus. Eind 2015 waren in Brazilië alleen al naar schatting 1.5 miljoen mensen besmet geraakt met het Zika virus, en in de verschillende Braziliaanse deelstaten waren meer dan 4000 verdachte gevallen van microcefalie gemeld. In Colombia wordt verwacht dat gedurende deze epidemie meer dan 600.000 infecties zullen plaatsvinden met als mogelijk gevolg 500 gevallen van microcefalie en 500 patiënten met GBS. Aangezien tot op heden in 33 landen Zika virus infecties zijn gemeld zal het totaal aantal infecties in de miljoenen gaan lopen. Dit heeft als gevolg dat, naast de humanitair-sociale impact van deze epidemie, er een onaanvaardbaar grote aanslag op de gezondheidszorg budgetten in deze economisch vaak zwakkere landen zal worden gepleegd. Ook zal de Zika virus epidemie naar verwachting grote invloed hebben op toerisme en economie van deze landen.

De verwachting is dat de epidemie zich over nog meer landen zal verspreiden omdat het leefgebied van de muggensoorten die dit virus kunnen overdragen steeds verder toeneemt onder invloed van de opwarming van de aarde en de introductie in nieuwe gebieden via internationale handel en het internationale vliegverkeer.

Dit alles heeft de WHO er toe gebracht de Zika virus epidemie als een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid te verklaren, en de ontwikkeling van een vaccin als een prioriteit te zien (<http://www.who.int/emergencies/zika-virus/response/en/>).

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project bestaat uit twee fasen:

1. Het opzetten van een Zika virus infectiemodel in resusapen
2. De preklinische vaccin evaluatie waarin verschillende vaccins of vaccinstrategieën worden getest voor hun effectiviteit tegen Zika virus infectie in het resusaap diermodel

Bij het opzetten van het infectiemodel zullen diverse aspecten van de Zika virus infectie bestudeerd worden, zoals het infectie en ziekte beloop, de verspreiding van het virus over de organen, en de pathologie van het Zika virus in resusapen. Ook zal het model geoptimaliseerd worden voor toepassing in de tweede fase. Hiervoor zal worden gekeken naar de infectie dosis, de infectie route, en zal worden onderzocht welk Zika virus isolaat het meest geschikt is voor de studies.

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

In de eerste fase van het project zullen resusapen worden geïnfecteerd met het Zika virus. In deze fase zal het infectiebeloop worden onderzocht en zullen de apen met verschillende doses virus worden geïnfecteerd. Na infectie zal bij de dieren bloed worden afgenomen voor bepaling van de mate van infectie en voor verschillende andere bepalingen. De verwachting is dat de viremie niet langer zal duren dan 21 dagen. In deze studie willen wij de dieren volgen totdat zij minimaal één week virus-vrij (in het bloed) zijn. Aan het einde van de studie zullen de dieren worden geëuthanaseerd voor de analyse van virus-geïnduceerde schade aan de verschillende weefsels en organen. Ook zal in deze materialen worden gekeken naar de aan/afwezigheid van virus.

Het is mogelijk dat vervolgstudies nodig zullen zijn voor verdere optimalisatie van het infectiemodel (beschreven in Bijlage 1) om een zo goed mogelijk model te verkrijgen voor het testen van het vaccin in fase 2.

In fase 2 zullen verschillende experimentele vaccins tegen het Zika virus worden geëvalueerd in het resusaap proefdier model voor Zika virus infectie (beschreven in Bijlage 2). Deze vaccins zijn, vóórdat zij worden getest in dit apen diermodel, uitvoerig getest in knaagdieren. Tijdens de immunisatieperiode

worden de dieren nauwkeurig gevolgd en onderzocht op mogelijke nadelige gezondheidseffecten van de immunisaties. Ook worden regelmatig bloedmonsters afgenomen om de vaccin-geïnduceerde immuunresponsen te meten. De aanwezigheid van duidelijke anti-Zika virus immuunresponsen na de laatste immunisatie/vaccinatie is een voorwaarde om door te gaan met de experimentele infectie van de gevaccineerde dieren. Een groep van niet-gevaccineerde dieren zal tegelijkertijd worden geïnfecteerd als controle voor infectie. Daarna worden de dieren intensief geobserveerd en zullen regelmatig bloedmonsters worden afgenomen om de af- of aanwezigheid van het virus vast te stellen

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.

In de eerste fase wordt gekeken naar de gevoeligheid van resusapen voor Zika virus infectie, het verloop van de virus infectie, pathogenese en mogelijke ziekteverschijnselen in deze diersoort. Op basis van de resultaten uit de infectie studie zal de resusaap verder worden ontwikkeld als diermodel voor humane Zika virus infectie. Gekeken wordt o.m. naar:

1. de overeenkomsten met humane Zika virus infectie,
2. de reproduceerbaarheid van de infectie. Raken alle dieren in dezelfde mate geïnfecteerd, en vertonen zij een vergelijkbaar ziekte of infectie verloop?
3. de meetbaarheid van de infectie. Hogere virus titers vergemakkelijken de detecteerbaarheid van de effecten van vaccinatie.

Het is mogelijk dat vóórdat het infectiemodel kan worden gebruikt in bijv. een vaccinatie studie, aanpassing van bepaalde onderdelen van de infectie nodig is. Te denken valt aan het gebruikte virus isolaat, de gebruikte infectiedosis, of de route van de infectie. Naar verwachting zal hierna het Zika virus infectiemodel in de resusaap geschikt zijn voor de nadere bestudering van het virus, voor pathogenese studies, en voor preklinische vaccin evaluatie.

In principe zal een virus gekozen worden dat zo dicht mogelijk verwant is aan het virus dat zich momenteel verspreidt in Zuid Amerika. Echter, de uiteindelijke keuze zal ook beïnvloed kunnen worden door het specifiek ontwikkelde vaccin. *Virussen muteren in het algemeen vrij snel tijdens hun verspreiding in de menselijke populatie en het is mogelijk dat virusvarianten ontstaan waartegen de nu in ontwikkeling zijnde vaccins geen bescherming bieden. Dan zal het vaccin moeten worden aangepast om ook bescherming te bieden tegen andere Zika virus varianten. Om de breedte van de bescherming door een vaccin te testen kan het mogelijk zijn dat gekozen wordt voor een virus variant die afwijkt van de circulerende 'Amerikaanse' virussen.*

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Zika virus infectie in resusapen
2	Zika virus vaccin evaluatie in resusapen
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

10.2.e)

Van: Info-zbo
Verzonden: maandag 27 juni 2016 14:22
Aan: 10.2.e
CC: 10.2.e
Onderwerp: Aanvullende informatie aanvraag AVD502002016496

Geachte 10.2.e

De CCD heeft uw aanvraag besproken. Om een besluit te kunnen nemen over uw aanvraag hebben zij nog informatie nodig betreffende onderstaande vragen:

- 1) Wat zijn de (kwaliteits)criteria waarop u besluit dat een vaccin in het aap-challenge model getest zal worden?
- 2) Het is de CCD niet duidelijk hoe waarschijnlijk het is dat dit model echt gebruikt zal worden voor het testen van vaccins. Kunt u meer informatie geven over de context waarin dit onderzoek plaatsvindt en hierbij ook de contacten die u heeft in dit kader benoemen?

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

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

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Centrale Commissie Dierproeven www.centralecommissiedierproeven.nl

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

T: 0900 2800028

E: info@zbo-ccd.nl (Let op: nieuw e-mail adres)



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre
t.a.v. 10.2.e
Postbus 3306
2288 GJ Rijswijk

Centrale Commissie
Dierproeven

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD50200216496

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 3 juni 2016
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 28 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van Zika virus vaccins" met aanvraagnummer AVD50200216496. Op 19 mei 2016 hebben wij u om aanvullende informatie gevraagd. Deze informatie hebben wij nog niet ontvangen.

Welke informatie nog nodig

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

- 1) In de wet wordt gesteld dat: niet humane primaten "worden niet in dierproeven gebruikt, tenzij door middel van een wetenschappelijke motivering wordt aangetoond dat het doel van de dierproef niet kan worden bereikt door gebruikmaking van dieren behorende tot een andere soort dan een niet-menselijke primatensoort...". Wij vinden de onderbouwing voor het gebruik van niet humane primaten in deze aanvraag onvoldoende. Wij verzoeken u een betere onderbouwing te geven voor de noodzaak om voor deze doelstelling resusapen te gebruiken.
- 2) Het opzetten van het model, zoals beschreven in bijlage 1, zou als fundamenteel onderzoek gezien kunnen worden. Wat is hier uw mening over?
- 3) In uw projectvoorstel onder vraag 3.4.3 beschrijft u dat de keuze van het virus afhankelijk kan zijn van het ontwikkelde vaccin, wat zou kunnen afwijken van het virus dat zich momenteel verspreidt in Zuid Amerika. Kunt u onderbouwen wat de criteria zijn waarop de keuze van het te testen vaccin wordt gebaseerd?
- 4) Kunt u een go/no go moment beschrijven tussen deel 1 en deel 2? En wat zijn de criteria hiervan?
- 5) In bijlage 1 beschrijft u dat u bij de dieren via een kleine chirurgische ingreep een temperatuurtransponder zult plaatsen. Deze chirurgische ingreep vindt plaats voorafgaand aan de acclimatisatieperiode, terwijl in het algemeen gesteld wordt dat dieren pas na acclimatisatie handelingen zouden mogen ondergaan. Kunt u

verhelderen waarom de chirurgische ingreep plaatsvindt voorafgaande aan de acclimatisatieperiode, hierbij het dierenwelzijn in overweging nemend?

Datum

3 juni 2016

Onze referentie

Aanvraagnummer
AVD502002016496

6) In bijlage 1 beschrijft u dat de dieren via een sonde gevoed zullen worden. Kunt u beschrijven hoe dit toedienen van sondevoeding het welzijn van de dieren beïnvloedt?

7) In bijlage 1 beschrijft u de opzet van het diermodel. Het is ons echter niet helder welke stappen u in deze modelontwikkeling zult zetten. Graag deze verhelderen.

8) In bijlage 1 en 2 beschrijft u onder vraag K alleen de ongeriefsclassificatie wanneer geen ziekteverschijnselen optreden. Hoe schat u de ongeriefsclassificatie in wanneer wel ziekteverschijnselen optreden en hoe groot schat u deze kans?

9) U beschrijft in bijlage 2 onder vraag B: "Als alternatief kan ook worden gekozen om elk vaccin apart te testen met ieder een controle groep". Waarop baseert u de keuze om de vaccins apart te testen in plaats van gelijktijdig?

10) In bijlage 2 beschrijft u een algemene opzet die uitgaat van 3 immunisaties. Is dit het maximum aantal immunisaties dat u zult uitvoeren, of zou dit nog kunnen wijzigen? Kunt u het maximale aantal immunisaties noemen?

Opsturen binnen zeven dagen

Wij willen u de mogelijkheid bieden alsnog aan ons verzoek te voldoen. Dit kan door binnen zeven dagen na de datum van deze brief de gegevens te sturen. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Indien u meer tijd nodig heeft voor het aanleveren van deze informatie vragen wij u ons hiervan op de hoogte te stellen. Wanneer wij de aanvullende informatie niet binnen de gestelde termijn hebben ontvangen, kunnen wij uw aanvraag buiten behandeling stellen.

Wanneer een beslissing

De behandeling van uw aanvraag is opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. 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.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- Melding bijlagen



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.centralecommissiedierproeven.nl
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- | | | | |
|----------------|--|------------|--|
| Naam aanvrager | | | |
| Postcode | | Huisnummer | |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?
Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.
- | | | | |
|----------------|--|--|--|
| Aanvraagnummer | | | |
|----------------|--|--|--|

2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.
- | | | | |
|--------------------------|--|--|--|
| <input type="checkbox"/> | | | |
| <input type="checkbox"/> | | | |
| <input type="checkbox"/> | | | |

3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- | | | | |
|--------------|---|---|----|
| Naam | | | |
| Datum | - | - | 20 |
| Handtekening | | | |
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Rijswijk, 5 juli 2016

Betreft: aanvullende informatie projectnummer AVD502002016496

Geachte leden van de Centrale Commissie Dierproeven,

Naar aanleiding van uw brief dd. 26 juni 2016 betreffende aanvullende informatie op onze aanvraag voor een projectvergunning dierproeven 'Evaluatie van Zika virus vaccins' (aanvraagnummer AVD502002016496) stuur ik u hierbij onze reactie. In deze brief vindt u een puntsgewijze reactie op de door u gestelde vragen en/of opmerkingen. Tevens is de reactie op het eerste punt ingevoegd in het projectvoorstel van de aanvraag onder punt 3.4.2 (bijgaand; 1 bijlage).

