

Inventaris Wob-verzoek W17-12		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	documenten NTS20171544	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.2, lid 2e	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel				x		x	x	
3	Niet-technische samenvatting	x							
4	Bijlage beschrijving dierproeven 1				x		x	x	
5	Bijlage beschrijving dierproeven 2				x		x	x	
6	DEC-advies				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8	Vragen en antwoorden aanvulling				x		x	x	
9	Advies CCD				x		x	x	
10	Beschikking en vergunning				x		x	x	

1544



Centrale Commissie Dierproeven

24 MEI 2017

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 <input type="text" value=""/> <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 <input type="text" value=""/> Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde <input type="text" value=""/> KvK-nummer <input type="text" value=""/> Straat en huisnummer <input type="text" value=""/>
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 <input type="text" value=""/> Postcode en plaats <input type="text" value=""/>
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	IBAN <input type="text" value=""/> Tenaamstelling van het rekeningnummer <input type="text" value=""/>
		(Titel) Naam en voorletters <input type="text" value=""/> <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie <input type="text" value="Chairman"/>
		Afdeling <input type="text" value="Virology"/>
		Telefoonnummer <input type="text" value=""/>
		E-mailadres <input type="text" value=""/>
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters <input type="text" value=""/> <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie <input type="text" value="Section head Immunopathology"/>
		Afdeling <input type="text" value="Virology"/>
		Telefoonnummer <input type="text" value=""/>
		E-mailadres <input type="text" value=""/>

- 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 - 01 - 2018
- Einddatum 01 - 01 - 2023
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect against SIV/SHIV virus infection in macaques.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Onderzoek naar de werkzaamheid en effectiviteit van nieuwe HIV vaccins.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC
- Postadres
- E-mailadres

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1187 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

- 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:

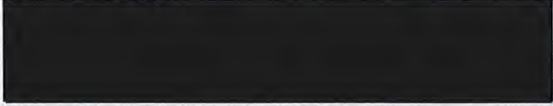
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan 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 

Functie Adjunct Directeur

Plaats 

Datum 1 - 5 - 2017

Handtekening 



Form Project proposal

- This form should be used to write the project proposal for animal procedures.
- The appendix 'description animal procedures' is an appendix to this form. For each type of animal procedure, a separate appendix 'description animal procedures' should be enclosed.
- For more information on the project proposal, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'.
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment.
- 1.3 Provide the title of the project.

2 Categories

- 2.1 Please tick each of the following boxes that applies to your project.
- Basic research
- Translational or applied research
- Regulatory use or routine production
- Research into environmental protection in the interest of human or
- Research aimed at preserving the species subjected to procedures
- Higher education or training
- Forensic enquiries
- Maintenance of colonies of genetically altered animals not used in other animal procedures

3 General description of the project

3.1 Background

Describe the project (motivation, background and context) with respect to the categories selected in 2.

- For legally required animal procedures, indicate which statutory or regulatory requirements apply (with respect to the intended use and market authorisation).
- For routine production, describe what will be produced and for which uses.
- For higher education or training, explain why this project is part of the educational program and describe the learning targets.

HIV/AIDS is a major public health issue. According to the World Health Organization, human immunodeficiency virus (HIV) infection, which results in acquired immune deficiency syndrome (AIDS) is,

even today, among the ten major leading causes of death and is the second leading cause of mortality in adolescents. Since the first report in 1981 and the identification of HIV as a causative agent in 1983 (Barré-Sinoussi et al., 2004), AIDS has claimed over 37 million lives. In 2015, 2.1 million people became newly infected with HIV and 1.1 million people died from AIDS.

HIV infection is characterized by a slow and progressive loss of CD4⁺ T cells that, in absence of treatment, generally leads to an immunosuppressed condition. Nowadays, it is recognized that chronic immune activation is the driving force of such immunodeficiency (Paiardini and Müller-Trutwin, 2013). Under successful combined antiretroviral therapy (cART), the virus is controlled up to an undetectable level in blood, but a residual chronic inflammation persists and is associated with the morbidity and mortality observed in the antiretroviral-treated patients. Despite the great advances made in HIV/AIDS knowledge, there are still key problems to solve, in particular the lack of a vaccine, a cure and the absence of treatments for resolution of HIV-induced inflammation.

The development of a safe and effective HIV/AIDS vaccine that can prevent HIV-1 infection has become a key research priority. Since the discovery of HIV-1 there has been only **one** phase III clinical trial showing a 31.2% protection against HIV-1 (RV144 trial; Rerks-Ngarm et al., 2009). This modest efficacy highlights the importance to continue developing new or better HIV vaccines and vaccination strategies. **Nowadays because of the advanced characterisation of antibody responses in HIV infected individuals in combination with new molecular engineering technologies, more specific vaccine candidates can and will be designed. Together with new scientific insights in the design of new vaccines molecules it is expected that the limited efficacy against HIV will be improved significantly and will accelerate the search for more effective HIV vaccines.**

In the search for a vaccine against HIV-1, there is a need for an animal species that can be infected with the human virus. Such a model would help, for instance, in the study of therapeutics like neutralizing antibodies (Nabs) against HIV-1 or vaccines inducing either antibodies against HIV or immune cells able to kill virus infected target cells. Chimpanzees constitute the original reservoir of HIV-1 and therefore are naturally susceptible to HIV-1. However, results obtained from HIV-1 infection in these primates have been non conclusive. Some groups have reported the development of AIDS in this model (Novembre et al., 1997; Davis et al., 1998; O'Neil et al., 2000; Ferrari et al., 1993), characterized by marked depletion of CD4⁺ T cells, sustained viremia, severe CD4:CD8 inversion and increased T cell apoptosis. Others have observed that chimpanzees do not or only slowly progress to AIDS, maintaining their normal CD4⁺ T cell counts and display undetectable viremia (Jumpan et al., 2008). The scientific limitations of the model, together with the new guidelines for the use of chimpanzees in biomedical research, lead to the stop of its use for HIV research (Anon, 2011).

Macaques are not susceptible to HIV-1 infection. However, infection of macaques, with Simian Immunodeficiency Virus (SIV) leads to a disease that is similar to AIDS induced by HIV in humans. So far, this is the most suitable model to study the mechanisms of transmission and pathology of the disease. Indeed, SIV infection in macaques fulfils the conditions for a reliable animal model for human disease: 1) The disease developed in humans after HIV infection can also be observed in animals after SIV infection; 2) The course of the disease in humans is similar to SIV infected animals; 3) The range of cells, tissues and organs involved in humans are similar to SIV infected animals, and 4) Immune responses to infection in humans are also similar in the animal model. These conditions are not fulfilled by other animal models, such as feline immunodeficiency virus (FIV) in cats or HIV-1 in humanized mice. Other attempts for studying HIV-1 infection in small animals such as rats, mice or rabbits were performed without success (Garcia-Tellez, et al., 2016) leaving the non-human primate (NHP)-SIV model as the most suitable model so far, for HIV/AIDS research and vaccine efficacy evaluation studies.

HIV vaccines are either designed to induce a neutralizing antibody response against the HIV-1 Envelope protein, which will result in inhibition of binding of the virus to its target cells and thus prevent infection, or designed to induce a cellular cytotoxic T-cell response against viral components, which will result in

killing of already infected target cells. For HIV vaccine candidates directed against the HIV-1 envelope protein, SIV cannot be used because the SIV envelope is significantly different from the HIV-1 envelope. In these cases, chimeric simian-human immunodeficiency virus (SHIV), in which the envelope glycoproteins of SIV are replaced with those of HIV-1 (Li et al., 1992), are used as challenge virus. With the use of these recombinant viruses it is now possible to also evaluate effectiveness of therapeutic antibodies (Hessel and Haigwood, 2015; Garcia-Tellez, et al., 2016). For HIV vaccine candidates directed against various (functional) internal molecules of the virus, SIV can be used as challenge model because of the closer similarity between HIV-1 and SIV for these proteins. Because SIV causes a disease that is similar to HIV-1 in humans, this model allows also assessment of vaccine mediated suppression of virus multiplication and delay or prevention of disease progression.

In conclusion, the strong immunological and physiological resemblances to humans make NHP a unique model in pre-clinical vaccine safety, immunogenicity and efficacy evaluation, particularly in relation to the new HIV vaccine delivery platforms being developed and for the evaluation of the mechanism of protection; i.e. broadly neutralizing antibody, non-neutralizing antibody and cellular broadly protective immune responses. Evaluation in NHP is essential before new HIV vaccine candidates can be evaluated in humans. Although many efficacy studies have already been performed in NHP, still no correlates of protection have been found. Therefore, challenge studies are still necessary in order to establish whether a vaccine actually can provide protection against infection and to establish correlates of protection.

3.2 Purpose

Describe the project's main objective and explain why this objective is achievable.

- If the project is focussed on one or more research objectives, which research questions should be addressed during this project?
- If the main objective is not a research objective, which specific need(s) does this project respond to?

The goal of this project is to evaluate novel HIV vaccine candidates for occurrence of adverse effects, immunogenicity and capacity to protect against SIV/SHIV infection in macaques. The ultimate goal is to develop an HIV vaccine that can induce an immune response that is sufficiently broad to provide protection against different HIV variants and can provide a degree of heterogeneous protection that would lead to reduced morbidity and mortality caused by AIDS.

The goal of the project can be divided in 2 sub-goals:

1. Vaccine evaluation. Safety, immunogenicity and efficacy to protect against infection will be evaluated using an appropriate SIV/SHIV virus challenge strain in relation to the type of vaccine being used.
2. Set-up infection model for SIV/SHIV viruses that have not yet been used in NHP at our institute and that are needed for vaccine evaluation (sub-goal 1) and refinement of SIV/SHIV virus infection models. For refinement the optimal dose and optimal route of infection will be investigated in order to improve the assessment of vaccine efficacy.

In case a vaccine has to be evaluated against an SIV/SHIV strain that has been used before at our institute, then this can be directly performed under sub-goal 1. However, in case a new SIV/SHIV strain has to be used then two stages are necessary; first to set-up the infection model (sub-goal 2) and then use this information in the model for vaccine evaluation (sub-goal 1). Two types of experiments are needed to achieve these sub-goals, namely a vaccine evaluation model (described in bijlage 1) and a SIV/SHIV infection model (bijlage 2).

At our institute we have been performing vaccine evaluation studies in NHP for over 20 years. Most vaccine candidates were directed against human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and hepatitis C virus, malaria and tuberculosis (reviewed in 't Hart et al., 2015; ██████████; Holterman et al., 1999; 2001). We have the appropriate facilities and experience to work with pathogenic viruses, at BSL-III biosafety conditions. In addition, we have the appropriate immunological assays for assessment of cellular, humoral and innate immune responses against HIV. Our long-standing experience with pathogenic viruses, including HIV, SIV/SHIV, and with vaccine evaluation guarantees that these animal

studies will be adequately performed.

3.3 Relevance

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

One key step in the process of vaccine development is the use of animal models, in which vaccine candidates can be properly evaluated to make a rational selection of vaccine candidates for subsequent clinical evaluation possible and where correlates of protection can be studied. Macaques are the current 'gold standard' animal species for testing HIV vaccines. Vaccine studies in macaques can be modelled based on the patient cohort to be used in clinical trials as most modes of HIV transmission including mother to child, hetero or homosexual transmission and intravenous drug use can be mimicked by varying the route (oral, vaginal, penile, rectal or intravenous) and amount of virus inoculum (single high dose versus repeated low dose) used to challenge vaccinated animals. The ability of the vaccine to prevent or delay virus acquisition, control virus replication and disease progression can then be determined. These virological outcomes are used to compare the relative efficacy of different vaccine strategies, and should guide the choice of HIV vaccines to be advanced to clinical trials. Thus this project is very important in contributing to a solution of one of the global health issues: HIV/AIDS by finding a vaccine, or vaccination strategy, which will stop the spread of the HIV pandemic. Furthermore, this project will result in important scientific findings: safety and immunogenicity of new vaccine platforms together with the fact that potentially effective vaccine candidates might improve our knowledge on mechanism(s)/correlates of protection. With this knowledge, even better and more effective vaccines can then be developed.

3.4 Research strategy

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

Vaccines that will be tested in NHP have to be in the final stages of preclinical development and require this last validation step in order to assure that there are no adverse effects that were missed in the preliminary studies in other species and that they are effective in an animal species that has an immune system closely related to humans. Additional criteria for vaccine evaluation are: a) the vaccine strategy must be novel, for instance with regard to choice of antigen, formulation, route of application, that have not been tested before in similar NHP studies, b) demonstration that the vaccine or vaccine components are non-toxic, c) when specific host molecules are targeted then cross recognition of macaque homologues must have been demonstrated, d) the vaccine cannot be adequately tested in other than NHP animal models, for instance due to the mechanism of action or the type of immunological assessment needed, e) preferably immunogenicity of vaccine candidates should have been proven in other species, unless this is not possible because the specific vaccine modality used does not work in other species. This concerns only vaccines for which it is not possible to directly evaluate them in other species because interaction with specific host molecules is required that are only present in humans and in NHP, but not in other species. In this case, it is required that a similar vaccine strategy that targets slightly different molecules but uses the same mode of action has been evaluated and found to be immunogenic in other species. In order to evaluate the immunogenicity of a new HIV vaccine candidate, its capacity to protect against infection and the possible adverse effects, a vaccine evaluation experiment will be performed according to well established procedures, as described in bijlage 1. The potential vaccine candidate(s) need to have been evaluated extensively for immunogenicity and safety in rodent species with positive outcome before they will be evaluated in NHP where safety, immunogenicity and efficacy to protect against infection will be evaluated using an appropriate SIV/SHIV virus challenge strain in relation to the type of vaccine being used.

Typically, one or a number of immunizations are given over a certain time period. After immunization the induction of T-cell and antibody immune responses is measured. The strength of these responses as well as their breadth, i.e. the capacity to recognize not only homologous viruses that are similar to the vaccine but also heterologous viruses, is determined. Subsequently, the capacity of the vaccine to protect against infection is tested by experimental infection of the animals with either SIV or SHIV. The choice of the virus strain that is to be used for experimental infection will depend on the outcome of the

evaluation of the immune responses and the stage of development of the vaccine.

New vaccine concepts may require that in first instance protection against infection from a homologous virus strain will be tested. However, more advanced vaccine candidates typically require evaluation of protection against infection with a heterologous virus strain. Experimental infection will only be performed when the immunization has induced clearly measurable immune responses against the virus that is to be used for experimental infection so that protection against infection is possible. Whether protection is actually achieved depends on local interaction between cells of the immune system and local anti-viral antibodies with the virus and virus infected cells in the genital tract or lymphoid tissues. This cannot be adequately modelled in an *in vitro* system and requires experimental infection of an animal. Ideally the vaccine should provide a robust level of protection or be able to reduce disease burden and virus multiplication. In case proper evaluation of the capacity of a vaccine to protect against infection requires that a virus has to be used that has not been tested before in macaques at our institute then this virus will first be tested in a small number of animals to determine if all animals become infected and what the amount of virus production is (type 2 experiment). Virus infection can be performed by inoculating the animals via various routes, using either a single exposure with a relatively high dose of virus or multiple exposures with lower doses of virus. The routes of infection can be categorized as mucosal, mimicking sexually transmitted virus infections which forms the large majority of virus transmission worldwide, or intravenous, mimicking IV drug users which forms a minority of virus transmission worldwide. The relevance for a vaccine for IV drug users might be the effect of the vaccine on delay of disease progression rather than prevention against infection. A single exposure to a high amount of virus is usually applied in the intravenous exposure model and occasionally in mucosal exposure models, when viruses are used that are relatively easy to neutralize. In this single exposure model all non-vaccinated control animals should become infected after a single exposure. More typical for the mode of acquisition of HIV in humans is via multiple exposures to a low amount of virus via the mucosal route. To model this mode of infection, a repeated low dose challenge model will be used. In this model usually 1 monkey infectious dose (MID₅₀) will be used, resulting in infection of over 99% of the control animals after 7 exposures. The virus is titrated as described in bijlage 2 to establish the exact amount needed to reach 1 MID₅₀.

3.4.2 Provide a basic outline of the different components of the project and the type(s) of animal procedures that will be performed.

Vaccine evaluation in macaques. For this type of experiment animals will be immunized either once or they will receive a number of immunizations over a certain time period. During the study animals will be monitored for adverse effects of the vaccine, including monitoring of general behaviour and health. Blood and occasionally mucosal washings (i.e. nasal, rectal, vaginal washes) will be taken to measure induction of systemic as well as local immune responses. When adequate immune responses are induced that indicate that protection against infection might be achieved, the efficacy against infection will be tested by experimental infection with SIV/SHIV. A group of non-vaccinated animals will be included as infection controls.

SIV/SHIV infection in macaques. In order to establish infectivity and pathogenicity of a new virus that has not been tested previously in NHP at our institute, a small number of animals will be infected and monitored for clinical symptoms, body weight and changes in blood parameters. Blood samples will be taken to determine if the animals have become infected and what the amount of virus production is. It is estimated that 75% of our future efficacy studies will be performed with virus strains/stocks that have been used in earlier efficacy studies at our institute. To evaluate a new virus, the virus can be inoculated via different routes; i.e. intravenously, intra-rectally or intra-vaginally using different doses in order to determine the minimum infectious dose of that particular virus via that specific route of infection. Proper application in vaccine evaluation studies requires that in these infection studies the viral dose at which 50% of the animals become infected (MID₅₀) has to be established and that the amount of virus produced in the circulation over the infection period is clearly measurable and that the variation in virus multiplication between the animals is sufficiently low to allow measurement of reduction in virus load in vaccinated animals with less than 10 animals per group.

3.4.3 Describe the coherence between the different components and the different steps of the project. If applicable, describe the milestones and selection points.

Vaccine candidates that fulfil the criteria for evaluation in NHP may be directly tested in a vaccine

evaluation study (bijlage 1), if the SIV/SHIV virus that is to be used for establishing capacity of the vaccine to protect against infection has already been used in NHP at our institute. If this is not the case then the virus has to be tested first in an SIV/SHIV titration infection study (bijlage 2). Requirement to proceed from SIV/SHIV infection study to vaccine evaluation study are: a) determination of the MID50 for the route of infection to be used, b) variation in virus multiplication between animals has to be such that in a vaccine evaluation study with group sizes within reasonable limits, statistically significant results can be obtained depending on the challenge dose: for one high dose usually n=6 per group vs repeated low dose where n=10 per group might be required for statistical significance.

Literatuur.

Anon, 2011. Institute of Medicine (US) and National Research Council (US) Committee on the Use of Chimpanzees in Biomedical and Behavioral Research. Chimpanzees in Bio- medical and Behavioral Research: Assessing the Necessity. National Academies Press (US).

Barré-Sinoussi, F., et al., 2004. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). 1983. Rev. Investig. Clín. Organo Hosp. Enferm. Nutr. 56, 126-129.



Davis, I.C., Girard, M., Fultz, P.N., 1998. Loss of CD4⁺ T cells in human immunodeficiency virus type 1-infected chimpanzees is associated with increased lymphocyte apoptosis. J. Virol. 72, 4623-4632.

Ferrari, G., et al., 1993. The impact of HIV-1 infection on phenotypic and functional parameters of cellular immunity in chimpanzees. AIDS Res. Hum. Retrovir. 9, 647-656.

Garcia-Tellez T, et al., 2016. Non-human primates in HIV research: Achievements, limits and alternatives. Infect Genet Evol. 46:324-332.

Hart 't et al., 2015. The translational value of non-human primates in preclinical research on infection and immunopathology. Eur J Pharmacol. 15;759:69-83.

Hessell, A.J., Haigwood, N.L., 2015. Animal models in HIV-1 protection and therapy. Curr. Opin. HIV AIDS 10, 170-176.

Holterman L, et al., 1999. Specific passage of simian immunodeficiency virus from end-stage disease results in accelerated progression to AIDS in rhesus macaques. J Gen Virol.80 (Pt 12):3089-97.

Holterman L, et al., 2001. Characteristics of a pathogenic molecular clone of an end-stage serum-derived variant of simian immunodeficiency virus (SIV(F359)). J Virol. 75(19):9328-38.

Juompan, L.Y., et al., 2008. Analysis of the immune responses in chimpanzees infected with HIV type 1 isolates. AIDS Res. Hum. Retrovir. 24, 573-586.

Li J, et al., 1992. Infection of cynomolgus monkeys with a chimeric HIV-1/SIVmac virus that expresses the HIV-1 envelope glycoproteins. J Acquir Immune Defic Syndr 5:639 - 646.

Novembre, F.J., et al., 1997. Development of AIDS in a chimpanzee infected with human immunodeficiency virus type 1. J. Virol. 71, 4086-4091.

O'Neil, S.P., et al., 2000. Progressive infection in a subset of HIV-1-positive chimpanzees. *J. Infect. Dis.* 182, 1051-1062.

Paiardini, M., Müller-Trutwin, M., 2013. HIV-associated chronic immune activation. *Immunol. Rev.* 254, 78-101.

Rerks-Ngarm S, et al., 2009. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med* 361: 2209-2220.

3.4.4 List the different types of animal procedures. Use a different appendix 'description animal procedures' for each type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	Vaccine evaluation in macaques
2	SIV/SHIV infection (titration) in macaques
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Appendix Description animal procedures

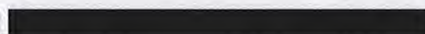
- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

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



1.2 Provide the name of the licenced establishment.



1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
1	Vaccine evaluation in macaques

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

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

Over the years we have developed, refined and validated a protocol for the evaluation of HIV vaccines in macaques [redacted] [Holterman et al., 1999](#); [Holterman et al., 2001](#)). A baseline measurement will be determined by taking blood and mucosal washings (nasal, rectal, vaginal) some weeks before the first immunization will take place. Subsequently, animals are immunized either once or they receive a number of immunizations over a certain time period. Although the vaccines that are used in these studies have already been extensively evaluated in other models and are expected to give no or only very limited adverse effects, animals will be monitored for possible changes in general behaviour and health. The site of immunization will be checked for local reactions and blood will be drawn to measure clinical chemistry and haematology parameters. Before, between and after immunizations, blood and occasionally nasal, rectal and/or vaginal washes, draining lymph node biopsies and/or gut biopsies will be taken to measure induction of systemic as well as local immune responses. When adequate immune responses are induced that indicate that protection against infection might be achieved, the efficacy against infection will be tested by experimental infection with SIV or SHIV. A group of non-vaccinated animals will be included as infection controls. The infection will be performed as described in bijlage 2. Most vaccine candidates are aimed to protect against mucosal transmission of HIV, but some can be developed to delay or prevent AIDS disease progression (and thus model therapeutic vaccination).

The primary outcome parameters are:

Absence of unexpected reactogenicity of the vaccine: effects of the vaccine on general behaviour, health, local reactions and blood parameters.

Testing the Immunogenicity and efficacy: Induction of cellular and humoral immune responses. The type and strength of the induced responses will determine if the objectives of the vaccine strategy are

achieved. Furthermore, the capacity to protect against viral challenge will be established in terms of: protection against infection, increase in the number of exposures needed to obtain productive infection, reduction in the level of virus replication upon infection, protection against a loss of CD4 T-cells or changes in other blood parameters, prevention or delay in disease progression.

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

Animals will receive one or more immunizations, typically at 4 to 8 week time intervals, although occasionally a longer time frame is needed between immunizations when different vaccine modalities are used for priming and boosting of the immune response. Usually 3 immunizations suffice over a period of 20 weeks. However, in rare occasions these limits may have to be exceeded depending on the vaccines used. Immunizations will be done either by intradermal injection, intramuscularly, subcutaneously, intravenously, intra-nasally, intra-tracheally, intra-bronchially using a bronchoscope or via aerosol using a nebulizer. At regular time intervals, usually two and four weeks after every immunization, blood is drawn to measure systemic adverse effects, which includes measurement of clinical chemistry and haematology, and to measure induction of cellular and humoral immune responses. The two-week interval after immunization is chosen, because this is optimal for measuring cellular immune responses, while four weeks is optimal for measuring humoral immune responses. The total amount of blood will be less than 1% of the body weight per month and less than 0,7% of body weight per bleeding. Occasionally, usually before the start of the study and after the last immunisation, a nasal, rectal and/or vaginal wash, lymph node biopsies and/or gut biopsies are taken in order to measure induction of local immune responses. Immune responses recorded after the final immunization will be used to decide whether protection against viral challenge can be reasonably expected. If these responses are inadequate, i.e. if there are no antibody binding responses, or no detectable cellular immune responses in the majority of a vaccinated group, then the study will be stopped and animals may be re-used in other non-HIV related experiments. Otherwise, experimental challenge will take place in all animals and usually will take place between 4 and 8 weeks after the last immunization. This time period is needed to allow immunological memory to form after the last immunization. The decision not to challenge will be communicated with the AWB. SIV/SHIV infection may be done in a bolus way or in a repeated low-dose strategy by intra-rectal, intra-vaginal or oral route of inoculation (as described in bijlage 2). Animals will be monitored daily for behaviour, appetite and stool. Typically, blood is taken every week for the first 6 weeks after final challenge, then every 2 weeks until week 12 followed by monthly bleeding usually until week 24 to measure viral loads and to monitor changes in clinical chemistry and haematology parameters, number of CD4 T-cells and other leucocyte subsets. Nasal, rectal and vaginal washings will be collected simultaneously with blood collection at selected time points after infection to measure viral loads in those excretions. In case AIDS symptoms become manifest, (animals suffer from chronic diarrhea and show more than 10% body weight loss in combination with abnormal hematology parameters: these are AIDS-defining conditions and are criteria for euthanasia), the animals will be euthanized and tissues collected for viral load measurements. In case animals remain negative for SIV/SHIV and are thus protected against SIV/SHIV infection, a re-challenge with a heterologous SIV/SHIV might be considered to study the broadness or strength of the immune response, measured as capacity to protect against a different strain of SIV/SHIV. At the end of the study all animals will be euthanized to establish vaccine safety and measure viral loads in different tissues. The details of each study, regarding the interval between the immunizations, the number and time points of sampling, the specific criteria to proceed with a viral challenge, the time interval between the last immunization and viral challenge will depend on the actual type of vaccine that is being tested and this will be submitted to the AWB.