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

Met vriendelijke groet,

10.2.e

10.2.g

P.O. Box 3306, 2280 GH Rijswijk, The Netherlands
+31 10.2.e

Wat zijn de (kwaliteits)criteria waarop u besluit dat een vaccin in het aap-challenge model getest zal worden?

Voordat nieuwe vaccinkandidaten zullen worden getest in het aap-challenge model hanteren wij de volgende criteria:

1. het vaccin, of de vaccincomponenten mogen niet toxisch zijn.
Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) en in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De gebruikte vaccinstrategie moet nieuw zijn.
De te testen strategie is nog niet eerder getest in andere niet-humane primaten studies. Dit kan betrekking hebben op de keuze van het antigeen, de formulering met adjuvant 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 primaten diermodellen 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.

Het is de CCD niet duidelijk hoe waarschijnlijk het is dat dit model echt gebruikt zal worden voor het testen van vaccins. Kunt u meer informatie geven over de context waarin dit onderzoek plaatsvindt en hierbij ook de contacten die u heeft in dit kader benoemen?

De doelstelling van ons instituut is onderzoek te verrichten welke een bijdrage levert aan de ontwikkeling van nieuwe medicijnen en vaccins tegen ziekten bij de mens. Dit onderzoek wordt in ons instituut uitgevoerd met behulp van niet-humane primaten, echter alleen als hiervoor geen alternatieven beschikbaar zijn.

Eén van deze ziekten bij de mens wordt veroorzaakt door het Zika virus. Sinds de uitbraak in 2015 in Zuid-Amerika heeft dit virus geleid tot een humanitaire en socio-economische crisis vanwege de ongekende omvang, gepaard gaande met vele ernstige ziekgevallen. In reactie hierop heeft de WHO op 1 februari 2016 de Zika virus epidemie officieel een internationale bedreiging van de volksgezondheid verklaard. Daarbij werd vermeld dat een internationaal antwoord moet worden gegeven op deze crisis, onder meer door een versnelde ontwikkeling van vaccins.

Sindsdien zijn wij door verschillende onderzoeksgroepen en instituten uit Europa benaderd voor de mogelijkheid om in samen te werken op het gebied van Zika virus vaccinontwikkeling. Uit deze contacten zijn meerdere subsidieaanvragen voortgekomen, onder meer via het Horizon2020 programma van de EU en via het onderzoeksprogramma van de Noorse overheid. In deze verschillende consortia zal nauw worden samengewerkt tussen dit instituut, Europese en Amerikaanse universiteiten, private onderzoeksinstellingen en farmaceutische industrie. In afwachting van deze aanvragen hebben wij besloten, mede gezien onze bovengenoemde doelstelling en de reactie van de WHO, het Zika virus infectie model te ontwikkelen om deze ter beschikking te stellen voor het vaccinonderzoek.



Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

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

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hogere onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

In 2015 werd het Zika virus voor het eerst aangetroffen in Zuid-Amerika en daarna heeft het virus zich razendsnel verspreid over Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben [1]. Het Zika virus is een lid van de Flavivirus familie, en is verwant aan de veroorzaker van knokkelkoorts (dengue virus), maar ook aan het gele koorts virus, het Japanse encefalitis virus en het West Nijl virus. Het Zika virus is voor het eerst geïsoleerd in 1947 in het Zika oerwoud in Oeganda uit een resusaap die werd gebruikt bij gele koorts onderzoek [2].

Vóór 2015 werd het Zika virus gezien als de veroorzaker van een vrij milde, griepachtige ziekte. Sindsdien stapelen de, tot nu toe voornamelijk epidemiologische, bewijzen zich op dat Zika virus infectie ook kan leiden tot een ernstige, acute ontsteking van het zenuwstelsel (het Guillain-Barré syndroom; GBS). Daarnaast is bij baby's die geboren zijn bij vrouwen die tijdens hun zwangerschap geïnfecteerd zijn geweest met het Zika virus een toename geconstateerd van microcefalie, een ernstige afwijking van het centrale zenuwstelsel waarbij de hersenen zich niet volledig ontwikkelen met als gevolg een kans op een ernstige verstandelijke handicap. Vaak is er ook sprake van een vertraagde motorische ontwikkeling en aangeboren afwijkingen in andere orgaansystemen [3-7].

Het Zika virus als humaan pathogeen is pas echt bekend sinds 2007 toen een epidemie uitbrak op het eiland Yap in Micronesië welke gepaard ging met koorts, huiduitslag, gewrichtspijnen en conjunctivitis [8]. Onderzoek wees uit dat deze epidemie werd veroorzaakt door de genetische variant van het Zika virus. Dit zgn. Aziatische genotype is ook verantwoordelijk geweest voor uitbraken in Cambodja in 2010, en een vrij grote uitbraak in Frans Polynesië in 2013-2014 waarbij 28.000 mensen ziekteverschijnselen vertoonden [9]. Het Afrikaanse genotype van het Zika virus was de oorzaak van ziektegevallen in 2007 en 2010 in Gabon [10]. Serologisch onderzoek heeft uitgewezen dat humane Zika virus infecties wijdverspreid zijn in Afrika en Zuidoost Azië en op de eilanden in de Stille Zuidzee [11-13]. In 2015 werd voor het eerst melding gemaakt van Zika virus infecties in Brazilië veroorzaakt door het Aziatische genotype. Daarna heeft het virus zich razendsnel verspreid over minstens 33 landen in Zuid-Amerika, Midden-Amerika, en de Caraïben [1]. Het Braziliaanse ministerie van gezondheid heeft geschat dat tot 15 december 2015 tussen de 440 duizend en 1.5 miljoen infecties door het Zika virus zijn voorgevallen in Brazilië. Vanwege de ernst van de epidemie heeft de Wereld Gezondheid Organisatie (WHO) deze epidemie een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid verklaard.

De incubatie periode van het Zika virus is onbekend, maar varieert hoogstwaarschijnlijk tussen 2 tot 7 dagen. De symptomen veroorzaakt door Zika virus infectie zijn over het algemeen vrij mild en worden gekenmerkt door acute koorts, huiduitslag, gewrichtspijn, en conjunctivitis. Deze symptomen duren meestal enkele dagen tot 1 week. Gedurende de recente uitbraak in Brazilië werd echter Zika virus RNA aangetroffen in weefselmonsters van kinderen met microcefalie en in geaborteerde foetussen bij vrouwen die tijdens de zwangerschap besmet waren met het Zika virus [6, 7]. Op 1 februari 2016 heeft de WHO deze mogelijke correlatie bevestigd op basis van een toename in het aantal gevallen van microcefalie tijdens de Zika virus uitbraak in Frans Polynesië in 2014 en tijdens de recente uitbraak in Brazilië (WHO). Het met Zika virus infectie in verband gebrachte GBS is een aandoening van het perifere zenuwstelsel veroorzaakt door een auto-immunreactie die op zijn beurt wordt geïnduceerd door bijv. een virale infectie. Symptomen zijn gevoelsstoornissen, toenemende spierzwakte, verminderde reflexen en verlamingsverschijnselen. Deze symptomen zijn meestal van tijdelijke aard maar genezing kan maanden tot jaren duren [4, 5].

De mug *Aedes aegypti*, de belangrijkste verspreider van dengue en gele koorts, is ook de belangrijkste verspreider van het Zika virus. Daarnaast is ook de tijgermug (*Aedes albopictus*), verspreider van onder meer het West Nijl virus en Chikungunya virus, in staat Zika virus te verspreiden. Beide muggensoorten komen wijdverbreid voor in tropische en subtropische gebieden van zowel Zuid- en Midden-Amerika, Afrika en Azië, maar het gebied waar deze muggen voorkomen breidt zich onder invloed van klimaatverandering, de groeiende wereldbevolking en toename in de wereldhandel verder uit naar Noord-Amerika, Europa en Australië [14]. Beide muggensoorten zijn overdag actief en dit maakt het moeilijker zich tegen deze muggen te beschermen. Behalve verspreiding via muggen is recentelijk ook aangetoond dat het virus seksueel kan worden overgedragen [15]. Andere infectieroutes behoren ook tot de mogelijkheden, aangezien het Zika virus ook is aangetroffen in speeksel, urine en moedermelk [16-18].

Vanwege zijn relatieve onbekendheid tot medio 2015, is erg weinig onderzoek verricht aan deze infectieziekte. Weinig is daarom nog bekend over de onderliggende oorzaken van microcefalie en het GBS in relatie tot Zika virus infectie. Studies in proefdieren zijn zeer beperkt uitgevoerd. Dick [19] heeft

de gevoeligheid van muizen voor Zika virus infectie beschreven en heeft aangetoond dat dit virus in muizen neurotroop is en niet kon worden gedetecteerd in andere weefsels. Infectie studies in katoenratten, cavia's en konijnen bleven zonder succes. Bell *et al.* beschreven de replicatie en pathologie in de zenuwcellen van jonge muizen na intracerebrale infectie [20]. Verdere onderzoeken zijn nog niet gepubliceerd, maar zeer recent is in Science melding gemaakt van het feit dat de muis geen goed diermodel is om Zika virus replicatie en de ziekteverwekkende eigenschappen te onderzoeken vanwege de afwijkende pathogenese van het virus in deze knaagdieren [21].

Het opzetten van een model voor Zika virus infectie is een onderdeel van een groter project met als primair doel de evaluatie van nieuw ontwikkelde Zika virus vaccins. Echter, 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 1A. 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 Zika virus vaccin-evaluatie studies, en valt dus in de categorie 'translationeel of toegepast onderzoek'.

Een dergelijke redenering wordt ook door de Europese Commissie gevolgd in nadere toelichtingen op de vereisten m.b.t. de statistische rapportage zoals de lidstaten die moeten uitvoeren (<http://www.bbsrc.ac.uk/documents/1601-discussion-paper-reporting-statistical-data-pdf/>).

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?

Het doel van dit project is om nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te evalueren. Daarvoor is het nodig om een infectiemodel in resusapen te ontwikkelen voor dit virus. Dit infectiemodel zal vervolgens worden gebruikt om de nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te testen in de allerlaatste, preklinische fase van het onderzoek, vóórdat zij bij mensen worden uitgetest.

Het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd heeft grote expertise opgebouwd op het gebied van het uitvoeren van vergelijkbare studies met dengue virus en West Nijl virus, beide nauw verwant aan het Zika virus 10.2.g

De infectiestudies met het Zika virus zullen worden opgezet naar analogie met die voor dengue en West Nijl virus. De exacte opzet van de Zika virus vaccin evaluatiestudies zal afhankelijk zijn van het type vaccin dat zal worden geselecteerd op basis van immunogeniciteitstesten in knaagdieren. Echter, in grote lijnen zal worden gekozen voor een opzet die eerder succesvol is gebleken bij de ontwikkeling van een West Nijl virus vaccin in het instituut 10.2.

Het instituut waar deze studies zullen worden uitgevoerd heeft beschikking over een grote fokkolonie van resusapen. Deze resusapen zijn genetisch goed gekarakteriseerd en vrij van verschillende virussen. Op het instituut is de infrastructuur en de expertise aanwezig om deze studies veilig, op DM-3 en ML-3 niveau, en binnen de gestelde termijn uit te voeren.

Referenties bij 3.1 en 3.2

1. Hennessey, M.; Fischer, M.; Staples, J. E., Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* **2016**, 65, (3), 55-58.
2. Dick, G.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J., Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1952**, 46, (5), 509-520.
3. Broutet, N.; Krauer, F.; Riesen, M.; Khalakdina, A.; Almiron, M.; Aldighieri, S.; Espinal, M.; Low, N.; Dye, C., Zika Virus as a Cause of Neurologic Disorders. *The New England journal of medicine* **2016**.
4. Gatherer, D.; Kohl, A., Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the

Americas. *Journal of General Virology* **2015**.

5. Oehler, E.; Watrin, L.; Larre, P.; Lepercq-Goffart, I.; Lastere, S.; Valour, F.; Baudouin, L.; Mallet, H.; Musso, D.; Ghawche, F., Zika Virus Infection Complicated by Guillain-Barré Syndrome-Case Report, French Polynesia, December 2013. *Eurosurveillance* **2014**, *19*, (9).
6. Schuler-Faccini, L.; Ribeiro, E. M.; Feitosa, I. M. L.; Horovitz, D. D. G.; Cavalcanti, D. P.; Pessoa, A.; Doriqui, M. J. R.; Neri, J. I.; Neto, J. M. d. P.; Wanderley, H. Y. C.; Cernach, M.; El-Husny, A. S.; Pone, M. V. S.; Serao, C. L. C.; Sanseverino, M. T. V.; Force, B. M. G. S. Z. E. T., Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morbidity and mortality weekly report* **2016**, *65*, (3), 59-62.
7. WHO, P., Increase of microcephaly in the northeast of Brazil. *Epidemiological Alert* Nov 17, 2015, pp 1-2.
8. Lanciotti, R. S.; Kosoy, O. L.; Laven, J. J.; Velez, J. O.; Lambert, A. J.; Johnson, A. J.; Stanfield, S. M.; Duffy, M. R., Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases* **2008**, *14*, (8), 1232-1239.
9. Musso, D.; Nilles, E. J.; Cao-Lormeau, V.-M., Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clinical microbiology and infection* **2014**, 0595-0596.
10. Grard, G.; Caron, M.; Mombou, I. M.; Nkoghe, D.; Mboul Ondo, S.; Jiolle, D.; Fontenille, D.; Paupy, C.; Leroy, E. M., Zika Virus in Gabon (Central Africa) - 2007: A New Threat from *Aedes albopictus*? *PLoS neglected tropical diseases* **2014**, *8*, (2), e2681.
11. Cao-Lormeau, V.-M.; Musso, D., Emerging arboviruses in the Pacific. *The Lancet* **2014**, *384*, (9954), 1571-1572.
12. Cao-Lormeau, V.-M.; Roche, C.; Teissier, A.; Robin, e.; Berry, A.-L.; Mallet, H.-P.; Sall, A. A.; Musso, D., Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerging Infectious Diseases* **2014**, *20*, (6), 1085-1086.
13. Hayes, E. B., Zika Virus Outside Africa. *Emerging Infectious Diseases* **2009**, *15*, (9), 1347-1350.
14. Kraemer, M. U. G.; Sinka, M. E.; Duda, K. A.; Mylne, A. Q. N.; Shearer, F. M.; Barker, C. M.; Moore, C. G.; Carvalho, R. G.; Coelho, G. E.; Van Bortel, W.; Hendrickx, G.; Schaffner, F.; Elyazar, I. R. F.; Teng, H.-J.; Brady, O. J.; Messina, J. P.; Pigott, D. M.; Scott, T. W.; Smith, D. L.; Wint, G. R. W.; Golding, N.; Hay, S. I., The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife* **2015**, *4*, e08347.
15. Mansuy, J. M.; Dutertre, M.; Mengelle, C.; Fourcade, C.; Marchou, B.; Delobel, P.; Izopet, J.; Martin-Blondel, G., Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *The Lancet Infectious Diseases* **2016**, 1-1.
16. Barzon, L.; Pacenti, M.; Berto, A.; Sinigaglia, A.; Franchin, E.; Lavezzo, E.; Brugnaro, P.; Palù, G. Isolation of infectious Zika virus from saliva and prolonged viral RNA shedding in a traveller returning from the Dominican Republic to Italy, January 2016. (10),
17. Dupont-Rouzeyrol, M.; Biron, A.; O'Connor, O.; Huguon, E.; Descloux, E., Infectious Zika viral particles in breastmilk. *The Lancet* **2016**, *387*, (10023), 1051.
18. Gourinat, A.-C.; O'Connor, O.; Calvez, E.; Goarant, C.; Dupont-Rouzeyrol, M., Detection of Zika Virus in Urine. *Emerging Infectious Diseases* **2015**, *21*, (1), 84-86.
19. Dick, G., Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **1952**, *46*, (5), 521-534.
20. Bell, T. M.; Field, E. J.; Narang, H. K., Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Archiv für die gesamte Virusforschung* **1971**, *35*, (2), 183-193.
21. Vogel, G., A race to explain Brazil's spike in birth defects. *Science (New York, NY)* Feb 08, 2016, pp 110-111.

10

.2.

9

3.3 Belang

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

De recente uitbraak van Zika virus infecties in Midden- en Zuid-Amerika heeft de urgentie duidelijk gemaakt van een Zika virus vaccin. De eerste introductie in 2015 van dit virus in de immunologisch naïeve populatie van Zuid-Amerika heeft geleid tot de recente grote epidemie onder de bevolking van Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben van dit door muggen overgedragen virus. Eind 2015 waren in Brazilië alleen al naar schatting 1.5 miljoen mensen besmet geraakt met het Zika virus, en in de verschillende Braziliaanse deelstaten waren meer dan 4000 verdachte gevallen van microcefalie gemeld. In Colombia wordt verwacht dat gedurende deze epidemie meer dan 600.000 infecties zullen plaatsvinden met als mogelijk gevolg 500 gevallen van microcefalie en 500 patiënten met GBS. Aangezien tot op heden in 33 landen Zika virus infecties zijn gemeld zal het totaal aantal infecties in de miljoenen gaan lopen. Dit heeft als gevolg dat, naast de humanitair-sociale impact van deze epidemie, er een onaanvaardbaar grote aanslag op de gezondheidszorg budgetten in deze economisch vaak zwakkere landen zal worden gepleegd. Ook zal de Zika virus epidemie naar verwachting grote invloed hebben op toerisme en economie van deze landen.

De verwachting is dat de epidemie zich over nog meer landen zal verspreiden omdat het leefgebied van de muggensoorten die dit virus kunnen overdragen steeds verder toeneemt onder invloed van de opwarming van de aarde en de introductie in nieuwe gebieden via internationale handel en het internationale vliegverkeer.

Dit alles heeft de WHO er toe gebracht de Zika virus epidemie als een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid te verklaren, en de ontwikkeling van een vaccin als een prioriteit te zien (<http://www.who.int/emergencies/zika-virus/response/en/>).

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project bestaat uit twee fasen:

1. Het opzetten van een Zika virus infectiemodel in resusapen
2. De preklinische vaccin evaluatie waarin verschillende vaccins of vaccinstrategieën worden getest voor hun effectiviteit tegen Zika virus infectie in het resusaap diermodel

Bij het opzetten van het infectiemodel zullen diverse aspecten van de Zika virus infectie bestudeerd worden, zoals het infectie en ziekte beloop, de verspreiding van het virus over de organen, en de pathologie van het Zika virus in resusapen. Ook zal het model geoptimaliseerd worden voor toepassing in de tweede fase. Hiervoor zal worden gekeken naar de infectie dosis, de infectie route, en zal worden onderzocht welk Zika virus isolaat het meest geschikt is voor de studies.

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

In de eerste fase van het project zullen resusapen worden geïnfecteerd met het Zika virus. In deze fase zal het infectiebeloop worden onderzocht en zullen de apen met verschillende doses virus worden geïnfecteerd. Na infectie zal bij de dieren bloed worden afgenomen voor bepaling van de mate van infectie en voor verschillende andere bepalingen. De verwachting is dat de viremie niet langer zal duren dan 21 dagen. In deze studie willen wij de dieren volgen totdat zij minimaal één week virus-vrij (in het bloed) zijn. Aan het einde van de studie zullen de dieren worden geëuthanaseerd voor de analyse van virus-geïnduceerde schade aan de verschillende weefsels en organen. Ook zal in deze materialen worden gekeken naar de aan/afwezigheid van virus.

Het is mogelijk dat vervolgstudies nodig zullen zijn voor verdere optimalisatie van het infectiemodel (beschreven in Bijlage 1) om een zo goed mogelijk model te verkrijgen voor het testen van het vaccin in fase 2.

In fase 2 zullen verschillende experimentele vaccins tegen het Zika virus worden geëvalueerd in het resusaap proefdier model voor Zika virus infectie (beschreven in Bijlage 2).

Deze vaccins moeten, vóórdat zij worden getest in dit apen diermodel, aan de volgende criteria voldoen:

1. het vaccin, of de vaccincomponenten mogen niet toxisch zijn.
Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moet zij eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) en in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De gebruikte vaccinstrategie moet nieuw zijn.
De te testen strategie is nog niet eerder getest in andere niet-humane primaten studies. Dit kan betrekking hebben op de keuze van het antigeen, de formulering met adjuvant 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 primaten diermodellen 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.

Tijdens de immunisatieperiode worden de dieren nauwkeurig gevolgd en onderzocht op mogelijke nadelige gezondheidseffecten van de immunisaties. Ook worden regelmatig bloedmonsters afgenomen om de vaccin-geïnduceerde immuunresponsen te meten. De aanwezigheid van duidelijke anti-Zika virus immuunresponsen na de laatste immunisatie/vaccinatie is een voorwaarde om door te gaan met de experimentele infectie van de gevaccineerde dieren. Een groep van niet-gevaccineerde dieren zal tegelijkertijd worden geïnfecteerd als controle voor infectie. Daarna worden de dieren intensief geobserveerd en zullen regelmatig bloedmonsters worden afgenomen om de af- of aanwezigheid van het virus vast te stellen

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.

In de eerste fase wordt gekeken naar de gevoeligheid van resusapen voor Zika virus infectie, het verloop van de virus infectie, pathogenese en mogelijke ziekteverschijnselen in deze diersoort. Op basis van de resultaten uit de infectie studie zal de resusaap verder worden ontwikkeld als diermodel voor humane Zika virus infectie. Gekeken wordt o.m. naar:

1. de overeenkomsten met humane Zika virus infectie,
2. de reproduceerbaarheid van de infectie. Raken alle dieren in dezelfde mate geïnfecteerd, en vertonen zij een vergelijkbaar ziekte of infectie verloop?
3. de meetbaarheid van de infectie. Hogere virus titers vergemakkelijken de detecteerbaarheid van de effecten van vaccinatie.

Het is mogelijk dat vóórdat het infectiemodel kan worden gebruikt in bijv. een vaccinatie studie, aanpassing van bepaalde onderdelen van de infectie nodig is. Te denken valt aan het gebruikte virus isolaat, de gebruikte infectiedosis, of de route van de infectie. Naar verwachting zal hierna het Zika virus infectiemodel in de resusaap geschikt zijn voor de nadere bestudering van het virus, voor pathogenese studies, en voor preklinische vaccin evaluatie.

In principe zal een virus gekozen worden dat zo dicht mogelijk verwant is aan het virus dat zich momenteel verspreidt in Zuid Amerika. Echter, de uiteindelijke keuze zal ook beïnvloed kunnen worden door het specifiek ontwikkelde vaccin. *Virussen muteren in het algemeen vrij snel tijdens hun verspreiding in de menselijke populatie en het is mogelijk dat virusvarianten ontstaan waartegen de nu in ontwikkeling zijnde vaccins geen bescherming bieden. Dan zal het vaccin moeten worden aangepast om ook bescherming te bieden tegen andere Zika virus varianten. Om de breedte van de bescherming door een vaccin te testen kan het mogelijk zijn dat gekozen wordt voor een virus variant die afwijkt van de circulerende 'Amerikaanse' virussen.*

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Zika virus infectie in resusapen
2	Zika virus vaccin evaluatie 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.
- 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 het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|----------------------------------|
| 1 | Zika virus infectie 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.

De ontwikkeling van een Zika virus infectiemodel in resusapen is essentieel voor de tweede fase in dit project, de vaccin-evaluatie. In het infectiemodel worden de normaalwaarden (waarden vóór experimentele infectie), en de veranderingen in deze waarden veroorzaakt door Zika virus infectie bepaald van een aantal virologische, klinische en histologische parameters, zoals o.m.:

1. hoeveelheid virus in bloed
2. hematologie en bloedchemie
3. lichaamstemperatuur en gewicht
4. cytokine productie
5. productie van antistoffen
6. celtypes in het bloed

Na euthanasie en sectie van de dieren volgt dan nog:

7. pathologie onderzoek
8. histologisch onderzoek
9. bepaling van hoeveelheid virus in verschillende organen

Het effect van vaccinatie op de Zika virus infectie zal uiteindelijk worden bepaald aan de hand van deze verschillende parameters.

Om een infectiemodel op te zetten wordt een goed gedefinieerde Zika virusstock gebruikt die is geproduceerd met behulp van een muskietencel lijn. In de eerste studie zal de hoeveelheid virus die nodig is voor een infectie worden bepaald. Het virus zal 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 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 Zika virus infectie als succesvol beschouwd wanneer na infectie 1) het virus kan worden gedetecteerd in het bloed, 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 iedere infectiestudie wordt op regelmatige tijdstippen bloedmonsters afgenomen voor de bepaling van de bovengenoemde parameters (nrs 1, 2, 4, 5 en 6). 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 Zika virus stam wordt gebruikt voor de vaccin evaluatie
2. welke hoeveelheid virus nodig is om resusapen te infecteren met Zika virus
3. de definitieve route van virus toediening die zal worden gebruikt in de vaccinstudies
4. hoe verschillende virologische, klinische en histologische parameters worden beïnvloed door Zika virus infectie, d.w.z. welke parameters zullen worden gebruikt voor de evaluatie van nieuw ontwikkelde Zika virus 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 Zika virus is identiek aan studies die eerder zijn uitgevoerd op het instituut met 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. Op dit tijdstip zal onder narcose via een kleine chirurgische ingreep een temperatuurmeter worden geplaatst in de buikholte. 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 Zika virus en wordt vóór infectie bloed afgenomen voor een tweede nulwaarde bepaling. 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 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. Nadat de dieren virus-negatief zijn geworden in de PCR zullen zij nog 7 dagen worden gevolgd. Als in deze periode geen virus meer wordt gedetecteerd in het bloed zullen zij geëuthanaseerd worden. Hierna zal necropsie worden uitgevoerd en worden weefselmonsters verzameld voor histopathologisch en virologisch onderzoek.