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

The number of animals per group will be based on statistical power analysis appropriate for the primary outcome measure. There are two primary outcome measures: 1. Vaccine immunogenicity defined as cellular (ELISpot or ICS) or humoral (Ig levels or neutralisation titres) responses and 2. Vaccine efficacy, with the fraction infected or reduction in virus load as primary outcome measures. For vaccine immunogenicity calculations take into account the number of animals required to detect statistically

significant induction of immune responses compared to unvaccinated controls or, in case different vaccines are compared, whether significant differences between vaccine groups can be detected. The minimal detectable alternative is 1.8 and 1.3 x standard deviations for 6 and 10 animals (based on $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$), respectively. For vaccine efficacy calculations are performed to establish the number of animals required to detect vaccine efficacy, defined as: 1. As a reduction in the number of infected animals (Vaccine efficacy > 85% or 60% for 6 and 10 animals, respectively). 2. As an increase in the number of challenges required for animals to become infected. (Vaccine efficacy > 77% or 62% for 6 and 10 animals, respectively) and 3. As a reduction in in virus load in the circulation in the vaccine groups versus the challenge control group. The minimal detectable alternative is 1.8 and 1.3 x standard deviations for 6 and 10 animals, respectively.

Only the minimum number of animals per group needed, will be used. Since historical data are available on infection in unvaccinated animals (bijlage 2), usually fewer animals can be used in the non-vaccinated challenge control group than in the vaccine groups.

B. The animals

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

The experiment will be performed in macaques, adult, M/F, n=180.

Macaque species have been extensively used in HIV vaccine research (Rivera-Hernandez et al., 2014; Del Prete et al., 2016; Garcia-Tellez et al., 2016). The most often used species are the rhesus macaque (*Macaca mulatta*) and cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). Both species are susceptible to an array of SIV/SHIV viruses. For SIV as well as several SHIVs rhesus macaques show higher levels of virus replication and a more pronounced loss of CD4 T-cells after infection than cynomolgus macaques. Therefore, rhesus macaques are the preferred species for vaccine research against HIV. However, for some viruses it is not known which macaque species is the most susceptible and in those cases the choice of macaque species to use will depend on the robustness of the infection in that species. All animals are purpose bred and are either from our institute or obtained from a certified supplier. For experiments involving vaginal challenges, only female monkeys will be used. In other cases both male and female animals can be used. However, since there are immunological differences between males and females we prefer that for each individual experiment either all animals are male or all are female. This choice is also important with regard to the amount of blood needed to perform all assays. Male animals are bigger than female animals and therefore more blood per time point can be drawn from males. In case assays need to be performed which consume large amounts of blood, male monkeys are preferred above females. The number of animals requested is based on the assumption that each study will contain two vaccine groups and 1 control group, with up to 10 animals per group. The group size will be determined per experiment, based on power calculations specific for the experiment and the viral challenge strategy used. Variation in virus multiplication between animals has to be such that in a vaccine evaluation study significant protections against infection can be obtained with a limited number of animals per group This depends on the mode of challenge used: for one high dose challenge usually n=6 per group suffices, while for repeated low dose challenges n=10 per group may be required to reach statistical significance. As stated above, probably fewer animals may be needed in the non-vaccinated challenge control groups. In all, we anticipate performing a maximum of 6 such studies over a 5-year period using n=6/group with a maximum of 4 different vaccine candidates (or different combinations of routes of vaccination) + 1 control group per study (= 4 experimental groups + 1 control group, at n=6/group, with 6 studies, results in maximal of 180 animals).

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

Animals that will be used in these experiments, have possibly been used in previous experiments. Animals that have been involved in previous HIV vaccine studies or that have pre-existing antibodies against HIV are not suitable. If immune responses after vaccinations are inadequate, the animals can be

re-used in other non-HIV related protocols. In view of the long life of the animals of this species reuse of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

The immune system is very complex and the *in vivo* interactions between virus and/or vaccine and host are not completely understood. At present, there is no *in vitro* model available that can mimic the human immune system sufficiently to study the potential of a vaccine to induce protective immune responses. Due to the complex interaction of HIV with different tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of an HIV vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. HIV can only infect humans and chimpanzees and no other species. However, infection of non-human primates (NHP), such as macaques, with Simian Immunodeficiency Virus (SIV) leads to a disease that is similar to AIDS induced by HIV in humans. NHP have an immune system that most closely resembles that of humans. Also, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in the control of infection. In addition, vaccine strategies that aim to trigger immune responses through targeting of specific cell surface molecules or innate immune receptors have either limited cross reactivity to other animal species or trigger different cell types or different responses because of differences in receptor expression pattern or cell signalling pathways. These aspects are essential for the evaluation of HIV vaccines. For these types of vaccines new vaccination strategies as well as vaccine modalities are used that aim for the induction of cross protective cellular immune responses or induction of broadly cross neutralizing antibody responses or non-neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start. Other attempts for studying HIV-1 infection in small animals such as rats, mice, rabbits or cats were performed without success. The development of humanized mice, that are reconstituted with human immune cells, has made it possible to study HIV-1 infection and answer some specific research questions. However, their development requires complex surgical engineering. Moreover, they need to be generated *de novo* for each experiment, being tailored according to the immunological requirements of the research. In addition, anatomical differences exist, for example at the level of lymphoid organs that are not fully developed and a lack of several human immune cell lineages, in particular related to innate immune responses (Garcia et al, 2016).

Reduction

The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant level of protection or reduction in virus load in the circulation between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in unvaccinated animals (bijlage 2), usually less animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups. Furthermore, we aim to evaluate multiple vaccine candidates in a single experiment, so that a single challenge control group can be used. This has to be weighed against the fact that in order to obtain significant differences in immune response between the vaccine groups, more animals per vaccine group may be needed.

Refinement

Before start of the experiment socially compatible animals will be selected to make social housing throughout the full length of the study possible. Furthermore, animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handlings, such as receiving the sedation. Another contribution to refinement will be the go/no go decision regarding challenging the animals depending on the immunological outcome of the vaccinations: only in case of vaccine induced immune responses against the virus, animals will be challenged. Otherwise no challenge will take place. Finally the low dose challenge model is also a form of refinement. This challenge model mimics the human situation of becoming infected, and increases the change to find (a level of) protection.

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

Animals will be socially housed with a socially compatible animal, whenever possible. There is an extensive program for enrichment in our institute that consists of playing material and methods to present food (<http://www.bprc.nl/en/welfare/>).

During the study animals will be observed daily by qualified and competent animal caretakers. In addition, at every time point that a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. During the studies, animals will be monitored for clinical chemistry and haematology to avoid potential disease development. All handlings will be performed under sedation. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. A clinical endpoint is defined on the basis of these daily observations in combination with weight loss and haematological parameters as described under point J. Possible local reactions on the injection site of the vaccine will be recorded at multiple time points using a scoring system that includes redness, swelling and induration. In case substantial induration is seen, then the wound will be treated and analgesics will be applied.

The "wet natuurbescherming" and "wet dieren" do not pose additional requirements that are needed for the type of studies proposed in this application.

Literatuur.

[REDACTED]

Garcia-Tellez, T., et al., 2016. [Non-human primates in HIV research: Achievements, limits and alternatives. Infection, Genetics and Evolution 46, 324-332.](#)

Holterman L, et al., 1999. [Specific passage of simian immunodeficiency virus from end-stage disease results in accelerated progression to AIDS in rhesus macaques. J Gen Virol.80 \(Pt 12\):3089-97.](#)

Holterman L, et al., 2001. [Characteristics of a pathogenic molecular clone of an end-stage serum-derived variant of simian immunodeficiency virus \(SIV\(F359\)\). J Virol. 75\(19\):9328-38.](#)

Rivera-Hernandez T, et al., 2014. [The contribution of non-human primate models to the development of human vaccines. Discov Med. 18\(101\):313-22.](#)

Del Prete GQ, Lifson JD, Keele BF, 2016. [Nonhuman primate models for the evaluation of HIV-1 preventive vaccine strategies: model parameter considerations and consequences. Curr Opin HIV AIDS. 11\(6\):546-554.](#)

Garcia, J.V., 2016. [In vivo platforms for analysis of HIV persistence and eradication. J. Clin. Invest. 126, 424-431.](#)

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

Pain relief will be applied if necessary at the site of vaccine injection. Analgesics known not to interfere with the induction of the vaccine response will be used.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Stress because of change in housing / adaptation stress.
2. Discomfort due to lymph node (LN) biopsies and gut biopsies.
3. Discomfort due to injection.
4. Stress because of sedation and recovery.
5. Disease symptoms due to the infection.
6. Discomfort due to single housing as a result that his/her cage mate has to be euthanized before the end of the study. Introducing a new cage mate will result in more stress than single housing for the remaining period of the study.

Explain why these effects may emerge.

1. Animals have to be moved to DM-III facilities because of the experimental infection with SIV/SHIV.
2. When LN biopsies are taken, this might cause local pain and irritations. Gut biopsies usually do not cause pain (according to veterinarians) but might cause some irritation in their throat.
3. When vaccines are given by injection, this can cause local pain and irritation.
4. Animals will be repeatedly sedated for vaccine delivery, blood sampling, virus infection. Recovery can involve nausea, vomiting, dizziness and confusion.
5. HIV infection can cause AIDS.
6. In case a cage mate has to be euthanized.

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

1. Animals will be socially housed, have an acclimatization period and enrichment is provided.
2. Animals will be sedated for taking LN and gut biopsies and analgesics will be applied. After taken LN biopsies the skin will be stitched.
3. Animals will be sedated for vaccine delivery. Only rarely are strong adverse effects seen. Should granuloma formation be observed, then the animal will be sedated, the wound will be cleaned and analgesics are applied.
4. Recovery of the animals will be monitored and the veterinarian will be consulted in case of problems.
5. Animals are monitored daily and weighed at each sedation. In case AIDS symptoms manifests (animals suffer from chronic diarrhoea and show more than 10% body weight loss in combination with abnormal hematology parameters), the veterinarian is consulted.
6. Introducing a new cage mate in an ongoing study will result in more stress than single housing for the remaining period of the study.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Animals are monitored daily. In case the first clinical symptoms of AIDS become manifest (animals suffer from chronic diarrhoea and show more than 10% body weight loss in combination with abnormal haematology parameters: these are AIDS-defining conditions and are "criteria for euthanasia"), the animals will be euthanized. In case an animal becomes sick but not related to the vaccination, and cannot be treated than the animal will be euthanized as well.

Indicate the likely incidence.

The percentage of animals reaching the end point (AIDS) will depend on the virus being used. Some SIV/SHIV viruses will only cause none to minimal effect while other viruses are more pathogenic. Even with pathogenic viruses AIDS symptoms will usually not develop before 26 weeks post infection. Usually the follow up period after SHIV infection is shorter than 26 weeks meaning that < 1% of the animal will face AIDS like symptoms. In case of SIV infection < 25% of the animals will face AIDS like symptoms in the timeframe as mentioned.

K. Classification of severity of procedures

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

The total amount of discomfort is estimated as moderate. This is mainly caused by the frequent sedations due to immunizations, challenges and bleedings.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

In case the decision has been made to continue to challenge, all animals will be euthanized at the end of the study. Once animals become infected with SIV/SHIV different tissues/cells contain the virus even if no virus is present in the circulation. These latently infected cells can become active and start producing virus due to yet unknown stimuli. Therefore these animals cannot be re-used for other (non HIV related) studies.

In case no challenge will take place, the animals can be re-used in non-HIV related studies.

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

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

Yes



Appendix Description animal procedures

- This appendix should be enclosed with the project proposal for animal procedures.
- A different appendix 'description animal procedures' should be enclosed for each type of animal procedure.
- For more information, see our website (www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Or contact us by phone (0900-2800028).

1 General information

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

1.2 Provide the name of the licenced establishment.

1.3 List the serial number and type of animal procedure.

Serial number	Type of animal procedure
2	SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques

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

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

In order to establish the capacity of a vaccine to protect against SIV/SHIV infection it is necessary to have a well-defined SIV/SHIV infection model. We have established infections in macaques with different SIV and SHIV viruses ([Holterman et al., 1999](#); [Holterman et al., 2001](#)). For new SIV's or SHIV's that have not yet been tested at our institute it is necessary to establish infectivity and pathogenicity in macaques before they can be applied in HIV vaccine efficacy evaluation studies. The main objective is to obtain an infection model that is sufficiently robust to allow adequate evaluation of vaccine efficacy, defined as either protection against infection, increase in the number of viral exposures needed to result in productive infection, reduction in virus replication or protection against loss of CD4 T-cells. The viral challenge dose that is needed to reach these objectives will depend on the route of administration; i.e. intravenous, oral, intra-rectal, intra-vaginal and on whether a single high dose or repeated low dose challenge protocol will be used in the vaccine evaluation study. In general, the study set-up is as follows: a limited number of animals will be exposed to the virus and then monitored for viral load in the circulation, body weight and changes in blood parameters. The amount of virus needed is established via titration experiments. When no information is available on the virus then a series of experiments is needed; a first experiment to obtain a rough indication about the dose needed and a follow up experiment to determine the exact dose. In the first experiment, groups of animals are each given a different amount of virus using a range from 10^1 to 10^4 50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀) usually in tenfold dilution. Usually two animals are used in each dose group. In this manner, the monkey infectious dose (MID)₅₀ can be roughly calculated, which is the amount of virus that results in infection of 50% of the animals. Subsequently, a larger group of typically 4-8 animals will be infected with one or two different single doses ($n=4$ per dose) in order to make a precise calculation of the MID₅₀ possible. Usually this two step approach requires less animals to find the precise MID₅₀ of a certain virus

challenge stock. This precise measurement of the MID₅₀ is especially essential for the repeated low dose challenge model, because a small deviation will result in either infection of all control and vaccine animals or very low levels of infection in the control group, both of which make the results of the vaccine evaluation study un-interpretable (Roederer, 2015). Although rhesus macaques have proved to be more susceptible to infection with SIV and some SHIV strains than cynomolgous macaques (Reimann et al., 2005), this may be different for other SHIVs. Because it is very important to infect all control animals with a given MID₅₀ this dose therefore has to be titrated in the species which will be used for vaccine efficacy studies. It may therefore be necessary to evaluate a new virus in a second species.

Primary outcome parameters are: Virus replication.

Secondary outcome parameters are: Bodyweight, changes in leucocyte subset composition in peripheral blood.

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

HIV infection may be done by intravenous inoculation or via the mucosal compartments i.e. oral, intrarectal or intravaginal route. Administration of HIV via one of the mucosal routes may be done either at a single high dose, in which the virus is given once at typically 10-20 MID₅₀, or at a repeated low dose, where the virus is given at weekly intervals, usually at 1 MID₅₀ over 5-15 weeks. Blood is taken every week for the first 6 weeks and then by every 2 weeks until week 12 to determine the viral loads and kinetics of the virus in time in circulation and to monitor changes in clinical chemistry and haematology parameters and leucocyte subsets. In case of a multiple low dose challenge model, blood is taken every week until 6 weeks after the final challenge and then the same schedule is used as described above. At the end of the study the animals will be euthanized. However, when animals did not become virus positive, a re-challenge might be considered with a higher viral dose.

The details of each study, regarding the route of infection, mode of challenge, viral dose, species and duration of the follow up period after challenge will be submitted for approval to the AWB.

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

The titration experiment, in which the virus is inoculated by a particular route with different amounts of virus, will be performed in groups of two animals for obtaining a rough estimate of the MID₅₀ and groups of 4-8 animals for a precise calculation of the MID₅₀. The first phase of these experiments, i.e. obtaining a rough estimate, can be omitted in case the virus has already been characterised in another laboratory. Experience in the past has shown that with this number of animals an adequate assessment can be made on the reproducibility of infection given a particular amount of virus. Via the so called "Karber" formula (Roederer, 2015) the minimum monkey/animal infectious dose (M/AID₅₀) can then be calculated for that virus stock.

Literatuur

[REDACTED]

[REDACTED]

Holterman L, et al., 1999. Specific passage of simian immunodeficiency virus from end-stage disease results in accelerated progression to AIDS in rhesus macaques. *J Gen Virol.* 80 (Pt 12):3089-97.

Holterman L, et al., 2001. Characteristics of a pathogenic molecular clone of an end-stage serum-derived variant of simian immunodeficiency virus (SIV(F359)). *J Virol.* 75(19):9328-38.

Reimann KA, et al., 2005. Pathogenicity of simian-human immunodeficiency virus SHIV-89.6P and SIVmac is attenuated in cynomolgus macaques and associated with early T-lymphocyte responses. *J*

Virology 79(14):8878-85.

Roederer M. 2015. Parsimonious Determination of the optimal infectious dose of a pathogen for Nonhuman Primate Models. PLoS Pathog. 11(8):e1005100.

B. The animals

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

The experiment will be performed in macaques, adult, M/F, n=56.

Most HIV vaccine studies will be performed in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) but sometimes also cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) can be used. Therefore evaluating the infectivity of a new SIV/SHIV virus must be evaluated in the corresponding macaques as well.

Assuming 2 animals per group, and 4 different doses to be tested via a particular route of administration plus a follow up experiment with 6 animals, and evaluation of 2 new viral stains, the total number of animals needed will be maximum 28. If an additional route of application is needed than the number of animals will be doubled.

In total 56 animals are the maximum needed for setting up infection models and to determine the infectivity of newly generated virus stocks or new SIV/SHIV viruses via different routes of infection in a period of 5 years.

All animals are purpose bred. Both male and female animals can be used, except when an intra-vaginal is used.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

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

No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

Due to the complex interaction of SIV (as a model virus for HIV) with different tissues and the role of both systemic and local immunity in blocking virus transmission the efficacy of an HIV vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal infection model. Macaques are the only species susceptible for SIV/SHIV infection and therefore are the only animals which can be used to evaluate HIV vaccine candidates for their efficacy against SIV/SHIV. Furthermore the NHP have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine evaluation (explained in bijlage 1), as well as for the infection with SIV/SHIV, since development of a productive infection is dependent on the interaction between the virus and its target cells at the site of exposure as well as the local response of the innate and adaptive immune system. In order to test the efficacy of a vaccine candidate against a virus, one must establish first the virus dose to infect animals via a certain administration/infection route. When animals will be challenged with a (too) high amount of challenge virus, then a potential positive vaccine effect will not be observed because all animals will be infected. In case a too low amount of virus is used as challenge dose, the number of infected animals will be too low in the control group and a difference between

vaccinated and non-vaccinated animals can no longer be observed. Thus, first a virus titration study has to be performed to find the optimal infectious dose via a given route of administration/infection before this challenge dose can be applied in a vaccine efficacy study. As explained in bijlage 1, these aspects are especially important for the evaluation for HIV vaccines. The proper evaluation of these vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here.

Reduction

Experience from previous experiments has shown that the virus titration experiments described under A allow us to establish a MID50 value that is sufficiently reliable to be used for subsequent vaccine efficacy evaluation, with the use of a minimum number of animals. When a new virus or virus stock is used, for which there are no preliminary data available 12 to 16 animals suffice. Using the two-phase approach, a reduction of animals can be achieved: in the first phase, 2 animals per virus dilution (using 4 different dilutions) will give a rough estimation in the amount of virus dose needed to infect the animals. In the second phase, 4 to 8 animals are then sufficient to find the optimal infectious dose. For viruses for which more information is available a limited amount of 4 to 8 animals will suffice.

Refinement

Before start of the experiment socially compatible animals will be selected to make social housing throughout the full length of the study possible. Furthermore, animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handlings, such as receiving the sedation. Because the purpose is to find the optimal virus dose for challenge studies, the animals in titration studies will be euthanized as soon as the animals becomes clearly virus positive. Therefore, no long follow up period is required thus avoiding the animals to stay in study for an extended period of time and thus also avoiding the chance that (some) animals will develop AIDS. During the studies, animals will be monitored for clinical chemistry and haematology to avoid potential disease development. All handlings will be performed under sedation.

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

Animals will be socially housed with a socially compatible animal. There is an extensive program for enrichment in our institute that consists of playing material and methods to present food. During the study, animals will be observed daily by qualified animal caretakers. Should changes occur in behaviour, appetite or stool then a veterinarian will be informed and measures will be discussed with the investigator and implemented. A clinical endpoint is defined on the basis of these daily observations in combination with weight loss and haematological parameters as described under point J. When this endpoint is reached (which is very unlikely during the timeframe of 12 weeks) the animal will be immediately euthanized. All handlings will be performed under sedation. On every time point where a handling is performed the animal will be weighed and closely examined. Any other legal requirements will be met.

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable.

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Stress because of change in housing
2. Stress because of sedation and recovery
3. Disease symptoms due to the infection

Explain why these effects may emerge.

1. Animals have to be moved to DM-III facilities because of the experimental infection with SIV/SHIV.
2. Animals will be repeatedly sedated for virus infection and blood sampling.
3. SIV/SHIV infection can cause AIDS. However, this is very unlikely in the timeframe (12 weeks) of the studies.

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

1. Animals will be socially housed and enrichment is provided.
2. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
3. Animals are monitored twice daily and a clinical scoring list is used to record the clinical symptoms. When a certain pre-determined clinical score is reached i.e. in case AIDS symptoms manifests: animals suffer from chronic diarrhea and show more than 10% body weight loss in combination with abnormal hematology parameters, the animals will be euthanized.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Animals are monitored daily. In case the first clinical symptoms of AIDS become manifest (animals suffer from chronic diarrhoea and show more than 10% body weight loss in combination with abnormal haematology parameters: these are AIDS-defining conditions and are "criteria for euthanasia"), the animals will be euthanized. Animals will also be euthanized in case they become seriously sick however not as a result of SIV infection.

Indicate the likely incidence.

The percentage of animals reaching the end point (AIDS) will depend on the virus being used. Some SIV/SHIV viruses will only cause none to minimal effect while other viruses are more pathogenic. Even with pathogenic viruses AIDS symptoms will usually not develop before 26 weeks post infection. Usually the follow up period after SHIV infection is shorter than 26 weeks meaning that < 1% of the animal will face AIDS like symptoms. In case of SIV infection < 25% of the animals will face AIDS like symptoms in the timeframe as mentioned. The timeframe of the proposed studies has a maximum of 12 weeks and therefore the expected chance to develop AIDS is even less.

K. Classification of severity of procedures

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

The total amount of discomfort is estimated as moderate. This is mainly caused by the frequent sedations due to the challenge and bleedings and the development of clinical symptoms of AIDS on some of the animals.

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

All animals will be euthanized at the end of the study. Once animals become infected with SIV/SHIV different tissues/cells contain the virus even if no virus is present in the circulation. These latently infected cells can become active and start producing virus due to yet unknown stimuli. Therefore, these animals can not be re-used for other (non HIV related) studies.

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

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

Yes

Format DEC-advies

Maak bij de toepassing van dit format gebruik van de Praktische Handreiking: Ethisch Toetsingskader voor proefdiergebruik. Voor voorbeelden, zie bijlage I.

Herhaling van antwoorden is niet nodig. Indien van toepassing kan verwezen worden naar een bij een eerdere vraag verstrekt antwoord.

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD [REDACTED] 20171544
2. Titel van het project: Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect against SIV/SHIV virus infection in macaques
3. Titel van de NTS: Onderzoek naar de beschermende werking van nieuwe HIV vaccins
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 01-05-2017
 - aanvraag compleet: 01-05-2017
 - in vergadering besproken: 12-05-2017
 - anderszins behandeld: 18-05-2017
 - termijnonderbreking(en) van 15-05-2017 tot 16-05-2017 en 18-05-2017 tot 22-05-2017
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 16-05-2017 en 22-05-2017
 - advies aan CCD: 22-05-2017
7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De aanvrager heeft het projectvoorstel afgestemd met de IvD en het met instemming van de IvD ingediend bij de DEC.

Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest. Bij vragen die gericht zijn op het compleet maken van de aanvraag (aanvullingen achtergrond informatie etc) kan bij punten 8 en 9 worden volstaan met de vermelding van het type vragen en de vermelding dat de aanvraag op de desbetreffende onderdelen is aangepast of dat de antwoorden in de aanvraag zijn verwerkt. Bij vragen die gericht zijn op het verkrijgen van verklaringen voor keuzes die door de aanvrager gemaakt worden, kan niet worden volstaan met het weergeven van de strekking van de antwoorden tenzij de antwoorden volledig in de aanvraag zijn

opgenomen. Als dat het geval is, moet dat in het DEC advies worden benoemd en in de aanvraag inzichtelijk worden gemaakt.