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

Vanwege het feit dat bijna niets bekend is over Zika virus infectie bij makaken is een statistische bepaling van het aantal dieren dat nodig is om een infectie model op te zetten niet mogelijk. Voor Zika virus willen wij in de eerste infectie studie 6 dieren gebruiken. Dit stelt ons in staat om de gewenste klinische, virologische en histologische parameters (zie boven) te onderzoeken. Met de gegevens uit de eerste studie kan het aantal dieren in vervolgstudies verder gedefinieerd en onderbouwd worden. Zeer recent zijn via internet de eerste voorlopige data beschikbaar gekomen van een Zika virus infectie studie in resusapen, uitgevoerd op de Universiteit van Madison-Wisconsin (<http://dx.doi.org/10.1101/046334>). Uit deze data blijkt dat de infectie dosis en het gebruikte virus isolaat invloed hebben op het infectie verloop. Omdat in deze studie per infectie-variabele slechts één dier is gebruikt, kunnen de data niet worden gebruikt voor een statistische analyse van het aantal apen dat nodig is in onze studie. Wel zullen de data worden gebruikt als uitgangspunt voor onze studie waarvan de details zullen worden gecommuniceerd met de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD).

Een vervolgstudie kan nodig zijn wanneer niet de beoogde hoeveelheid virus in het bloed wordt bereikt, of wanneer de gebruikte infectieroute niet heeft geleid tot infectie van alle dieren. Andere mogelijke methoden voor infectie zijn subcutane of intraveneuze toediening. Ook kan zo nodig in een vervolgstudie getest worden of andere Zika virus stammen beter geschikt zijn voor de vaccin evaluatie studies 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= 18 dieren

Gekozen is voor de resusaap. *Het gebruik van niet-humane primaten (NHP), zoals resusapen, ten behoeve van het Zika virus vaccin onderzoek is essentieel. Het evalueren van geheel nieuwe vaccins voor gebruik in mensen behoeft een proefdiermodel dat geïnfecteerd kan worden met het agens waartegen de mens dient te worden beschermd en dat tevens een immuunsysteem heeft dat sterk overeenkomt met dat van de mens. Momenteel worden twee diersoorten gebruikt in Zika virus onderzoek: muizen en resusapen [1-4].*

De evolutionaire afstand tussen de muis en de mens is 65 miljoen jaar [5]. 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 [5-9]. De verschillen in immuunsysteem zijn vaak nog groter bij inteelt of knock-out muizenstammen [10, 11] met als gevolg dat de rol van de muis in preklinisch onderzoek teleurstellend is gebleken [5, 7]. Ook zijn de infectiemodellen voor humane virussen, zoals opgezet in verschillende muizenstammen, vaak in hoge mate artificieel door het gebruik van hoge infectiedoses, sterk afwijkende infectieroutes, bijv. intracerebrale toediening, of door gebruik van immuundeficiënte muizenstammen, terwijl viremie en pathogenese afwijken van die in de mens [1, 2, 4, 12]. 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 immuun respons in de mens zal zijn. Daarom is testen in niet-humane primaten nodig voordat toepassing in de mens mogelijk is.

De bevindingen met de muizenmodellen staan in sterk contrast met die verkregen in NHP modellen. Makaken, zoals resusapen en cynomolgus apen, zijn evolutionair veel nauwer verwant aan de mens dan muizen. De evolutionaire afstand tussen mens en makaak wordt geschat op 5.1 miljoen jaar [13]. Het immuunsysteem van NHP vertoont grote gelijkenis met dat van de mens, en de door virale infectie of vaccinatie opgewekte immuunresponsen in makaken zijn in hoge mate vergelijkbaar met die van de mens.

Doordat het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend is van de mens hebben vaccin geïnduceerde immuunresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde voor de effectiviteit in de mens [14-17]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, 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 Zika virus vaccins. Translatie direct van muis naar mens zou onverantwoord zijn aangezien vaccin-geïnduceerde immuunresponsen ook een schadelijke werking kunnen hebben hetgeen ze dan ongeschikt maakt om klinisch te worden onderzocht. Het gaat hier immers om vaccinconcepten ter bescherming tegen een virusziekte waartegen nog geen vaccins bestaan. Voorts zijn er geen aanwijzingen dat een andere diersoort hiervoor goed zou kunnen modelleren en de complexiteit van het immuunsysteem met de vele regulatoire mechanismen kan niet in vitro gemodelleerd worden.

De resusapen zullen afkomstig zijn van het eigen fokprogramma. Van resusapen is bekend dat zij gevoelig zijn voor Zika virus infectie (het originele virus isolaat uit 1952 komt uit een resusaap, en recentelijk zijn de eerste experimentele infecties van resusapen op internet gepubliceerd). In de Zika virus uitbraken in mensen is niet gebleken dat bepaalde leeftijdsgroepen meer gevoelig zijn voor infectie dan anderen. Omwille van het feit dat het bij volwassen dieren eenvoudiger is om regelmatig bloed af te nemen is daarom gekozen voor volwassen dieren. Ook is in deze uitbraken niet gebleken dat er verschillen zijn tussen de sexen wat betreft gevoeligheid voor Zika virus infectie.

De aantallen dieren zijn de maximale aantallen. Statistisch onderbouwing van de aantallen is nog niet mogelijk omdat er op het instituut nog geen ervaring is opgedaan met Zika virus infectie in resusapen, en omdat in de op internet gepubliceerde studie (<http://dx.doi.org/10.1101/046334>) per variabele slechts één dier is gebruikt. Wij willen in deze studies groepen van 6 dieren gebruiken waarbij per variabele minimaal 2 dieren worden gebruikt. Wanneer tijdens de voorbereidingen van de studies nieuwe gegevens bekend worden betreffende Zika virus infecties, dan kan dit aantal worden aangepast

1. Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JLM, Guimarães KP, et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*. 2016: in press.
2. Dowall SD, Graham VA, Rayner E, Atkinson B, Hall G, Watson RJ, et al. A Susceptible Mouse Model for Zika Virus Infection. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10(5):e0004658.
3. Dudley DM, Aliota MT, Mohr EL, Weiler AM, Lehrer-Brey G, Weisgrau KL, et al. Natural history of Asian

- lineage Zika virus infection in macaques. *BioRxiv*. 2016.
4. Lazear HM, Govero J, Smith AM, Platt DJ, Fernandez E, Miner JJ, et al. A Mouse Model of Zika Virus Pathogenesis. *Cell Host & Microbe*. 2016; 19:1-11.
 5. Davis MM. A Prescription for Human Immunology. *Immunity*. 2008; 29(6):835-8.
 6. 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.
 7. Khanna R, Burrows SR. Human immunology: a case for the ascent of non-furry immunology. *Immunology and Cell Biology*. 2011; 89(3):330-31.
 8. Mestas J, Hughes CCW. Of Mice and Not Men: Differences between Mouse and Human Immunology. *The Journal of Immunology*. 2004; 172(5):2731-8.
 9. Nimmerjahn F, Gordan S, Lux A. FcγR dependent mechanisms of cytotoxic, agonistic, and neutralizing antibody activities. *Trends in Immunology*. 2015; 36(6):325-36.
 10. von Herrath MG, Nepom GT. Lost in translation: barriers to implementing clinical immunotherapeutics for autoimmunity. *Journal of Experimental Medicine*. 2005; 202(9):1159-62.
 11. 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.
 12. 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.
 13. Perelman P, Johnson W, Roos C, Seuánez H. A Molecular Phylogeny of Living Primates. *PLoS Genet*. 2011; 7(3):e1001342.
 14. Bolker, J. Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*. 2012; 491:31-33.
 15. 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.
 16. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*. 2014; 112: 59-79.
 17. Zompi, S., and Harris, E. Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses*. 2012; 4: 62-82.

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 plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e 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

Met de hedendaagse stand van de wetenschap kunnen vaccins voor humaan gebruik nog steeds alleen worden ontwikkeld met behulp van proefdieren. Recente studies in knaagdiermodellen voor het Zika virus zijn niet gepubliceerd, maar studies in muizen met verwante flavivirussen hebben aangetoond dat muizen weliswaar infectiebaar zijn met deze virussen, maar dat viremie, tropisme voor bepaalde celtypen, en ziekteverloop in knaagdieren vaak sterk afwijkend zijn van dat in de mens. Ook is het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend van de mens dat vaccin geïnduceerde immunoresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde hebben voor de effectiviteit in de mens [1-4]. In het geval van voor de

mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, zijn nonhumane primaten daarom vanwege hun immunologische en fysiologische overeenkomsten met de mens het meest geschikt als preklinisch proefdiermodel voor evaluatie van de effectiviteit en de veiligheid van Zika virus vaccins.

Vermindering

Een statistische onderbouwing van de aantallen is nog niet mogelijk omdat er nauwelijks ervaring is opgedaan met Zika virus infectie in apen. De keuze voor de aantallen dieren is gemaakt op basis van ervaring met verwante virussen in deze diersoorten. Omdat uit de literatuur bekend is dat resusapen gevoelig zijn voor Zika virus infectie willen wij deze apensoort gebruiken in onze studies.

Verfijning

Het gebruik van temperatuurmeters maakt het mogelijk om gedurende de virusinfectie iedere 15 minuten de lichaamstemperatuur te meten. Lichte verhogingen in lichaamstemperatuur, maar ook kortdurende koortspieken kunnen op deze manier worden geregistreerd, iets wat m.b.v. een rectale temperatuurmeting tijdens bloedafnames niet of niet goed mogelijk is. Na de chirurgische ingreep, nodig voor het plaatsen van een temperatuurmeter, zal pijnstilling worden toegediend.

Infectie en bloedafname vinden plaats onder verdoving en tegelijkertijd zullen de dieren dan worden gewogen en onderzocht. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of de virusinfectie.

1. Bolker, J. (2012). Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*, 491(7422), 31–33.
2. Louz, D., Bergmans, H. E., Loos, B. P., & Hoeben, R. C. (2013). Animal models in virus research: their utility and limitations. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(4), 325–361.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 112(C), 59–79.
4. Zompi, S., & Harris, E. (2012). Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses*, 4(12), 62–82.

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 om stress van solitaire huisvesting te voorkomen. Om de dieren zo veel mogelijk natuurlijk gedrag te laten uitvoeren heeft het instituut een uitgebreid programma voor kooiverrijking. Tijdens de studies hebben zij de beschikking over speelgoed en krijgen verrijking met voedsel.

Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door ervaren verzorgers. Tijdens de infectieperiode zal het aantal observaties verhoogd worden. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of is er verandering van ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld. Mocht een dier ernstig ziek worden tijdens de studie, dan wordt het dezelfde dag geëuthanaseerd en wordt necropsie uitgevoerd. Op ieder tijdstip van bloedafname zullen de dieren nader worden onderzocht. Gedurende de eerste 10 dagen na infectie worden de dieren dagelijks verdoofd voor bloedafname. *Dit veroorzaakt een verminderde eetlust, met als gevolg een aantasting van het algehele welzijn. Om deze welzijnsaantasting te minimaliseren zullen de dieren in deze periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde. 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 maar juist worden bevorderd omdat zij beter in conditie blijven.*

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.

NVT, dit is geen wettelijk vereist onderzoek.

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.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > 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 temperatuurmeter zal pijnbestrijding worden toegepast op voorschrift van de veterinaire met een daartoe geschikte pijnstiller

In het geval er symptomen optreden door de Zika virus infectie 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. Stress door veranderde huisvesting
2. ongerief door toediening per injectie
3. ongerief door inbrengen temperatuurmeter
4. verminderde eetlust door regelmatige verdovingen
5. ongerief door Zika virus infectie met klinische symptomen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De dieren moeten worden verhuisd naar een DM-III faciliteit
2. De toediening kan lichte irritatie geven
3. De dieren kunnen pijn ondervinden door de chirurgische ingreep die nodig is voor het inbrengen van de temperatuurmeter
4. De dieren worden regelmatig verdoofd voor infectie en bloedafnames. Dit kan invloed hebben op de eetlust.

5. Zika virus infectie kan ziekteverschijnselen veroorzaken. Ziekteverschijnselen bij de mens die mogelijk ook bij apen kunnen optreden zijn koorts, huiduitslag, gewrichtspijn en oogontsteking (conjunctivitis)

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

1. in de DM-III faciliteit worden de dieren per kooi sociaal gehuisvest en krijgen een acclimatisatie periode van minimaal 4 weken[#]
2. indien er irritatie optreedt, zal deze naar verwachting licht zijn. Het zal daarom niet nodig zijn extra maatregelen te nemen
3. Na chirurgie krijgen de dieren pijnstilling toegediend[#]
4. om de negatieve effecten te verlichten zullen de dieren in de periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen
5. 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.