8. Eventueel horen van aanvrager n.v.t.
 - Datum
 - Plaats
 - Aantal aanwezige DEC-leden
 - Aanwezige (namens) aanvrager
 - Gestelde vraag / vragen
 - Verstrek(e) antwoord(en)
 - Het horen van de aanvrager heeft wel/niet geleid tot aanpassing van de aanvraag

9. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: 15-05-2017 en 18-05-2017
 - Gestelde vraag/vragen: Enige tekstuele aanpassingen, aanvullende informatie betreffende innovatie op gebied van HIV vaccin ontwikkeling, nadere uitleg over wanneer SIV of SHIV gebruikt moet worden, criteria voor het overgaan tot experimentele infectie (wanneer is een immuun respons adequaat om te gaan testen of bescherming tegen infectie gevonden kan worden), het belang van een juiste bepaling van de te gebruiken hoeveelheid virus voor challenge, aanvullende uitleg over de twee fase benadering voor bepaling van de benodigde hoeveelheid virus, aanvullende informatie over verfijning en humane eindpunten.
 - Datum antwoord: 16-05-2017
 - Verstrek(e) antwoord(en): Het project is aangepast in de NTS (3.1 uitleg over gebruik SIV of SHIV), het projectvoorstel (3.1 innovatie op HIV vaccin gebied en nadere uitleg over gebruik SIV of SHIV), bijlage 1 (A. beschrijving voorwaarden voor infectie, D. refinement, J. beschrijving humane eindpunten bij overige oorzaken van ziekte) en bijlage 2 (A. aanvullende uitleg over noodzaak voor bepaling juiste hoeveelheid virus en twee fase benadering, D. refinement, J. beschrijving humane eindpunten bij overige oorzaken van ziekte).
 - De antwoorden hebben wel geleid tot aanpassing van de aanvraag

10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC). N.v.t.
 - Aard expertise
 - Deskundigheid expert
 - Datum verzoek
 - Strekking van het verzoek
 - Datum expert advies
 - Advies expert

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren? De commissie heeft voldoende expertise, inbegrepen de immunologie, virologie, vaccinologie, statistische analyse, onderzoek met niet-humane primaten, en toepassing van alternatieven op deze gebieden. Ook is er voldoende expertise op gebied van ontwerp van dierproeven, proefdiergeneeskundige praktijk, het houden en verzorgen van dieren, ethiek en proefdieren en hun bescherming. De DEC heeft ruime ervaring met het beoordelen van onderzoek naar vaccins tegen virale infecties in niet-humane primaten.
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies.

Indien van toepassing, licht toe waarom. Een van de DEC leden was betrokken bij de aanvraag. Deze persoon heeft zich teruggetrokken van de vergadering bij de bespreking van de aanvraag en overigens geen aandeel gehad in de afweging en advisering.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. Het voorgestelde onderzoek bestaat uit twee fasen, te weten 1) evaluatie van de effectiviteit en veiligheid van kandidaat vaccins tegen HIV in niet-humane primaten en 2) bepalen van de optimale hoeveelheid virus die gebruikt moet worden om in de vaccin studies te kunnen testen of een vaccin beschermt tegen infectie. Vaccins die getest gaan worden in dit model zijn innovatief en nog niet eerder getest in niet-humane primaten. De subdoelen sluiten logisch aan bij het hoofddoel en vormen een samenhangend geheel. Het verwachte ongerief voor de dieren is duidelijk omschreven en de uitkomsten van deze experimenten zijn helder en meetbaar. Het aantal dieren is realistisch ingeschat en voor zover mogelijk statistisch onderbouwd. De klinische eindpunten zijn duidelijk gedefinieerd.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel. De aangegeven doelcategorie, te weten 'translationeel of toegepast onderzoek', sluit aan bij het projectvoorstel. In deze projectaanvraag worden nieuwe kandidaat HIV vaccins getest op hun vermogen om een goede immuunrespons te induceren die bescherming biedt tegen HIV infectie en op veiligheid. Het nieuwe van deze vaccins bestaat uit het feit ze ontworpen worden met nieuwe moleculair biologische technologieën en deels zijn aangepast naar aanleiding van een betere karakterisering van de antistof respons in HIV besmette personen.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld. Het directe doel van het project is het testen van nieuwe anti HIV vaccins op veiligheid en effectiviteit in niet-humane primaten. Het uiteindelijke doel is de implementatie van nieuwe vaccins ter bescherming van mensen tegen HIV infectie. Momenteel zijn meer dan 37 miljoen mensen besmet met HIV en worden jaarlijks meer dan 2 miljoen mensen besmet met HIV. Met de ontwikkeling van anti-virale medicijnen kan het virus in het merendeel van de HIV geïnfecteerde mensen goed onderdrukt worden. Echter het virus blijft aanwezig en moet constant onderdrukt worden door het levenslang gebruik van medicijnen. De kosten, problemen bij de distributie en de noodzaak om de medicijnen dagelijks in te nemen maken dat gebruik in met name derde wereld landen onvoldoende is, waardoor jaarlijks meer dan 1 miljoen mensen overlijden aan de gevolgen van AIDS. Met een effectief vaccin kan de verdere verspreiding van HIV voorkomen worden. De onderzoekers willen de veiligheid en effectiviteit van HIV vaccin kandidaten testen in niet-humane primaten als laatste stadium voor toepassing in de mens. Het betreft hier *pre-klinisch* onderzoek. Er is binnen dit onderzoek een reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie*

Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld). De belangrijkste belanghebbenden in dit translationele project dat gericht is op de ontwikkeling van een effectief vaccin tegen HIV zijn de te beschermen personen, de proefdieren en het onderzoeksveld.

Voor de te beschermen personen is het beschikbaar komen van een effectief vaccin tegen HIV van groot belang, aangezien het infectie met HIV of anders het ontstaan van AIDS en sterfte kan voorkomen. Ook kan hierdoor gebruik van anti-virale middelen, met de daaraan verbonden hoge kosten en bijwerkingen, vermeden worden.

Het belang voor de samenleving is dat infectie met HIV en verspreiding van het virus onder de menselijke populatie voorkomen wordt. Dit resulteert in; een sterke verbetering van de gezondheid van grote groepen mensen, het voorkomen van sociale stigmatisering, een sterke beperking van de uitgaven voor begeleiding, verpleging en medicatie, en in "resource poor settings" minder sterfte ten gevolge van HIV infectie.

Waarden die voor proefdieren in het geding zijn: De integriteit van de dieren zal worden aangetast, de dieren zullen stress ondervinden, soms ziek worden en kunnen enige mate van pijn ondervinden.

Het onderzoeksveld krijgt nieuwe informatie die wordt gedeeld d.m.v. publicatie(s). Dit onderzoek kan leiden tot meer inzicht in het vermogen van diverse typen vaccins om diverse typen immuun responsen op te wekken en de immuun mechanismen die een rol spelen bij vaccin gemedieerde bescherming tegen infectie.

6. Is er aanleiding voor de DEC om de in de aanvraag beschreven effecten op het milieu in twijfel te trekken? Er zijn geen substantiële milieueffecten te verwachten binnen de kaders of ten gevolge van dit project.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn boven iedere twijfel verheven gezien de wetenschappelijke output, de verworven interne- en externe financiering alsmede de aandacht voor de drie V's.
8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. De DEC is er van overtuigd dat het projectvoorstel aansluit bij recente wetenschappelijke inzichten en geen hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten in de weg zullen staan. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen naar de mening van de DEC leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

- Bedreigde diersoort(en) (10e, lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e, lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV richtlijn (13c, lid 3)

De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor infectie met virussen die grote gelijkens met HIV vertonen en een vergelijkbaar ziektebeeld geven. Bovendien vertoont deze diersoort zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens. De kandidaat vaccins zijn tevoren gekarakteriseerd in *in vitro* en *in vivo* (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat vaccins te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccin kandidaten kunnen niet afdoende in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest met oog op bescherming tegen infectie in de mens. De resultaten verkregen in dit proefdiermodel kunnen de sterkte van de immuunrespons van de kandidaat HIV vaccins in de mens voorspellen. De eventuele nadelige effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van immuunresponsen en hun interactie met het infectieus agens) van de kandidaat vaccins kunnen in dit diermodel worden bepaald.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. De huisvesting en verzorging voldoet ten volle aan de vereisten in bijlage III.
11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe. Het ongerief is correct als matig ingeschat op basis van ervaring met vaccin evaluatie en SIV/SHIV infectie studies in niet-humane primaten en wordt veroorzaakt door de experimentele technieken, de vaccinaties en de klinische symptomen ten gevolge van de infectie. In combinatie zijn de gevolgen van deze handelingen terecht als matig ongerief ingeschat. Door implementatie van humane eindpunten op basis van klinische symptomen en hematologische parameters en door het aanhouden van een gelimiteerde infectie periode wordt ernstig ongerief vermeden. De dieren voor de experimenten zijn speciaal voor dit doel gefokt, en zullen als sociaal compatibel duo worden gehuisvest. Een dier kan door het uit studie nemen van de kooigenoot (ten gevolge van bereiken humaan eindpunt) gedurende een deel van de studie solitair gehuisvest zijn.
12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. De integriteit van de dieren wordt aangetast door de dieren te vaccineren en te infecteren met HIV en het eventueel nemen van biopten. De dieren worden aan het eind van de studie, of eerder bij het bereiken van een humaan eindpunt, gedood. Hierdoor wordt voorkomen dat de dieren de ziekte AIDS ontwikkelen. Ook indien na toediening van het virus in de dieren geen virus kan worden aangetoond of de dieren na enige tijd virus negatief worden is doden van de dieren noodzakelijk aangezien het virus nog steeds aanwezig kan zijn in de organen.
13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal

bereiken. Licht uw beoordeling toe. Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven (gebaseerd op algemene en specifieke criteria) en is de kans dat dieren een humaan eindpunt zullen bereiken adequaat ingeschat.

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Er is geen *in vitro* model beschikbaar waarin een immuunrespons kan worden opgewekt, of dat de beschermende werking van vaccins kan meten. Er kan veel informatie betreffende specificiteit en hoogte van de immuunrespons worden verkregen uit *in vitro* assays die zullen worden uitgevoerd met het materiaal afkomstig van de dieren, maar het gebruik van proefdieren kan nog niet worden overgeslagen. Of een vaccin bescherming kan bieden tegen HIV infectie kan alleen zinvol getest worden in niet humane primaten. De chimpansee is het enige dier dat met HIV-1 geïnfecteerd kan worden. Echter experimenten op chimpansees zijn niet toegestaan. Het enige alternatief vormt de infectie van makaken met Simian Immunodeficiency Virus (SIV) en HIV/SIV recombinant virussen (SHIV). Gehumaniseerde muizen modellen voldoen niet omdat het in deze dieren aangebrachte humane immuun systeem onvoldoende werkt om vaccins te kunnen testen. Voorwaarde voor vaccin studies in niet humane primaten is wel dat producten die in deze dieren getest gaan worden in het eindstadium van de ontwikkeling zijn. In de experimenten in niet-humane primaten kunnen inzichten in effectiviteit en mogelijke bijwerkingen naar voren komen die bij onderzoek met andere diersoorten gemist zouden zijn. Deze stap over te slaan en direct onderzoek met menselijke vrijwilligers te verrichten is in dit stadium van de vaccin ontwikkeling daarom dan ook niet verantwoord.
15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe. De proefopzet wordt telkens gebaseerd op de concrete experimentele vraagstelling. Het aantal te gebruiken dieren per behandelgroep wordt bepaald met behulp van statische powerberekeningen op basis van de verwachte effect grootte en spreiding van de data. Voor het bepalen van de te gebruiken hoeveelheid virus voor infectie (bijlage 2), wordt het aantal dieren beperkt door een gefaseerde uitvoering, waarbij eerst met grote verdunningsstappen in een beperkt aantal dieren een ruwe bepaling gedaan wordt en daarna in een beperkt tweede experiment waarbij een of twee dosis worden gebruikt een fijne afstemming plaats vindt. Bij het onderzoeken van meerdere vaccin kandidaten binnen een proefopzet zal het aantal controlegroepen beperkt worden.
16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe. De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, de dieren zijn bovendien getraind om zo veel mogelijk mee te werken aan bepaalde dier technische handelingen, waardoor ze minder stress ervaren. Sedatie en pijnbestrijding zullen worden toegepast wanneer geïndiceerd. Bij onverwacht grotere welzijnsaantasting dan voorzien zal een humaan eindpunt worden toegepast. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten.
17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe. N.v.t.

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in

voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. In onderhavige projectaanvraag worden dieren van beide geslachten gebruikt, tenzij vrouwtjes nodig zijn vanwege een intra-vaginale infectie methode.

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd. Wanneer het experiment wordt beëindigd voordat infectie met SIV of SHIV plaats vindt zullen de dieren in leven blijven. Dieren waarbij SIV of SHIV is toegediend zullen aan het einde van het experiment worden gedood. Hierdoor wordt voorkomen dat de dieren de ziekte AIDS ontwikkelen indien het vaccin niet beschermend blijkt te werken. Ook indien na toediening van het virus in de dieren geen virus kan worden aangetoond of de dieren na enige tijd virus negatief worden is doden van de dieren noodzakelijk aangezien het virus nog steeds aanwezig kan zijn in de organen. Deze dieren kunnen een risico vormen voor mens en de andere dieren. Daarnaast worden dieren ge-euthanaseerd wanneer humane eindpuntcriteria worden bereikt, dit om verder ongerief te voorkomen (zoals gedefinieerd in de projectaanvraag). Er wordt een passende dodingsmethode gebruikt (conform bijlage IV van de richtlijn).
20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is. Hergebruik wordt altijd overwogen en ook nagestreefd (binnen de kaders omtrent dierenwelzijn en wetenschappelijke kwaliteit).

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd? Naar de mening van de DEC beschrijft de niet-technische samenvatting het project inhoudelijk correct en in begrijpelijke taal.

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag. Rechtvaardigt het testen van nieuwe vaccins tegen HIV het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren of andere onderzoeks modellen.
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende.

De waarden voor de samenleving zijn gelegen in het ontwikkelen van vaccins tegen HIV. Momenteel is geen effectief vaccin beschikbaar en raken jaarlijks meer dan 2 miljoen mensen besmet met HIV. Meer dan 1 miljoen mensen overlijden jaarlijks aan de gevolgen van AIDS. De voordelen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten) als bevorderlijk voor het algemene welzijn van de samenleving (minder doden, minder zieken).

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze kunnen hierdoor ziek worden en enige pijn ondervinden door bloedafnames, injecties, biopten en infectie met SIV/SHIV. Dit resulteert in matig ongerief voor de dieren.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de werking van potentiële HIV vaccins en de respons van het immuunsysteem hierop, en in voorkomende gevallen ook de interactie tussen het virus en de gastheer. Dit is een voordeel voor het onderzoeksveld omdat niet-humane primaten goed modelleren voor deze fenomenen bij de mens en dit onderzoek ook bijdraagt aan extrapolatie naar de mens. Daarmee is dit onderzoek informatief en het is de uitdrukkelijke bedoeling om dit te publiceren.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van vaccins die beschermen tegen HIV infectie. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

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

Het onderzoek is van groot belang voor mensen, omdat het ontwikkelen van een effectief vaccin HIV infectie kan voorkomen. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in welke eigenschappen een vaccin moet hebben om effectief te kunnen beschermen tegen HIV en de onderliggende immuun-mechanismen van bescherming.

De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar de immunogeniciteit, veiligheid en effectiviteit van vaccins tegen infectieziekten, en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. Reeds meer dan 20 jaren wordt er in de instelling onderzoek verricht aan HIV-infectie en vaccins tegen HIV. De gekozen strategie voor infectie en vaccinatie, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit deze eerdere studies. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor infectie met sterk op HIV gelijkende virussen en de zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De kandidaat vaccins zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling. De kandidaat vaccins zijn tevoren gekarakteriseerd in *in vitro* en *in vivo* (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat vaccins te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte, alsmede de immuunresponsen, grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccin kandidaten kunnen niet in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest op bescherming tegen infectie in de mens. De effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van immuunresponsen en hun interactie met het infectieus agens) van de kandidaat vaccins kunnen in dit diermodel goed worden onderzocht en ook kunnen eventuele nadelige effecten aan het licht

komen. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD
 - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
 - 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.
 - Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist
 - Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...
 - De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
 - De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...
 - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...
 - De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...
2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus. De belanghebbende die lid is van de DEC heeft geen aandeel gehad in de totstandkoming van dit advies.
3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project. Er zijn geen knelpunten ondervonden; de inherente ethische dilemma's zijn hierboven uitgebreid uiteengezet.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**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
AVD [redacted] 20171544
Bijlagen
2

Datum 24 mei 2017
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 24 mei 2017. Het gaat om uw project "Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect project? against SIV/SHIV virus infection in macaques.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD5020020171544. 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

Datum:

24 mei 2017

Aanvraagnummer:

AVD [REDACTED] 20171544

Datum:
24 mei 2017
Aanvraagnummer:
AVC [redacted] 20171544

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: [redacted]

Naam instelling of organisatie: [redacted]

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: [redacted]

KvK-nummer: [redacted]

Straat en huisnummer: [redacted]

Postbus: [redacted]

Postcode en plaats: [redacted]

IBAN: [redacted]

Tenaamstelling van het
rekeningnummer: [redacted]

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [redacted]

Functie: Chairman

Afdeling: Virology

Telefoonnummer: [redacted]

E-mailadres: [redacted]

Datum:
24 mei 2017
Aanvraagnummer:
AVC [redacted] 20171544

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [redacted]
Functie: Section head Immunopathology
Afdeling: Virology
Telefoonnummer: [redacted]
E-mailadres: [redacted]

Gegevens gemachtigde

Naam: [redacted]
Postbus: [redacted]
Postcode en plaats: [redacted]

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Nee

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

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 januari 2018

Geplande einddatum: 1 januari 2023

Titel project: Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect project? against SIV/SHIV virus infection in macaques.

Titel niet-technische samenvatting: Onderzoek naar de werkzaamheid en effectiviteit van nieuwe HIV vaccins.

Naam DEC:

Postadres DEC:

E-mailadres DEC:

Datum:

24 mei 2017

Aanvraagnummer:

AVC [REDACTED] 20171544

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.287,-

De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen: Melding Machtiging
 DEC-advies

Ondertekening

Naam:

Functie: Adjunct Directeur

Plaats:

Datum: 1 mei 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**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
AVD [redacted] 20171544
Bijlagen
2

Datum 24 mei 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 24 mei 2017
Vervaldatum: 23 juni 2017
Factuurnummer: 171544

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD [redacted] 20171544	€ 1.287,00

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

**Antwoord op vragen van de CCD betreffende project aanvraag
AVD [REDACTED] 20171544 "Evaluation of novel HIV vaccine candidates for
immunogenicity and capacity to protect against SIV/SHIV virus infection in
macaques".**

Beste Leden van de CCD. Op onze project aanvraag AVD [REDACTED] 20171544
"Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to
protect against SIV/SHIV virus infection in macaques" hebben we een aantal vragen
ter verdere verduidelijking van u ontvangen. Hieronder vind u onze puntgewijze
beantwoording/verduidelijking (gewoon lettertype) op de door u gestelde vragen (vet
gedrukt)

**-Onderzoek met niet-humane primaten mag alleen worden
uitgevoerd als de doelstelling niet kan worden behaald met
een andere diersoort. U geeft in uw aanvraag weliswaar aan
dat het onderzoek niet in andere diersoorten uitgevoerd kan
worden, maar onderbouwt dit maar zeer beperkt. U wordt
(per diersoort) verzocht uitgebreider te onderbouwen
waarom andere diersoorten niet gebruikt kunnen worden.
Indien een deel van het vaccinonderzoek wel met een andere
diersoort uitgevoerd kan worden, wordt u verzocht dit ook te
beschrijven.**

De ontwikkeling van een nieuw kandidaat vaccin tegen HIV vindt in een aantal stadia
plaats. In eerste instantie wordt met behulp van in vitro analyse gekeken naar de
structurele eigenschappen van het vaccin en eventueel de interactie met diverse
celtypen. Vervolgens wordt in een diersysteem gekeken of het vaccin een immuun
respons kan opwekken. Hiervoor zijn diverse diersystemen geschikt. Deze
experimenten worden veelal in knaagdieren of konijnen verricht. Met behulp van deze
informatie wordt duidelijk of een vaccin kandidaat immunogeen is en of in principe
de gewenste immuun respons wordt geïnduceerd. Er zijn echter belangrijke
immunologische verschillen tussen knaagdieren/konijnen en de mens. Een
beschermend vaccin tegen HIV moet een zeer specifieke reactie oproepen die een
bepaald type T-cel respons (polyfunctionele CD4 en cytotoxische CD8 respons) en/of
antistof respons (gericht tegen bepaalde delen van het HIV envelop deel (o.a. V1V2),
waarbij de antistoffen daar ook op een bepaalde manier aan binden). Deze specifieke
responsen worden beïnvloed door de opbouw van het immuun systeem en kunnen
alleen volledig bestudeerd worden in de mens of in non humane primaten, aangezien
deze dieren wat betreft hun adaptieve en innate afweersysteem zeer grote
overeenkomsten vertonen met de mens. Direct testen in de mens is in dit stadium van
de vaccin ontwikkeling niet verantwoord. Er zijn te veel mogelijke vaccin kandidaten.
Het is in dit stadium nog niet voldoende duidelijk of al deze kandidaten ook in de
mens de gewenste immuun respons zullen opwekken. Ook kan in geen van de
bovenstaande diersoorten getest worden of de opgewekte immuunrespons(en)
voldoende is (zijn) om bescherming tegen infectie te kunnen geven. Alleen in non
humane primaten kan bescherming tegen infectie gemeten worden, aangezien alleen
non humane primaten gevoelig zijn voor virussen die in voldoende mate
overeenkomen met HIV bij de mens (dit zijn SIV waaruit het HIV-2 virus dat bij de
mens voorkomt ontstaan is en HIV/SIV recombinant virussen). Zoals in het

projectvoorstel is beschreven kunnen gehumaniseerde muizen geïnfecteerd worden met HIV-1. Echter in deze dieren is het humane immuun systeem onvoldoende gereconstitueerd om ook een goede immuun respons op te wekken naar vaccinaties. Dus alhoewel in dat model men wel onderzoek kan doen naar HIV-1 infectie kunnen HIV vaccins in dat model niet getest worden. Tenslotte is voorafgaand aan toepassing in de mens nadere analyse van mogelijke bijwerkingen nodig in een aan de mens verwant diermodel, aangezien sommige bijwerkingen juist naar voren kunnen komen wanneer het vaccin interacteert met een op de mens gelijkend immuun systeem. Alhoewel diverse diermodellen een rol spelen in HIV vaccin evaluatie is in het laatste stadium van de vaccin ontwikkeling, voorafgaand aan klinische evaluatie, testen in non humane primaten noodzakelijk aangezien alleen in dit model kan worden vastgesteld of het vaccin in een sterk op de mens gelijkend immuun systeem de gewenste immuun respons zal oproepen en of die respons ook bescherming tegen infectie kan geven en bovendien veilig zijn voor toepassing bij de mens. Bovendien kunnen risico's die ontstaan wanneer het vaccin de context van een humaan immuun systeem wordt toegediend alleen in dit model bepaald worden.

U beschrijft een aantal keuzemomenten en criteria op basis waarvan besluiten worden genomen. Een aantal criteria zijn niet of niet in voldoende mate beschreven.

Keuzemomenten:

1. Besluit om al dan niet door middel van experimentele infectie te testen of een vaccin bescherming kan bieden tegen infectie.
Na vaccinatie wordt zowel inductie van antistoffen als van cellulaire immuun responsen bestudeerd. Zoals in het format projectvoorstel dierproeven onder 3.4.1. is aangegeven wordt experimentele infectie allen uitgevoerd als duidelijk meetbare immuun responsen tegen het virus meetbaar zijn. In bijlage 1 staat beschreven dat deze immuun responsen voldoende sterk moeten zijn om aannemelijk te maken dat bescherming tegen infectie tot de mogelijkheden behoort. Welke responsen dit precies zijn hangt van het type vaccin af. Sommige vaccins zijn met name gericht op het induceren van een sterke cytotoxische T-cel respons die in een vroege fase van de infectie de met HIV geïnfecteerde cellen kan vernietigen. In dit geval is met name een polyfunctionele (productie van meerder cytokines per T-cel tegelijk) en inductie van een CD8 T-cel respons van belang. Indien deze respons duidelijk meetbaar aanwezig is zal worden over gegaan tot experimentele infectie. Bij vaccins die met name gericht zijn op inductie van neutraliserende antistoffen zal de neutraliserende capaciteit van de opgewekte immuun respons eerst in vitro bepaald worden. Er zal alleen tot experimentele infectie worden overgegaan indien neutraliserende activiteit gevonden is tegen het voor de infectie te gebruiken virus.
2. Besluit welk virus gebruikt gaat worden voor de experimentele infectie.
Het te gebruiken virus zal deels afhangen van het te testen vaccin. Een vaccin dat met name gericht is op inductie van een beschermende T-cel respons moet bescherming kunnen bieden tegen SIV. SIV is in dit geval het meest geschikte virus aangezien het wat betreft verloop van de infectie en ziekte beloop sterk vergelijkbaar is met HIV bij de mens. Voor een vaccin dat met name gericht is op inductie van neutraliserende antistoffen zal gekozen worden voor een recombinant virus, waarbij de envelop afkomstig is van HIV en de overige

structurele eiwitten van SIV (SHIV). Er zijn zowel makkelijk als moeilijk neutraliseerbare SHIVs. Zoals aangegeven onder 3.4.1. zal wanneer sprake is van een geheel nieuw vaccin concept waarover nog weinig informatie beschikbaar is in het algemeen gekozen worden voor een SHIV die homolog is aan het vaccin en meestal relatief makkelijk neutraliseerbaar is. Bij vaccine kandidaten die gebaseerd zijn op een vaccin strategie die reeds eerder, weliswaar in andere vorm, is toegepast zal gekozen worden voor heterologe, moeilijker neutraliseerbare virussen die dichter bij de virussen staan die in de humane populatie circuleerd.