[#] De dieren worden onder sedatie naar de experimentele ruimte verhuisd; tegelijkertijd wordt dan een temperatuurtransponder ingebracht. Op advies van de dierenartsen wordt de apen een herstelperiode gegund van 4 weken na het plaatsen van de transponder voordat mag worden gestart met de studie. Zou het plaatsen van de transponder plaatsvinden nadat de dieren volledig zijn geacclimatiseerd, dan zou dit betekenen dat deze dieren 3 weken langer experimenteel gehuisvest moeten worden (voor volledige acclimatisatie wordt een periode van minimaal 3 weken gerekend). Door deze aanpak wordt het ongerief voor de apen geminimaliseerd.

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.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Omdat Zika virus infectie in makaken niet eerder is beschreven, is het niet mogelijk duidelijke criteria te geven wanneer een humaan eindpunt moet worden gehanteerd. Door intensieve monitoring van de dieren na experimentele Zika virus infectie zullen afwijkingen in gedrag, eetlust etc. snel worden opgemerkt. Daarnaast worden de dieren bij elke bloedafname gewogen. Een grote gewichtsafname van > 20% t.o.v. het gewicht bij infectie wordt gezien als humaan eindpunt. Bij overschrijding hiervan wordt een dier geëuthanaseerd.

Een klinische scoringslijst zal worden ontwikkeld en gehanteerd. Aan de hand van de waargenomen verschijnselen in de eerste studie zal deze verder geoptimaliseerd worden.

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

Na infectie met Zika virus loopt ieder dier 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 Zika virus infectie optreden zal het totale ongerief 'matig' zijn.

Omdat de Zika virus epidemie van vrij recente datum is en daarom nog maar weinig dieronderzoek is gedaan met het virus, is moeilijk een schatting te geven van de kans op ziekteverschijnselen bij de apen na Zika virus infectie. Uitgaande van onze eigen ervaringen met verwante flavivirussen, zoals het dengue virus en het West Nijl virus, en op basis van gepubliceerde onderzoeken (Sariol CA et al. Front. Immunol 2014 5: 115; Ratterree MS et al. J. Infect. Dis. 2004 189: 669-676), 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 monsternames. 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 Zika 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.
- 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 het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|--|
| 2 | Zika virus vaccin evaluatie 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 Zika virus vaccinatie studie in apen zullen wij uitgaan van de opzet zoals die is gebruikt in de succesvolle West Nijl virus vaccinatie studie. Daarnaast kan het aantal immunisaties variëren afhankelijk van het type vaccin. Na analogie van de West Nijl virus studie opzet worden verschillende groepen van apen één of meerdere malen geïmmuniseerd met een experimenteel vaccin. Na iedere immunisatie wordt regelmatig bloed afgenomen en getest op de vorming van een immuunrespons tegen het Zika virus, zoals anti-Zika virus antilichaam responsen en γ -interferon productie. Na de laatste immunisatie vindt er een evaluatie plaats van de opgewekte anti-Zika virus immuunresponsen. Alleen wanneer deze sterk genoeg zijn zal worden overgegaan tot een experimentele infectie. Deze zal plaatsvinden zoals is beschreven in de Bijlage 1 'Zika virus infectie van resusapen'. Het succes van de geteste vaccins zal worden bepaald aan de hand van de aan- of afwezigheid van het virus in het bloed en in de organen welke worden verzameld op het tijdstip van euthanasie.

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 3 weken na elkaar. Op ieder tijdstip van immunisatie, en twee weken daarna, wordt bloed afgenomen voor de evaluatie van vaccin-geïnduceerde immuunresponsen. Na de laatste immunisatie vindt een extra bloedafname plaats op 5 weken post-immunisatie. De uitkomst van de metingen op dit tijdstip is essentieel voor de go/no-go beslissing om door te gaan met experimentele infectie. Tot infectie zal worden over gegaan wanneer er duidelijke anti-Zika virus antilichaam responsen meetbaar zijn in een test die gericht is op het meten van alle antilichamen gericht tegen het virus, en in een virus neutralisatie test. Deze criteria zullen worden afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn. Op ongeveer 2 maanden na de laatste vaccinatie worden de dieren geïnfecteerd met het Zika virus. Dit tijdstip is gekozen om het immuunsysteem de tijd te geven

immunologisch geheugen verder op te bouwen na de laatste immunisatie. Tegelijkertijd met de infectie zal een groep niet-gevaccineerde dieren worden toegevoegd aan de studie als infectie controles. Na infectie worden de dieren gedurende minimaal 3 weken gevolgd. De exacte lengte van deze follow-up hangt af van de uitkomsten van de Zika virus infectie studies. 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.

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

Alleen het minimum aantal dieren dat nodig is voor een gefundeerde statistische analyse van de resultaten zal worden gebruikt. Voor de statistische analyses zal gebruik worden gemaakt van data uit de infectie studies. Indien mogelijk kunnen dieren uit de infectie studie dienen als 'historische' controle en kan het aantal dieren in deze groep beperkt worden tot het minimum.

B. De dieren

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

Resusapen (*Macaca mulatta*), volwassen, M/V, eigen fok

De rationale voor het gebruik van resusapen is vermeld in Bijlage 1. Het maximale aantal apen $n = 40$ dieren. In principe wordt uitgegaan van een studie met twee vaccin groepen en 1 controle groep (totaal max. 30 apen). *Het is echter mogelijk dat een vaccin, na de eerste evaluatie, verbetering behoeft, en dat een verbeterde versie van dit vaccin pas later getest wordt. In dit geval behoeft elk vaccin een aparte controle groep, d.w.z. totaal max. $2 \times 20 = 40$ dieren.* De aangegeven aantallen dieren zijn de maximale aantallen die in deze studie zullen worden gebruikt.

De exacte studie opzet zal met de Instantie voor Dierenwelzijn worden afgestemd.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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, niet-gerelateerde studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven.

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

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

Met de hedendaagse stand van de wetenschap kunnen vaccins voor humaan gebruik nog steeds alleen worden ontwikkeld met behulp van proefdieren. Recente studies in knaagdiermodellen voor Zika virus zijn niet gepubliceerd, maar studies in muizen met verwante flavivirussen hebben aangetoond dat muizen weliswaar infectiebaar zijn met deze virussen, maar dat viremie, tropisme voor bepaalde celtypen, en ziekteverloop in knaagdieren vaak sterk afwijkend zijn van dat in de mens. Ook is het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend van de mens dat vaccin geïnduceerde immunoresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde hebben voor de effectiviteit in de mens [1-4]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, zijn nonhumane primaten daarom vanwege hun immunologische en fysiologische overeenkomsten met de mens het meest geschikt als preklinisch proefdiermodel voor evaluatie van de effectiviteit en de veiligheid van Zika virus vaccins.

Vermindering

Statistische berekeningen voor het aantal dieren per vaccin groep zullen worden gebaseerd op de resultaten

van de infectie studies. Deze poweranalyses zullen het minimale aantal dieren geven die nodig zijn voor een statistisch verantwoorde proefopzet. Indien mogelijk kunnen dieren uit de infectie studie dienen als 'historische' controle en kan het aantal dieren in deze groep beperkt worden tot het minimum.

Verfijning

Het gebruik van temperatuurmeters maakt het mogelijk om gedurende de virusinfectie iedere 15 minuten de lichaamstemperatuur te meten. Lichte verhogingen in lichaamstemperatuur, maar ook kortdurende koortspieken kunnen op deze manier worden geregistreerd, iets wat m.b.v. een rectale temperatuurmetering tijdens bloedafnames niet of niet goed mogelijk is. Na de chirurgische ingreep, nodig voor het plaatsen van een temperatuurmeter, zal pijnstilling worden toegediend. Infectie en bloedafname vinden plaats onder verdoving en tegelijkertijd zullen de dieren dan worden gewogen en onderzocht. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of de virusinfectie.

Indien een dier gedragsafwijkingen, gewichtsverlies, of ziekteverschijnselen gaat vertonen zal in overleg met de dierenarts worden besloten of behandeling nodig is. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd om verder ongerief te voorkomen.

1. Bolker, J. (2012). Model organisms: There's more to life than rats and flies. *Nature*, 491(7422), 31-33.
2. Louz, D., Bergmans, H. E., Loos, B. P., & Hoeben, R. C. (2013). Animal models in virus research: their utility and limitations. *Critical Reviews in Microbiology*, 39(4), 325-361.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 112(C), 59-79.
4. Zompi, S., & Harris, E. (2012). Animal Models of Dengue Virus Infection. *Viruses*, 4(12), 62-82.

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 om stress van solitaire huisvesting te voorkomen. Om de dieren zo veel mogelijk natuurlijk gedrag te laten uitvoeren heeft het instituut een uitgebreid programma voor kooiverrijking. Tijdens de studies hebben zij de beschikking over speelmateriaal en krijgen verrijking met voedsel.

Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door ervaren verzorgers. Tijdens de infectieperiode zal het aantal observaties verhoogd worden. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of is er verandering van ontlasting, dan wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld. Mocht een dier ernstig ziek worden tijdens de studie, dan wordt het dezelfde dag geëuthanaseerd en wordt necropsie uitgevoerd. Op ieder tijdstip van bloedafname zullen de dieren nader worden onderzocht. Gedurende de eerst 10 dagen na infectie worden de dieren dagelijks verdoofd voor bloedafname. *Dit veroorzaakt een verminderde eetlust, met als gevolg een aantasting van het algehele welzijn. Om deze welzijnsaantasting te minimaliseren zullen de dieren in deze periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen via een sonde. 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 maar juist worden bevorderd omdat zij beter in conditie blijven.*

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.

NVT, dit is geen wettelijk vereist onderzoek.

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.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > 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 temperatuurmeter zal pijnbestrijding worden toegepast op voorschrift van de veterinaire met een daartoe geschikte pijnstiller

In het geval er symptomen optreden door de Zika virus infectie 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. Stress door veranderde huisvesting
2. ongerief door toediening per injectie
3. ongerief door inbrengen temperatuurmeter
4. verminderde eetlust door regelmatige verdovingen
5. ongerief door Zika virus infectie met klinische symptomen

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De dieren moeten worden verhuist naar een DM-III faciliteit
2. De toediening kan lichte irritatie geven
3. De dieren kunnen pijn ondervinden door de chirurgische ingreep die nodig is voor het inbrengen van de temperatuurmeter
4. De dieren worden regelmatig verdoofd voor infectie en bloedafnames. Dit kan invloed hebben op de eetlust.
5. Zika virus infectie kan ziekteverschijnselen veroorzaken. Ziekteverschijnselen bij de mens die mogelijk ook bij apen kunnen optreden zijn koorts, huiduitslag, gewrichtspijn en oogontsteking (conjunctivitis)

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

1. in de DM-III faciliteit worden de dieren per kooi sociaal gehuisvest met een partner en krijgen een acclimatisatie periode van minimaal 4 weken

2. indien er irritatie optreedt, zal deze naar verwachting licht zijn. Het zal daarom niet nodig zijn extra maatregelen te nemen
3. Na chirurgie krijgen de dieren pijnstilling toegediend
4. om de negatieve effecten te verlichten zullen de dieren in de periode van dagelijkse verdovingen vloeibaar voedsel toegediend krijgen
5. 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.

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.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Omdat Zika virus infectie in makaken nog nauwelijks is beschreven, is het niet mogelijk duidelijke criteria te geven wanneer een humaan eindpunt moet worden gehanteerd. Echter, tijdens de experimentele infecties zoals beschreven in Bijlage 1, zal een klinische scoringslijst worden ontwikkeld. Deze zal gebruikt worden in de studies zoals hier beschreven. Door intensieve monitoring van de dieren na experimentele Zika virus infectie zullen afwijkingen in gedrag, eetlust etc. snel worden opgemerkt. Daarnaast worden de dieren bij elke bloedafname gewogen. Een grote gewichtsafname van > 20% t.o.v. het gewicht bij infectie wordt gezien als humaan eindpunt. Bij overschrijding hiervan wordt een dier geëuthanaseerd.

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

Na infectie met Zika virus loopt ieder dier 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 Zika virus infectie optreden zal het totale ongerief 'matig' zijn.

Omdat de Zika virus epidemie van vrij recente datum is en daarom nog maar weinig dieronderzoek is gedaan met het virus, is moeilijk een schatting te geven van de kans op ziekteverschijnselen bij de apen na Zika virus infectie. Uitgaande van onze eigen ervaringen met verwante flavivirussen, zoals het dengue virus en het West Nijl virus, en op basis van gepubliceerde onderzoeken (Sariol CA et al. Front. Immunol 2014 5: 115; Ratterree MS et al. J. Infect. Dis. 2004 189: 669-676), gaan wij er van uit dat de kans zeer klein is dat er ziekteverschijnselen optreden. Echter, in het 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

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 Zika 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.