3. Route van experimentele infectie en wijze van toediening.
Veruit de meeste infecties met HIV vinden plaats via de mucosa (zowel rectaal als vaginaal). Dit is dan ook de standaard te gebruiken route van infectie voor het testen van de beschermende werking van een vaccin. Bij deze wijze van infectie zal bij de mens normaal gesproken blootstelling aan een relatief geringe hoeveelheid virus plaats vinden. Doordat blootstelling echter meerdere malen plaats vindt kan uiteindelijk toch infectie optreden. Om dit te modelleren wordt bij non humane primaten daarom voor een repeated low dose challenge methode gekozen. Bij infectie via bloed/bloed contact worden waarschijnlijk relatief grote hoeveelheden virus overgedragen dat zich bovendien snel over het lichaam verspreidt. Bescherming tegen infectie door middel van vaccinatie zal zeer moeilijk te realiseren zijn. Echter onderdrukking van het virus door een vaccin dat een zeer sterke T-cel afweer oproept is misschien wel mogelijk. Alleen voor vaccin kandidaten die een zeer sterke T-cel respons oproepen kan deze route van infectie als test model gebruikt worden. Hierbij wordt gekozen voor een single high dose challenge methode.
4. Bepaling van de te gebruiken hoeveelheid virus (bijlage 2).
De te gebruiken hoeveelheid virus is direct gekoppeld aan het gekozen infectie model. Bij een repeated low dose challenge moet een dosis gekozen worden die 50% van de dieren infecteert per challenge. Er zijn dan gemiddeld 7 challenges nodig om 99% van de dieren (dus alle controle dieren) te infecteren. Indien in de gevaccineerde dieren significant meer challenges nodig zijn om de dieren te infecteren duidt dit op bescherming door het vaccin (zie 3.4.1). Bij een infectie model waarbij een eenmalige hoge dosis virus wordt gebruikt wordt meestal een 10 tot 20 keer hogere hoeveelheid virus gebruikt, zodat alle dieren binnen de controle groep geïnfecteerd zullen raken. In beide gevallen is bepaling van de dosis waarbij 50% van de dieren geïnfecteerd raken (MID_{50}) het uitgangpunt. Het keuzemoment bestaat er uit of voor de bepaling van de juiste hoeveelheid virus een of twee experimenten nodig zijn. Het eerste experiment betreft het toedienen van virus aan telkens twee dieren over een dose range van vier of meer 10 voudige verdunningen. Op deze manier kan met gebruik van een gering aantal dieren een ruwe schatting verkregen worden. Deze fase is alleen nodig als het virus preparaat nog niet eerder is gebruikt op ons of een ander instituut. Indien het virus preparaat al eerder is gebruikt op een ander instituut, maar niet op ons instituut dan is alleen fase twee noodzakelijk. In deze fase wordt maar 1 of hooguit 2 dosis van het virus gebruikt, maar dan in meerdere dieren per dosis. Op deze manier kan een exacte berekening van de MID_{50} plaats vinden.

-U geeft bijvoorbeeld aan dat immunogeniciteit van een

kandidaatvaccin bewezen moet zijn in andere diersoorten, tenzij dit niet mogelijk is vanwege het type vaccin. Aangezien u aangeeft dat onderzoek naar HIV vaccins niet in andere diersoorten plaats kan vinden, is de vraag in hoeverre vooronderzoek in andere diersoorten voorspellend is voor de effectiviteit van een kandidaatvaccin.

Onderzoek in andere diersoorten kan alleen aangeven of een vaccin een immuunreactie zal kunnen oproepen. Door deze eerste evaluatie in andere diersoorten zullen vaccins die niet voldoende immunogeen zijn afvallen en wordt voorkomen dat non humane primaten of de mens onnodig worden blootgesteld aan een vaccin dat totaal onwerkzaam is. Vervolgens kan alleen in non humane primaten vastgesteld worden of een vaccin ook effectief is (dus beschermen kan tegen infectie). Dit kan alleen in non humane primaten aangezien geen enkele andere diersoort gevoelig is voor infectie met virussen die in voldoende mate overeenkomen met HIV. Zowel HIV-1 als HIV-2 zijn uiteindelijk afkomstig van non humane primaten en vanuit deze dieren verspreid naar de mens.

-Het is bovendien onduidelijk op basis van welke criteria besloten wordt een vaccin dat niet eerst in andere diersoorten getest wordt, in niet-humane primaten te testen.

De voorwaarde waaraan een vaccin moet voldoen dat niet in andere diersoorten getest kan worden is dat in dit geval een sterk vergelijkbaar vaccin, gebaseerd op het zelfde concept, wel in andere diersoorten getest is en daar een goede immuun respons induceerde. Bijvoorbeeld een vaccin dat gericht is op een bepaald molecuul kan soms zo specifiek zijn dat het alleen dit molecuul in mensen en non humane primaten herkend. Echter het kan zijn dat een vergelijkbaar molecuul wel aanwezig is in andere diersoorten. In dit geval moet zijn aangetoond dat een vaccin dat het vergelijkbare molecuul herkend werkzaam is in deze andere diersoort.

-U geeft aan twee soorten makaken te gebruiken. Hoewel de voorkeur gaat uit naar rhesus makaken, zal indien nodig gebruik maken van een andere soort makaak (*Macaca fascicularis*). De beschreven criteria op basis waarvan besloten wordt voor een van beide soorten te kiezen, lijken niet dusdanig specifiek dat voorkomen kan worden dat een proef uiteindelijk in beide soorten uitgevoerd moet worden.

Beide makaak soorten kunnen gebruikt worden voor immunogeniciteit en effectiviteits studies. De immunologische responsen welke door vaccin kandidaten worden geïnduceerd zijn voor beide soorten gelijk. Vaccins worden ontwikkeld om immuun responsen op te wekken die het virus kunnen neutraliseren waardoor ze het lichaam niet kunnen binnendringen en dus niet (meer) infectieus zijn (zgn sterilizing immunity). Echter er worden ook immuun responsen geïnduceerd om reeds geïnfecteerd cellen (dus het virus is binnen gedrongen in het lichaam) op te ruimen. Met name deze zgn cellulaire immuun responsen zijn van belang om het virus in bedwang te houden zodat het zich niet, of minder snel verspreidt door het hele lichaam. Dit zou betekenen dat er minder snel AIDS verschijnselen zullen optreden.

Nu blijkt uit eerdere studies dat resus makaken (*M. mulatta*) gevoeliger zijn voor ziekte progressie (AIDS) nadat de dieren eenmaal geïnfecteerd zijn dan de Cynomolgous makaak (*M. fascicularis*). Willen we dus specifiek vragen beantwoorden over vaccin kandidaten die in staat zijn om immunologische responsen te induceren gericht op handhaving of vermindering van de virale load in de circulatie of in diverse weefsels, en dus het tegengaan of vermindering van ziekte progressie, dan zou de resus makaak hiervoor het beste diermodel zijn. Alleen in uitzonderlijke gevallen, namelijk wanneer een bepaald virus met name in cynomolgus apen zich vermenigvuldigt en daar AIDS induceert is zal voor deze diersoort worden gekozen. Uittesten in beide diersoorten zal nagenoeg niet voorkomen.

-U geeft aan dat er meerdere toedieningswijzen mogelijk zijn. In bijlage 3.4.4.2 wordt de mogelijkheid open gehouden om indien nodig 2 toedieningswijzen te testen. U beschrijft echter niet op basis van welke criteria besloten wordt een specifieke toedieningswijze te testen en hoe voorkomen wordt dat het nodig is de proef te herhalen met een andere toedieningswijze van virus.

U wordt verzocht bovengenoemde criteria (uitgebreider) te beschrijven.

Veruit de meeste infecties met HIV vinden plaats via de mucosa (zowel rectaal als vaginaal). Dit is dan ook de standaard te gebruiken route van infectie voor het testen van de beschermende werking van een vaccin. Bij deze wijze van infectie zal bij de mens normaal gesproken blootstelling aan een relatief geringe hoeveelheid virus plaats vinden. Doordat blootstelling echter meerdere malen plaats vindt kan uiteindelijk toch infectie optreden. Om dit te modelleren wordt bij non humane primaten daarom voor een repeated low dose challenge methode gekozen. Bij infectie via bloed/bloed contact worden waarschijnlijk relatief grote hoeveelheden virus overgedragen dat zich bovendien snel over het lichaam verspreidt. Bescherming tegen infectie door middel van vaccinatie zal zeer moeilijk te realiseren zijn. Echter onderdrukking van het virus door een vaccin dat een zeer sterke T-cel afweer oproept is misschien wel mogelijk. Alleen voor vaccin kandidaten die een zeer sterke T-cel respons oproepen kan deze route van infectie als test model gebruikt worden. Hierbij wordt gekozen voor een single high dose challenge methode.

Het is uit de literatuur gebleken dat voor een vaginale challenge ongeveer een 10 maal hogere virus dosis nodig is voor succesvolle infectie vergeleken met een rectale challenge. Het testen van effectiviteit van een vaccin of vaccinatie strategie zal of via rectale virus toediening of via vaginale virus toediening plaatsvinden. Het uittesten van beide mucosale toedieningsroute zal nagenoeg niet voorkomen.

-De NTS is erg lang. U wordt verzocht deze in te korten. U wordt daarnaast aangeraden de term statische analyse (4.2) aan te passen.

3.1 in ingekort tot:

Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), het verworven immuundeficiëntie syndroom, wordt veroorzaakt door een infectie met het Human Immunodeficiency Virus (HIV). AIDS is een ziekte met een lange incubatieperiode die zich binnen enkele decennia wereldwijd verspreid heeft. Momenteel zijn meer dan 37 miljoen mensen besmet met HIV. Het merendeel van de geïnfecteerde personen overlijdt doordat het virus het afweersysteem vernietigt. Het lijkt erop dat alleen vaccins de verspreiding van HIV/AIDS een halt kunnen toeroepen. Voor het uittesten van de werking van nieuwe HIV vaccin kandidaten is het nodig om deze te testen in HIV-diermodellen. HIV blijkt alleen mensen en chimpansees te kunnen infecteren. Echter er is een HIV achtig virus (Simian Immunodeficiency Virus: SIV) in makaken dat een vergelijkbaar ziektebeeld geeft als HIV infectie bij de mens. Met behulp van dit apenmodel kunnen de eigenschappen van HIV alsmede de manier waarop infectie met een dergelijk virus leidt tot de ziekte AIDS onderzocht worden. Tevens kan in dit model de beschermende werking van HIV vaccins onderzocht worden.

De meeste vaccins hebben als doel om een immuunrespons te stimuleren die erop gericht is te zorgen dat het virus de cel niet kan infecteren. Deze respons is gericht zijn tegen de buitenkant (de zgn. omhulsel of envelop) van het virus. Nu is de envelop van het SIV-virus verschillend van de envelop van HIV. Echter wetenschappers zijn erin geslaagd om het SIV van een HIV omhulsel te voorzien (SHIV) zodat vaccins gericht tegen de buitenkant van HIV kunnen worden getest in makaken. Sommige vaccins hebben als doel om immuun responsen te stimuleren die in staat zijn reeds geïnfecteerde cellen te herkennen en op te ruimen. Hierbij is de respons gericht tegen andere componenten van het virus die minder sterk verschillen tussen HIV en SIV. Hier kan prima gebruik gemaakt worden van SIV.

Het doel van dit project is om nieuwe HIV vaccins in apen te testen om vast te stellen of ze een goede afweerreactie tegen HIV opwekken en of het vaccin bescherming biedt tegen infectie.



Datum 07-06-2017
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven
AVD20171544

Advies aan CCD

B

Instelling: [REDACTED]
Onderzoeker: [REDACTED]
Project: Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect project? against SIV/SHIV virus infection in macaques.
Aanvraagnummer: AVD20171544
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categoriën: Translationeel of toegepast onderzoek

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

Proces	Het Secretariaat heeft de aanvrager vragen gesteld over het belang van het onderzoek, de onderbouwing voor het gebruik van niet-humane primaten en de criteria op basis waarvan besloten wordt vaccins te testen in primaten. De antwoorden zullen, indien mogelijk, mondeling in de vergadering worden ingebracht.
---------------	--

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		180	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		56	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

Huisvesting anders dan volgens bijlage III van de richtlijn.

CITAAT. Discomfort due to single housing as a result that his/her cage mate has to be euthanized before the end of the study. Introducing a new cage mate will result in more stress than single housing for the remaining period of the study.

Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

- 3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques / Rhesusapen (Macaca mulatta): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt. CITAAT. For experiments involving vaginal challenges, only female monkeys will be used. In other cases both male and female animals can be used. However, since there are immunobological differences between males and females we prefer that for each individual experiment either all animals are male or all are female. This choice is also important with regard to the amount of blood needed to perform all assays. Male animals are bigger than female animals and therefore more blood per time point can be drawn from males. In case assays need to be performed which consume large amounts of blood, male monkeys are preferred above females.
- 3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques / Rhesusapen (Macaca mulatta): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt. CITAAT. Both male and female animals can be used, except when an intra-vaginal is used.

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 een project waarbij niet-humane primaten worden gebruikt.