Ja



Datum 13-06-2016
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven
AVD2016496

Advies aan CCD

Instelling: Biomedical Primate Research Centre
Onderzoeker: 10.2.e
Project: Evaluatie van Zika Virus vaccins
Aanvraagnummer: AVD2016496
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categoriën: Translationeel of toegepast onderzoek

Samenvatting

De doelstelling en het belang van de doelstelling zijn helder. Er is voldoende informatie beschikbaar over de 3V's en de strategie om tot een oordeel te komen.

In de beschrijving van de humane eindpunten wordt de kleine kans op het krijgen van verlamningsverschijnselen (zoals sporadisch optreedt bij de mens) niet benoemd. De aanvrager is zich echter wel bewust van de mogelijkheid dat dit kan optreden en heeft aangegeven dat "in geval van vergelijkbare ernstige ziekteverschijnselen bij de apen zal onverwijld, zeker binnen 24 uur euthanasie zal worden toegepast om onnodig lijden te beperken".

Het is mogelijk dat bij de modelontwikkeling (bijlage 1) blijkt dat toch significant meer dieren ernstige ziekteverschijnselen ontwikkelen dan nu wordt verwacht. Dit zou bijstelling van de humane eindpunten en frequentie van monitoring behoeven. Het cumulatieve ongerief blijft, vanwege toepassing van humane eindpunten waarschijnlijk wel op matig. Het Secretariaat stelt

voor hier wel een voorwaarde over op te nemen.

NHP mogen volgens de wet niet in dierproeven gebruikt worden, tenzij door middel van een wetenschappelijke motivering wordt aangetoond dat het doel van de dierproef niet kan worden bereikt door gebruikmaking van dieren behorende tot een andere soort dan een NHP-soort. De aanvrager is gevraagd te verhelderen waarom voor dit onderzoek de NHP noodzakelijk is. De aanvrager geeft aan dat voor onderzoek naar Zika virus momenteel alleen muizen en resusapen worden gebruikt. De resusaap wordt gebruikt omdat deze geïnfecteerd kan worden met het Zika virus en tevens een immuunsysteem heeft dat sterk overeenkomt met dat van de mens.

De DEC staat uitgebreid stil bij de onderbouwing om apen te gebruiken voor deze doelstelling en stelt dat het gebruik van NHP voor deze doelstelling essentieel is.

Het Secretariaat is echter van mening dat het lijkt alsof de aanvrager alleen de muis en de aap als potentieel proefdiermodel heeft bekeken, en de onderbouwing gaat voorbij aan de vraag of er naast muizen niet nog andere diersoorten gebruikt kunnen worden en in vergelijking met al die andere diersoorten de aap nog steeds het beste model is.

Het Secretariaat stelt voor om de aanvrager nogmaals de onderbouwing van de noodzaak om de aap te gebruiken te versterken, en daarbij ook stil te staan bij andere diersoorten dan alleen de muis en de aap.

De vaccins die in het NHP-model getest zullen worden zijn eerst uitvoerig getest in knaagdieren. Het is niet heel duidelijk op basis van welke criteria vaccins geselecteerd worden om te worden getest in de aap. Het Secretariaat stelt voor hier een voorwaarde over op te nemen, of de aanvrager nog te vragen deze criteria vast te stellen.

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

Proces	De aanvrager is een aantal vragen gesteld (vragen en antwoorden weergegeven in vergaderstuk AVD2016496g). De DEC heeft ook de mogelijkheid gehad hierop te antwoorden, maar heeft hier niet op gereageerd. De aanvrager heeft de antwoorden verwerkt in een nieuwe versie van het projectvoorstel. Er is extern advies ingewonnen bij - de aanvrager is om aanvullingen gevraagd			
Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
Zika virus infectie in resusapen	Rhesusapen (Macaca mulatta)	volwassen	18	Dieren die (in de instelling) gefokt zijn
Zika virus vaccin evaluatie in resusapen	Rhesusapen (Macaca mulatta)	volwassen	40	Dieren die (in de instelling) gefokt zijn

Antwoord van de aanvrager op de vraag waarom gebruik van NHP onvermijdelijk is voor dit project: "Het gebruik van niet-humane primaten

(NHP) ten behoeve van het Zika virus vaccin onderzoek is essentieel. Het evalueren van geheel nieuwe vaccins voor gebruik in mensen behoeft een proefdiermodel dat geïnfecteerd kan worden met het agens waartegen de mens dient te worden beschermd en dat tevens een immuunsysteem heeft dat sterk overeenkomt met dat van de mens. Momenteel worden twee diersoorten gebruikt in Zika virus onderzoek: muizen en resusapen [1-4]. De evolutionaire afstand tussen de muis en de mens is 65 miljoen jaar [5]. 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 [5-9]. De verschillen in immuunsysteem zijn vaak nog groter bij inteelt of knock-out muizenstammen [10, 11] met als gevolg dat de rol van de muis in preklinisch onderzoek teleurstellend is gebleken [5, 7]. Ook zijn de infectiemodellen voor humane virussen, zoals opgezet in verschillende muizenstammen, vaak in hoge mate artificieel door het gebruik van hoge infectiedoses, sterk afwijkende infectieroutes, bijv. intracerebrale toediening, of door gebruik van immuundeficiënte muizenstammen, terwijl viremie en pathogenese afwijken van die in de mens [1, 2, 4, 12]. 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 immuunrespons in de mens zal zijn. Daarom is testen in niet-humane primaten nodig voordat toepassing in de mens mogelijk is.

De bevindingen met de muizenmodellen staan in sterk contrast met die verkregen in NHP modellen. Makaken, zoals resusapen en cynomolgus apen, zijn evolutionair veel nauwer verwant aan de mens dan muizen. De evolutionaire afstand tussen mens en makaak wordt geschat op 5.1 miljoen jaar [13]. Het immuunsysteem van NHP vertoont grote gelijkenis met dat van de mens, en de door virale infectie of vaccinatie opgewekte immuunresponsen in makaken zijn in hoge mate vergelijkbaar met die van de mens.

Doordat het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend is van de mens hebben vaccin geïnduceerde immuunresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde voor de effectiviteit in de mens [14-17]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, 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 Zika virus vaccins. Translatie direct van muis naar mens zou onverantwoord zijn aangezien vaccin-geïnduceerde immuunresponsen ook een schadelijke werking kunnen hebben hetgeen ze dan ongeschikt maakt om klinisch te worden onderzocht. Het gaat hier immers om vaccinconcepten ter bescherming tegen een virusziekte waartegen nog geen vaccins bestaan. Voorts zijn er geen aanwijzingen dat een andere diersoort hiervoor goed zou kunnen modelleren en de complexiteit van het immuunsysteem met de vele

regulatorie mechanismen kan niet in vitro gemodelleerd worden."

Zika virus infectie in resusapen: Gebruikt beide geslachten. Zika virus vaccin evaluatie in resusapen: Gebruikt beide geslachten.

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

2 DEC advies

DEC-advies	<p>Citaten:</p> <p>Op instigatie van de WHO heeft de ontwikkeling van vaccins tegen Zika een zeer hoge prioriteit.</p> <p>De keuze voor de diersoort is gebaseerd op eerdere aanwijzingen voor gevoeligheid voor infectie met Zika virus en zeer grote fysiologische, met name cerebrale en immunologische overeenkomsten met de mens. De kandidaat vaccins zijn tevoren zo goed mogelijk gekarakteriseerd in in vitro en in vivo modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins is het echter noodzakelijk om onderzoek te verrichten naar vaccin veiligheid en effectiviteit in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccins voor humane toepassing worden bovendien getest bij niet-humane primaten omdat deze qua immunrespons grotere overeenkomst met de mens vertonen dan andere diersoorten. Het evalueren van kandidaat vaccins in niet-humane primaten is een essentiële stap naar verder onderzoek in de mens. In dit diermodel zullen eventuele nadelige effecten en zelfs tegengestelde effecten van de kandidaat vaccins proefondervindelijk worden vastgesteld.</p> <p>Met onderzoek in andere diersoorten kan de immunogeniciteit van kandidaat vaccins worden gescreend hetgeen van belang is bij het ontwikkelen van vaccin-formuleringen (combinaties van componenten). Muizen zijn gevoelig gebleken voor dit virus, maar het verloop van de infectie is sterk afwijkend van wat bij de mens plaats vindt. Er zijn ook geen andere knaagdiermodellen voorhanden. Daarom vormen knaagdieren geen geschikt model om de virus replicatie en ziekteverwekkende eigenschappen te bestuderen. Helaas blijft het noodzakelijk om de gekozen formulering te onderzoeken in niet-humane</p>
-------------------	---

primaten om zicht te krijgen op veiligheid en werkzaamheid wanneer toegepast bij de mens. Dit dient te gebeuren in voorbereiding op klinische studies om proefpersonen geen onnodige risico's te laten lopen.

Ethische afweging van de DEC:

Het belang van de doelstelling wordt door de DEC onderschreven in het licht van de recente toename van het verspreidingsgebied van Zika virus, de vele geïnfecteerde mensen, de soms ernstige gevolgen voor de gezondheid en de grote sociaal-economische impact. De concrete doelstellingen zijn in lijn met het beleid van de WHO, haalbaar en kunnen alleen met inzet van niet-humane primaten worden behaald. De resultaten van het onderzoek naar het opzetten van het infectie-model zullen via publicatie ter beschikking komen van alle belanghebbenden inclusief vaccin-ontwikkelaars. Als laatste pre-klinische fase in de ontwikkeling van een vaccin tegen Zika virus infectie is testen van veiligheid, immunogeniciteit en effectiviteit van kandidaat-vaccins tegen Zika virus infectie in niet humane primaten essentieel. Er is geen alternatief diermodel voorhanden voor bestuderen van de beschermende werking en veiligheid van vaccins tegen Zika virus infectie dat voldoende voorspellende is voor eerste toepassing bij de mens.

Binnen de instelling en bij de onderzoeker is veel ervaring beschikbaar met het uitvoeren van dit type onderzoek, met dity type virussen. Daardoor is het mogelijk de dierstudies met de grootst mogelijke zorgvuldigheid uit te voeren, waarbij de vereiste uitkomsten verkregen worden met een zo beperkt mogelijk aantal dieren en zo min mogelijk aantasting van hun welzijn.

De principes van vervanging, vermindering en verfijning van dierproeven zijn toegepast voor zover mogelijk. Bij de proefdieren en hun verzorging, behandeling en huisvesting wordt adequaat invulling gegeven aan de vereisten op het gebied van de specifieke eigenschappen en sociaal gedrag van deze diersoort en wordt in ruime mate aandacht besteed aan verrijking. Ziekteverschijnselen en mogelijk afwijkend gedrag ten gevolge van de infectie worden zorgvuldig gemonitord. Dit zijn behalve wetenschappelijke uitkomsten ook belangrijke parameters om het welzijn van dieren te waarborgen.

Voor het voorgestelde onderzoek is het gebruik van niet-humane primaten naar het oordeel van de commissie essentieel en ethisch aanvaardbaar.

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

De onderzoeker werd verzocht de aanvraag tekstueel te verbeteren en meer inzicht te verschaffen in de opeenvolgende experimenten voor het

	<p>opzetten van het Zika virus infectie model.</p> <p>Het DEC advies is Positief</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p> <p>Het Secretariaat volgt het DEC-advies, maar is nog niet overtuigd van de noodzaak NHP te gebruiken.</p>
--	---

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	Het DEC-advies is volledig.
	Er is geen gebruik gemaakt van het verschoningsrecht.
	De DEC is voldoende onafhankelijk volgens het Secretariaat.
Het DEC advies is volledig en goed onderbouwd. Deze DEC heeft voldoende expertise op dit gebied om over deze aanvraag een uitspraak te kunnen doen.	

4 Inhoudelijke beoordeling

Belangen-verstrengeling	Geen van de medewerkers van het Secretariaat heeft een arbeidsrelatie gehad met de aanvrager die minder dan 5 jaar geleden is beëindigd of heeft andere belangen die mogelijk zouden kunnen leiden tot oneigenlijke beïnvloeding.
Doelstelling Doelstelling	"Het doel van dit project is om nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te evalueren. Daarvoor is het nodig om een infectiemodel in resusapen te ontwikkelen voor dit virus. Dit infectiemodel zal vervolgens worden gebruikt om de nieuw ontwikkelde vaccins tegen het Zika virus te testen in de allerlaatste, preklinische fase van het onderzoek, vóóordat zij bij mensen worden uitgetest. "

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>"De recente uitbraak van Zika virus infecties in Midden- en Zuid-Amerika heeft de urgentie duidelijk gemaakt van een Zika virus vaccin. De eerste introductie in 2015 van dit virus in de immunologisch naïeve populatie van Zuid-Amerika heeft geleid tot de recente grote epidemie onder de bevolking van Midden- en Zuid-Amerika en de Caraïben van dit door muggen overgedragen virus. Eind 2015 waren in Brazilië alleen al naar schatting 1.5 miljoen mensen besmet geraakt met het Zika virus, en in de verschillende Braziliaanse deelstaten waren meer dan 4000 verdachte gevallen van microcefalie gemeld. In Colombia wordt verwacht dat gedurende deze epidemie meer dan 600.000 infecties zullen plaatsvinden met als mogelijk gevolg 500 gevallen van microcefalie en 500 patiënten met GBS. Aangezien tot op heden in 33 landen Zika virus infecties zijn gemeld zal het totaal aantal infecties in de miljoenen gaan lopen. Dit heeft als gevolg dat, naast de humanitair-sociale impact van deze epidemie, er een onaanvaardbaar grote aanslag op de gezondheidszorg budgetten in deze economisch vaak zwakkere landen zal worden gepleegd. Ook zal de Zika virus epidemie naar verwachting grote invloed hebben op toerisme en economie van deze landen.</p> <p>De verwachting is dat de epidemie zich over nog meer landen zal verspreiden omdat het leefgebied van de muggensoorten die dit virus kunnen overdragen steeds verder toeneemt onder invloed van de opwarming van de aarde en de introductie in nieuwe gebieden via internationale handel en het internationale vliegverkeer.</p> <p>Dit alles heeft de WHO er toe gebracht de Zika virus epidemie als een wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid te verklaren, en de ontwikkeling van een vaccin als een prioriteit te zien (http://www.who.int/emergencies/zika-virus/response/en/)."</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	De doelstelling is helder. Het belang van de doelstelling is goed onderbouwd.
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvragers en onderzoek	Deze aanvrager heeft veel ervaring met het doen van onderzoek in NHP, en met vaccinatiestudies tegen verwante virussen.

<p>3V's Vervangen</p>	<p>Citaat bijlage 1 en 2: "Met de hedendaagse stand van de wetenschap kunnen vaccins voor humaan gebruik nog steeds alleen worden ontwikkeld met behulp van proefdieren. Recente studies in knaagdiermodellen voor Zika virus zijn niet gepubliceerd, maar studies in muizen met verwante flavivirussen hebben aangetoond dat muizen weliswaar infecteerbaar zijn met deze virussen, maar dat viremie, tropisme voor bepaalde celtypen, en ziekteverloop in knaagdieren vaak sterk afwijkend zijn van dat in de mens. Ook is het immuunsysteem van de muis evolutionair dusdanig afwijkend van de mens dat vaccin geïnduceerde immuunresponsen slechts een beperkte voorspellende waarde hebben voor de effectiviteit in de mens [1-4]. In het geval van voor de mens nieuwe of grotendeels onbekende virusinfecties, zoals het Zika virus, zijn nonhumane primaten daarom vanwege hun immunologische en fysiologische overeenkomsten met de mens het meest geschikt als preklinisch proefdiermodel voor evaluatie van de effectiviteit en de veiligheid van Zika virus vaccins."</p>
<p>Verminderen</p>	<p>Citaat bijlage 1: "Een statistische onderbouwing van de aantallen is nog niet mogelijk omdat er nauwelijks ervaring is opgedaan met Zika virus infectie in apen. De keuze voor de aantallen dieren is gemaakt op basis van ervaring met verwante virussen in deze diersoorten. Omdat uit de literatuur bekend is dat resusapen gevoelig zijn voor Zika virus infectie willen wij deze apensoort gebruiken in onze studies."</p> <p>Citaat bijlage 2: "Statistische berekeningen voor het aantal dieren per vaccin groep zullen worden gebaseerd op de resultaten van de infectie studies. Deze poweranalyses zullen het minimale aantal dieren geven die nodig zijn voor een statistisch verantwoorde proefopzet. Indien mogelijk kunnen dieren uit de infectie studie dienen als 'historische' controle en kan het aantal dieren in deze groep beperkt worden tot het minimum."</p>

Verfijnen	<p>Citaat bijlage 1 en 2: "Het gebruik van temperatuurmeters maakt het mogelijk om gedurende de virusinfectie iedere 15 minuten de lichaamstemperatuur te meten. Lichte verhogingen in lichaamstemperatuur, maar ook kortdurende koortspieken kunnen op deze manier worden geregistreerd, iets wat m.b.v. een rectale temperatuurmeting tijdens bloedafnames niet of niet goed mogelijk is. Na de chirurgische ingreep, nodig voor het plaatsen van een temperatuurmeter, zal pijnstilling worden toegediend. Infectie en bloedafname vinden plaats onder verdoving en tegelijkertijd zullen de dieren dan worden gewogen en onderzocht. De dieren worden getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving of de virusinfectie."</p> <p>Citaat bijlage 2: "Indien een dier gedragsafwijkingen, gewichtsverlies, of ziekteverschijnselen gaat vertonen zal in overleg met de dierenarts worden besloten of behandeling nodig is. In geval van ernstige ziekteverschijnselen zal een dier direct uit studie worden genomen en geëuthanaseerd om verder ongerief te voorkomen."</p>
-----------	--

De 3 V's zijn goed onderbouwd.

Wettelijk vereist onderzoek Indien ja, is er sprake van herhaling?	Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.
--	--

Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
-------------------	---

Zika virus infectie in resusapen: "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 plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1e van de Wet op de Dierproeven."

Zika virus vaccin evaluatie in resusapen: "Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere, niet-gerelateerde studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1e van de Wet op de Dierproeven."

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
Zika virus infectie in resusapen	Ja	volgens de richtlijn.
Zika virus vaccin evaluatie in resusapen	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
Zika virus infectie in resusapen	<p>HEP: Ieder dier loopt kans deze criteria te halen; het percentage is dus 100%.</p> <p>Citaat: "Omdat de Zika virus epidemie van vrij recente datum is en daarom nog maar weining dieronderzoek is gedaan met het virus, is moeilijk een schatting te geven van de kans op ziekteverschijnsel en bij de apen na Zika virus infectie.</p> <p>Uitgaande van onze eigen ervaringen met verwante flavivirussen, zoals het dengue virus en het West Nijl virus, en op basis van gepubliceerde onderzoeken (...), gaan wij er van uit dat de kans zeer klein is dat er ziekteverschijnsel en optreden.</p> <p>Echter, in het geval van ernstige ziekteverschijnsel en bij de apen zal</p>	<p>"Omdat Zika virus infectie in makaken niet eerder is beschreven, is het niet mogelijk duidelijke criteria te geven wanneer een humaan eindpunt moet worden gehanteerd. Door intensieve monitoring van de dieren na experimentele Zika virus infectie zullen afwijkingen in gedrag, eetlust etc. snel worden opgemerkt. Daarnaast worden de dieren bij elke bloedafname gewogen. Een grote gewichtsafname van > 20% t.o.v. het gewicht bij infectie wordt gezien als humaan eindpunt. Bij overschrijding hiervan wordt een dier geëuthanaseerd. Een klinische scoringslijst zal worden ontwikkeld en gehanteerd. Aan de hand van de waargenomen verschijnselen in de eerste studie zal deze verder geoptimaliseerd worden."</p>

	<p>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 geassocieerd."</p>	
	<p>Ongerief: 100,00% Matig</p>	<p>"Omdat de Zika virus epidemie van vrij recente datum is en daarom nog maar weinig dieronderzoek is gedaan met het virus, is moeilijk een schatting te geven van de kans op ziekteverschijnselen bij de apen na Zika virus infectie. Uitgaande van onze eigen ervaringen met verwante flavivirussen, zoals het dengue virus en het West Nijl virus, en op basis van gepubliceerde onderzoeken (Sariol CA et al. Front. Immunol 2014 5: 115; Ratterree MS et al. J. Infect. Dis. 2004 189: 669-676), 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 geassocieerd."</p>

Zika virus vaccin evaluatie in resusapen	HEP: zie bijlage 1	Omdat Zika virus infectie in makaken nog nauwelijks is beschreven, is het niet mogelijk duidelijke criteria te geven wanneer een humaan eindpunt moet worden gehanteerd. Echter, tijdens de experimentele infecties zoals beschreven in Bijlage 1, zal een klinische scoringslijst worden ontwikkeld. Deze zal gebruikt worden in de studies zoals hier beschreven. Door intensieve monitoring van de dieren na experimentele Zika virus infectie zullen afwijkingen in gedrag, eetlust etc. snel worden opgemerkt. Daarnaast worden de dieren bij elke bloedafname gewogen. Een grote gewichtsafname van > 20% t.o.v. het gewicht bij infectie wordt gezien als humaan eindpunt. Bij overschrijding hiervan wordt een dier geëuthanaseerd.
	Ongerief: 100,00% Matig	zie bijlage 1

Het ongerief wordt vooral veroorzaakt door de bloedafnames op de verschillende tijdstippen. Er worden door de aanvrager geen ernstige ziekteverschijnselen verwacht aangezien dit bij de mens ook slechts in sporadische gevallen wordt waargenomen.

De aanvrager stelt de kans dat de humane eindpunten worden bereikt op 100%. Dit is gebaseerd op het feit dat de apen met virus geïnfecteerd worden en dus de kans lopen deze humane eindpunten te bereiken. In de praktijk verwacht de aanvrager dit echter niet (zie ook vergaderstuk AVD2016496g)

5 Samenvatting

De doelstelling en het belang van de doelstelling zijn helder. Er is voldoende informatie beschikbaar over de 3V's en de strategie om tot een oordeel te komen.

In de beschrijving van de humane eindpunten wordt de kleine kans op het krijgen van verlamingsverschijnselen (zoals sporadisch optreedt bij de mens) niet benoemd. De aanvrager is zich echter wel bewust van de mogelijkheid dat dit kan optreden en heeft aangegeven dat "in geval van vergelijkbare ernstige ziekteverschijnselen bij de apen zal onverwijld, zeker binnen 24 uur euthanasie zal worden toegepast om onnodig lijden te beperken".

Het is mogelijk dat bij de modelontwikkeling (bijlage 1) blijkt dat toch significant meer dieren ernstige ziekteverschijnselen ontwikkelen dan nu wordt verwacht. Dit zou bijstelling van de humane eindpunten en frequentie van monitoring behoeven. Het cumulatieve ongerief blijft, vanwege toepassing van humane eindpunten waarschijnlijk wel op matig. Het Secretariaat stelt

voor hier wel een voorwaarde over op te nemen.

NHP mogen volgens de wet niet in dierproeven gebruikt worden, tenzij door middel van een wetenschappelijke motivering wordt aangetoond dat het doel van de dierproef niet kan worden bereikt door gebruikmaking van dieren behorende tot een andere soort dan een NHP-soort. De aanvrager is gevraagd te verhelderen waarom voor dit onderzoek de NHP noodzakelijk is. De aanvrager geeft aan dat voor onderzoek naar Zika virus momenteel alleen muizen en resusapen worden gebruikt. De resusaap wordt gebruikt omdat deze geïnfecteerd kan worden met het Zika virus en tevens een immuunsysteem heeft dat sterk overeenkomt met dat van de mens. De DEC staat uitgebreid stil bij de onderbouwing om apen te gebruiken voor deze doelstelling en stelt dat het gebruik van NHP voor deze doelstelling essentieel is.

Het Secretariaat is echter van mening dat het lijkt alsof de aanvrager alleen de muis en de aap als potentieel proefdiermodel heeft bekeken, en de onderbouwing gaat voorbij aan de vraag of er naast muizen niet nog andere diersoorten gebruikt kunnen worden en in vergelijking met al die andere diersoorten de aap nog steeds het beste model is.

Het Secretariaat stelt voor om de aanvrager nogmaals de onderbouwing van de noodzaak om de aap te gebruiken te versterken, en daarbij ook stil te staan bij andere diersoorten dan alleen de muis en de aap.

De vaccins die in het NHP-model getest zullen worden zijn eerst uitvoerig getest in knaagdieren. Het is niet heel duidelijk op basis van welke criteria vaccins geselecteerd worden om te worden getest in de aap. Het Secretariaat stelt voor hier een voorwaarde over op te nemen, of de aanvrager nog te vragen deze criteria vast te stellen.

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het is het Secretariaat nog onvoldoende duidelijk waarom voor deze aanvraag het gebruik van niet humane primaten noodzakelijk is, terwijl de rest van de aanvraag voldoende duidelijk is.

Het Secretariaat adviseert deze aanvraag aan te houden en dit project toe te wijzen op voorwaarde dat de aanvrager beter kan onderbouwen waarom andere diersoorten, anders dan muis en aap, niet gebruikt kunnen worden voor deze vraagstelling.

Voorstel is om, indien gebruik NHP voldoende onderbouwd, de vergunning te verlenen tot en met 1 juni 2019.

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:
Vanwege gebruik van niet-humane primaten dient een beoordeling achteraf plaats te vinden.

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

- Na beëindiging van de modelontwikkeling zal met de IvD worden afgestemd of de humane eindpunten/frequentie van monitoring zal worden aangepast.
- De criteria waarop de te testen vaccins geselecteerd worden, worden voorafgaande aan de aanvang van het project vastgelegd in samenspraak met

de IvD.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

De voorwaarde betreffende afstemming van de go/ no go momenten met de IvD wordt gesteld om onnodige inzet van dieren in proeven te voorkomen.

De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel.

7 Concept beschikking voor akkoord CCD



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

www.centralecommissiedierproeven.nl

info@zbo-ccd.nl

Contactpersoon

10.2.e

Datum: 07-07-2016

Betreft: Aanvullend advies AVD201649

Aanleiding

In de CCD vergadering van 24 juni 2016 is een projectvergunningaanvraag voor het project getiteld "Evaluatie van Zika virus vaccins" besproken.

De aanvraag is aangehouden. Om een besluit te kunnen nemen over de aanvraag was aanvullende informatie nodig over de kwaliteitscriteria voor te testen vaccins en de waarschijnlijkheid, in termen van contacten, dat deel 2 van het project uitgevoerd zal gaan worden. Het Secretariaat heeft de aanvrager hierover vragen gesteld.

Aanvullende informatie aanvrager

De aanvrager heeft op 5 juli 2016 aanvullende informatie verstrekt.

De aanvrager heeft de volgende kwaliteitscriteria voor de te testen vaccins opgenomen in het projectvoorstel:

1. Het vaccin, of de vaccincomponenten mogen niet toxisch zijn. Vóórdat deze in het aapmodel worden gebruikt moeten zij eerst uitgebreid *in vitro* (celkweek) en in kleine proefdieren getest zijn op de afwezigheid van toxiciteit.
2. De gebruikte vaccinstrategie moet nieuw zijn. De te testen strategie is nog niet eerder getest in andere niet-humane primaten studies. Dit kan betrekking hebben op de keuze van het antigeen, de formulering met adjuvant 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 primaten diermodellen 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.

De aanvrager heeft daarnaast aangegeven dat hij door verschillende onderzoeksgroepen en instituten uit Europa is benaderd om samen te werken op het gebied van Zika virus vaccin

ontwikkeling. Daarnaast geeft de aanvrager aan, als onderdeel van verschillende consortia, betrokken te zijn bij meerdere subsidieaanvragen. Vooruitlopend op de eventuele verstrekking van subsidies wordt door de aanvrager gestart met de ontwikkeling van het Zika virus infectie model om deze ter beschikking te kunnen stellen voor het vaccinonderzoek.

Voorstel besluit

Het Secretariaat is van mening dat de aanvrager de kwaliteitscriteria voor de te testen vaccins in voldoende mate heeft beschreven. Hiermee wordt geborgd dat alleen die kandidaat vaccins onderzocht zullen worden die in andere diermodellen bewezen immunogeen zijn, niet toxisch zijn en nog niet eerder in niet-humane primaten getest zijn.

Hoewel er op dit moment nog geen subsidies zijn toegekend aan de aanvrager en zijn samenwerkingspartners voor de ontwikkeling van Zika virus vaccins, lijkt het gezien het statement van de WHO op 1 februari 2016, waarin aangegeven wordt dat onderzoek naar Zika virus vaccins, therapieën en diagnostiek geïntensiveerd moet worden, niet waarschijnlijk dat daar geen geld voor beschikbaar zal worden gemaakt, zeker niet waar het grote internationale consortia betreft. Het Secretariaat heeft gezien de samenwerkingen die de aanvrager heeft opgezet met instituten binnen en buiten de EU en de farmaceutische industrie geen reden om te betwijfelen dat, indien er uiteindelijk geschikte kandidaat vaccins gevonden worden, de aanvrager bij het onderzoek naar Zika virus vaccins betrokken zal worden.

Het Secretariaat adviseert, op basis van de aangeleverde aanvullende informatie, de aanvraag te vergunnen tot en met 1 juni 2019. Het Secretariaat stelt voor de volgende voorwaarden te stellen:

Specifieke voorwaarden

- 1) Vanwege gebruik van niet-humane primaten dient een beoordeling achteraf plaats te vinden.
- 2) Na beëindiging van de modelontwikkeling zal met de IvD worden afgestemd of de humane eindpunten/frequentie van monitoring zal worden aangepast.

Algemene voorwaarden

- 1) De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.
- 2) In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Biomedical Primate Research Centre
10.2.e
Postbus 3306
2288 GJ RIJSWIJK
10.2.g

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD502002016496
Bijlagen
1

22 JULI 2016

Datum
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 28 april 2016 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluatie van Zika Virus vaccins" met aanvraagnummer AVD502002016496. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 3 juni 2016 en 5 juli 2016 heeft u uw aanvraag aangevuld. Naar aanleiding van door ons gestelde vragen heeft u de noodzaak tot het gebruik van niet-humane primaten, de doelcategorie waaronder uw project valt, de keuze van het te gebruiken virus, go-no go momenten, tijdspad van de handelingen, potentieel ongerief dat ontstaat door toediening van sondevoeding, stappen in de modelontwikkeling, optreden van ziekteverschijnselen en opzet van de studies verhelderd. Daarnaast heeft u de kwaliteitscriteria voor de te testen vaccins opgenomen in het projectvoorstel en de waarschijnlijkheid dat deel 2 van het project uitgevoerd zal gaan worden verhelderd.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. Met het oog op artikel 10a, lid 1 van de wet worden twee algemene voorwaarden toegevoegd. Daarnaast wordt een specifieke voorwaarde gesteld om het welzijn van de dieren in het vervolg van het project te waarborgen vanwege de onzekerheid over de mogelijke effecten van ZIKA infectie op de dieren.

U kunt met uw project "Evaluatie van Zika Virus vaccins" starten. De vergunning wordt afgegeven van 19 juli 2016 tot en met 1 juni 2019.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Vanwege gebruik van niet-humane primaten zal er na afloop van het project een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1, lid 1d en lid 3, in de wet. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie 10.2.g gevoegd. Dit advies is opgesteld op 26 april 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Dit advies van de commissie, nemen wij grotendeels over met uitzondering van bovenstaande voorwaarden, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Bezwaar

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

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

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

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

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

Aanvraagnummer
AVD502002016496

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven

namens deze: 10.2.e
10.2.e

ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

- Vergunning
- Hiervan deel uitmakend:
- DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving

Aanvraagnummer
AVD502002016496

Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan
Naam: Biomedical Primate Research Centre
Adres: Postbus 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK
Deelnemersnummer: 50200

deze projectvergunning voor het tijdvak 19 juli 2016 tot en met 1 juni 2019, voor het project "Evaluatie van Zika Virus vaccins" met aanvraagnummer AVD502002016496, volgens advies van Dierexperimentencommissie 10.2.g De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Senior researcher.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 28 april 2016
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 5 juli 2016;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 28 april 2016;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 26 april 2016, ontvangen op 28 april 2016.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 3 juni 2016 en 5 juli 2016

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
Zika virus infectie in resusapen	Rhesusapen (Macaca mulatta) / volwassen	18	100% Matig	
Zika virus vaccin evaluatie in resusapen	Rhesusapen (Macaca mulatta) / volwassen	40	100% Matig	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen
In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-humane primaten worden gebruikt en moet daarom achteraf beoordeeld worden.

Deze beoordeling zal uiterlijk mei 2020 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen

Aanvraagnummer
AVD502002016496

van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst de dierproeven conform de vergunning waren. Vanwege gebruik van niet-humane primaten dient een beoordeling achteraf plaats te vinden.

Specifieke voorwaarde:

Na beëindiging van de modelontwikkeling zal met de IvD worden afgestemd of de humane eindpunten/frequentie van monitoring zal worden aangepast.

Algemene voorwaarden:

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

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

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

Verzorging

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

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

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

Pijnbestrijding en verdoving

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

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

Einde van een dierproef

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

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

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

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

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden.



Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 50200 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td colspan="2">Biomedical Primate Research Centre</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td colspan="2">10.2.e</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td colspan="2">41146967</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e		KvK-nummer	41146967							
Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e																
KvK-nummer	41146967																
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Lange Kleiweg</td><td>161</td></tr><tr><td>Postbus</td><td colspan="2">3306</td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>2288 GJ</td><td>Rijswijk</td></tr><tr><td>IBAN</td><td colspan="2">10.2.g</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td colspan="2">Stichting Biomedical Primate Research Centre</td></tr></table>	Straat en huisnummer	Lange Kleiweg	161	Postbus	3306		Postcode en plaats	2288 GJ	Rijswijk	IBAN	10.2.g		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre	
Straat en huisnummer	Lange Kleiweg	161															
Postbus	3306																
Postcode en plaats	2288 GJ	Rijswijk															
IBAN	10.2.g																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>10</td><td><input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td colspan="2">10.2.g</td></tr><tr><td>Afdeling</td><td colspan="2">10.2.g</td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td colspan="2">10.2.e</td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td colspan="2"></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	10	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres		
(Titel) Naam en voorletters	10	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.															
Functie	10.2.g																
Afdeling	10.2.g																
Telefoonnummer	10.2.e																
E-mailadres																	
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>10</td><td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td colspan="2">10.2.g</td></tr><tr><td>Afdeling</td><td colspan="2">10.2.g</td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td colspan="2">10.2.e</td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td colspan="2"></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	10	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres		
(Titel) Naam en voorletters	10	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.															
Functie	10.2.g																
Afdeling	10.2.g																
Telefoonnummer	10.2.e																
E-mailadres																	

- 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
 Functie
 Afdeling
 Telefoonnummer
 E-mailadres

Dhr. Mw.

- 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

AVD502002016496

- 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

Het Biomedical Primate Research Centre meld hierbij een voorgenomen verlenging van het project 'Evaluatie van Zika Virus vaccins' (vergunning AVD502002016496) met twee jaar.

De huidige projectvergunning heeft een looptijd van ongeveer 3 jaar en geldt voor het tijdvak 19 juli 2016 tot en met 1 juni 2019, en zal worden verlengd tot en met 1 juni 2021, waardoor de maximale looptijd van de eerder toegekende vergunning bijna 5 jaar wordt.

De reden voor deze melding tot projectverlenging is dat er een Zika vaccin-evaluatie studie wordt uitgevoerd waarvan de start door personele en logistieke oorzaken vertraging heeft opgelopen. Hierdoor zou het einde van de studie na de afloop van de huidige projectvergunning vallen.

Daarnaast willen wij, bij succes van deze geplande studie, de mogelijkheid inbouwen om gedurende de looptijd van het project een vervolgstudie uit te voeren.

De verlenging resulteert niet in veranderingen in de procedures zoals beschreven in de bijlagen beschrijving dierproeven en zal niet leiden tot een toename van het aantal dieren of een verandering in het ongerief en de dierproeven vallen binnen de doelstelling zoals beschreven in de vergunning.

De aanpassing is voorgelegd aan de IvD van het instituut en daar besproken en akkoord bevonden.

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?

Startdatum 19 - 07 - 2016
 Einddatum 01 - 06 - 2021

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Evaluatie van Zika virus vaccins

3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting? Evaluatie van Zika virus vaccins

3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC 10.2.g

Postadres 10.2.g

E-mailadres 10.2.e

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € Lege
 Wijziging € 818 Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Verplicht

- Projectvoorstel
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen, indien van toepassing

- Melding Machtiging

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam 10. [redacted]
 Functie 10.2.g [redacted]
 Plaats Rijswijk
 Datum 27 - 12 - 2018
 Handtekening 10.2.e [redacted]



> Retouradres Postbus 93144 2509 AC Den Haag

Biomedical Primate Research Centre
10.2.e
Postbus 3306
2288 GJ RIJSWIJK

**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 93144
2509 AC Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD502002016496-1

Uw referentie

Bijlagen

Datum 8 januari 2019
Betreft Ontvangstbevestiging Melding projectvergunning dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben op 27 december 2018 een melding ontvangen op uw projectvergunning dierproeven. Het gaat om uw project "Evaluatie van Zika Virus vaccins" met aanvraagnummer AVD502002016496 waarvoor op 22 juli 2016 een vergunning is afgegeven. Uw melding is bij ons geregistreerd onder aanvraagnummer AVD502002016496-1.

De melding beschrijft een verlenging van de looptijd van het project tot en met 1 juni 2021. U geeft aan dat zowel het ongerief voor de dieren als het aantal dieren niet verandert.

Meer informatie

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.