2 DEC advies

DEC-advies	<p>CITAAT.</p> <p>-Het directe doel van het project is het testen van nieuwe anti HIV vaccins op veiligheid en effectiviteit in niet-humane primaten. Het uiteindelijke doel is de implementatie van nieuwe vaccins ter bescherming van mensen tegen HIV infectie. Momenteel zijn meer dan 37 miljoen mensen besmet met HIV en worden jaarlijks meer dan 2 miljoen mensen besmet met HIV. Met de ontwikkeling van anti-virale medicijnen kan het virus in het merendeel van de HIV geïnfecteerde mensen goed onderdrukt worden. Echter het virus blijft aanwezig en moet constant onderdrukt worden door het levenslang gebruik van medicijnen. De kosten, problemen bij de distributie en de noodzaak om de medicijnen dagelijks in te nemen maken dat gebruik in met name derde wereld landen onvoldoende is, waardoor jaarlijks meer dan 1 miljoen mensen overlijden aan de gevolgen van AIDS. Met een effectief vaccin kan de verdere verspreiding van HIV voorkomen worden. De onderzoekers willen de veiligheid en effectiviteit van HIV vaccin kandidaten testen in niet-humane primaten als laatste stadium voor toepassing in de mens. Het betreft hier pre-klinisch onderzoek. Er is binnen dit onderzoek een reële relatie tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.</p> <p>-De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor infectie met virussen die grote gelijkenis met HIV vertonen en een vergelijkbaar ziektebeeld geven. Bovendien vertoont deze diersoort zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens. De kandidaat vaccins zijn tevoren gekarakteriseerd in in vitro en in vivo (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat vaccins te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccin kandidaten kunnen niet afdoende in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest met oog op bescherming tegen infectie in de mens. De resultaten verkregen in dit proefdiermodel kunnen de sterkte van de immuunrespons van de</p>
-------------------	---

kandidaat HIV vaccins in de mens voorspellen. De eventuele nadelige effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van immuunresponsen en hun interactie met het infectieus agens) van de kandidaat vaccins kunnen in dit diermodel worden bepaald.

-Er kan veel informatie betreffende specificiteit en hoogte van de immuunrespons worden verkregen uit in vitro assays die zullen worden uitgevoerd met het materiaal afkomstig van de dieren, maar het gebruik van proefdieren kan nog niet worden overgeslagen. Of een vaccin bescherming kan bieden tegen HIV infectie kan alleen zinvol getest worden in niet humane primaten. De chimpansee is het enige dier dat met HIV-1 geïnfecteerd kan worden. Echter experimenten op chimpansees zijn niet toegestaan. Het enige alternatief vormt de infectie van makaken met Simian Immunodeficiency Virus (SIV) en HIV/SIV recombinant virussen (SHIV). Gehumaniseerde muizen modellen voldoen niet omdat het in deze dieren aangebrachte humane immuun systeem onvoldoende werkt om vaccins te kunnen testen. Voorwaarde voor vaccin studies in niet humane primaten is wel dat producten die in deze dieren getest gaan worden in het eindstadium van de ontwikkeling zijn. In de experimenten in niet-humane primaten kunnen inzichten in effectiviteit en mogelijke bijwerkingen naar voren komen die bij onderzoek met andere diersoorten gemist zouden zijn. Deze stap over te slaan en direct onderzoek met menselijke vrijwilligers te verrichten is in dit stadium van de vaccin ontwikkeling daarom dan ook niet verantwoord.

Ethische afweging van de DEC:

1. Rechtvaardigt het testen van nieuwe vaccins tegen HIV het ongerief dat niet-humane primaten wordt aangedaan? Is het gebruik van niet-humane primaten in dit geval gerechtvaardigd of kan de gewenste informatie ook verkregen worden door het inzetten van andersoortige proefdieren of andere onderzoeks modellen.

2. De waarden voor de samenleving zijn gelegen in het ontwikkelen van vaccins tegen HIV. Momenteel is geen effectief vaccin beschikbaar en raken jaarlijks meer dan 2 miljoen mensen besmet met HIV. Meer dan 1 miljoen mensen overlijden jaarlijks aan de gevolgen van AIDS. De voordelen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten) als bevorderlijk voor het algemene welzijn van de samenleving (minder doden, minder zieken). Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te

laten ondergaan. Ze kunnen hierdoor ziek worden en enige pijn ondervinden door bloedafnames, injecties, biopten en infectie met SIV/SHIV. Dit resulteert in matig ongerief voor de dieren. De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de werking van

potentiële HIV vaccins en de respons van het immuunsysteem hierop, en in voorkomende gevallen ook de interactie tussen het virus en de gastheer. Dit is een voordeel voor het onderzoeksveld omdat niet-humane primaten goed modelleren voor deze fenomenen bij de mens en dit onderzoek ook bijdraagt aan extrapolatie naar de mens. Daarmee is dit onderzoek informatief en het is de uitdrukkelijke bedoeling om dit te publiceren. Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot het verkrijgen van vaccins die beschermen tegen HIV infectie. Het verwachte ongerief voor de dieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

3. De DEC concludeert dat de belangen van de samenleving die worden nagestreefd in dit project zwaarder wegen dan de belangen/waarden van de betrokken proefdieren. Het onderzoek is van groot belang voor mensen, omdat het ontwikkelen van een effectief vaccin HIV infectie kan voorkomen. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in welke eigenschappen een vaccin moet hebben om effectief te kunnen beschermen tegen HIV en de onderliggende immuun-mechanismen van bescherming. De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar de

immunogeniciteit, veiligheid en effectiviteit van vaccins tegen infectieziekten, en de vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten. Reeds meer dan 20 jaren wordt er in de instelling onderzoek verricht aan HIV-infectie en vaccins tegen HIV. De gekozen strategie voor infectie en vaccinatie, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit deze eerdere studies. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op

bewezen gevoeligheid voor infectie met sterk op HIV gelijkende virussen en de zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens. De dieren zijn specifiek gefokt

voor gebruik in onderzoek. De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De kandidaat vaccins zijn in gevorderde stadia van ontwikkeling. De kandidaat vaccins zijn tevoren gekarakteriseerd in in vitro en in vivo (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de

preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat vaccins te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte, alsmede de

immuunresponsen, grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccin kandidaten kunnen niet in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest op bescherming tegen infectie in de mens. De effecten (bijvoorbeeld als gevolg van de complexiteit van immuunresponsen en hun interactie met het infectieus agens) van de kandidaat vaccins kunnen in dit diermodel goed worden onderzocht en ook kunnen eventuele nadelige effecten aan het licht komen. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

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

De DEC heeft de aanvrager vragen gesteld over de volgende onderwerpen: innovatie op gebied van HIV vaccin ontwikkeling, nadere uitleg over wanneer SIV of SHIV gebruikt moet worden, criteria voor het overgaan tot experimentele infectie (wanneer is een immuun respons adequaat om te gaan testen of bescherming tegen infectie gevonden kan worden), het belang van een juiste bepaling van de te gebruiken hoeveelheid virus voor challenge, aanvullende uitleg over de twee fase benadering voor bepaling van de benodigde hoeveelheid virus, aanvullende informatie over verfijning en humane eindpunten.

Het DEC advies is Positief

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	Het DEC-advies is volledig.
	Er zijn DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid. CITAAT. Een van de DEC leden was betrokken bij de aanvraag. Deze persoon heeft zich teruggetrokken van de vergadering bij de bespreking van de aanvraag en overigens geen aandeel gehad in de afweging en advisering.
Het DEC advies is helder en volledig.	

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	<p>CITAAT.</p> <p>The goal of this project is to evaluate novel HIV vaccine candidates for occurrence of adverse effects, immunogenicity and capacity to protect against SIV/SHIV infection in macaques. The ultimate goal is to develop an HIV vaccine that can induce an immune response that is sufficiently broad to provide protection against different HIV variants and can provide a degree of heterogeneous protection that would lead to reduced morbidity and mortality caused by AIDS.</p> <p>The goal of the project can be divided in 2 sub-goals:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Vaccine evaluation. Safety, immunogenicity and efficacy to protect against infection will be evaluated using an appropriate SIV/SHIV virus challenge strain in relation to the type of vaccine being used.2. Set-up infection model for SIV/SHIV viruses that have not yet been used in NHP at our institute and that are needed for vaccine evaluation (sub-goal 1) and refinement of SIV/SHIV virus infection models. For refinement the optimal dose and optimal route of infection will be investigated in order to improve the assessment of vaccine efficacy.

Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	<p>CITAAT.</p> <p>One key step in the process of vaccine development is the use of animal models, in which vaccine candidates can be properly evaluated to make a rational selection of vaccine candidates for subsequent clinical evaluation possible and where correlates of protection can be studied. Macaques are the current 'gold standard' animal species for testing HIV vaccines. Vaccine studies in macaques can be modelled based on the patient cohort to be used in clinical trials as most modes of HIV transmission including mother to child, hetero or homosexual transmission and intravenous drug use can be mimicked by varying the route (oral, vaginal, penile, rectal or intravenous) and amount of virus inoculum (single high dose versus repeated low dose) used to challenge vaccinated animals. The ability of the vaccine to prevent or delay virus acquisition, control virus replication and disease progression can then be determined. These virological outcomes are used to compare the relative efficacy of different vaccine strategies, and should guide the choice of HIV vaccines to be advanced to clinical trials. Thus this project is very important in contributing to a solution of one of the global health issues: HIV/AIDS by finding a vaccine, or vaccination strategy, which will stop the spread of the HIV pandemic. Furthermore, this project will result in important scientific findings: safety and immunogenicity of new vaccine platforms together with the fact that potentially effective vaccine candidates might improve our knowledge on mechanism(s)/correlates of protection. With this knowledge, even better and more effective vaccines can then be developed.</p>
Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Voldoende onderbouwd.
<p>Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek</p>	<p>De DEC zegt hierover het volgende: De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn boven iedere twijfel verheven gezien de wetenschappelijke output, de verworven interne- en externe financiering alsmede de aandacht voor de drie V's.</p> <p>Het Secretariaat heeft geen reden hier aan te twijfelen.</p>
<p>3V's Vervanging</p>	
	<p>3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques: CITAAT.</p> <p>The immune system is very complex and the in vivo interactions between virus and/or vaccine and host are not completely understood. At present, there is no in vitro model available that can mimic the human immune system sufficiently to study the potential of a vaccine to induce protective immune responses. Due to the complex interaction of HIV with different</p>

tissues and the role of local immunity in eradication of the virus, the efficacy of an HIV vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal model. HIV can only infect humans and chimpanzees and no other species. However, infection of non-human primates (NHP), such as macaques, with Simian Immunodeficiency Virus (SIV) leads to a disease that is similar to AIDS induced by HIV in humans. NHP have an immune system that most closely resembles that of humans. Also, the availability of many cross-reactive reagents makes it possible to study in detail the contribution of the innate immune system and to analyse vaccine induced immune responses and evaluate their role in the control of infection. In addition, vaccine strategies that aim to trigger immune responses through targeting of specific cell surface molecules or innate immune receptors have either limited cross reactivity to other animal species or trigger different cell types or different responses because of differences in receptor expression pattern or cell signalling pathways. These aspects are essential for the evaluation of HIV vaccines. For these types of vaccines new vaccination strategies as well as vaccine modalities are used that aim for the induction of cross protective cellular immune responses or induction of broadly cross neutralizing antibody responses or non neutralizing antibody responses that become effective through interaction with innate immune cells. Here, the close homology between the immune system in NHP and humans is essential for proper induction and adequate analysis of these responses, allowing a better extrapolation to the human situation. Evaluation in NHP is therefore needed before clinical evaluation in humans can start. Other attempts for studying HIV-1 infection in small animals such as rats, mice, rabbits or cats were performed without success. The development of humanized mice, that are reconstituted with human immune cells, has made it possible to study HIV-1 infection and answer some specific research questions. However, their development requires complex surgical engineering. Moreover, they need to be generated de novo for each experiment, being tailored according to the immunological requirements of the research. In addition, anatomical differences exist, for example at the level of lymphoid organs that are not fully

	<p>developed and a lack of several human immune cell lineages, in particular related to innate immune responses (Garcia et al, 2016).</p>
	<p>3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques: CITAAT. Due to the complex interaction of SIV (as a model virus for HIV) with different tissues and the role of both systemic and local immunity in blocking virus transmission the efficacy of an HIV vaccine to protect against infection can only be adequately established in an animal infection model. Macaques are the only species susceptible for SIV/SHIV infection and therefore are the only animals which can be used to evaluate HIV vaccine candidates for their efficacy against SIV/SHIV. Furthermore the NHP have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine evaluation (explained in bijlage 1), as well as for the infection with SIV/SHIV, since development of a productive infection is dependent on the interaction between the virus and its target cells at the site of exposure as well as the local response of the innate and adaptive immune system. In order to test the efficacy of a vaccine candidate against a virus, one must establish first the virus dose to infect animals via a certain administration/infection route. When animals will be challenged with a (too) high amount of challenge virus, then a potential positive vaccine effect will not be observed because all animals will be infected. In case a too low amount of virus is used as challenge dose, the number of infected animals will be too low in the control group and a difference between vaccinated and non-vaccinated animals can no longer be observed. Thus, first a virus titration study has to be performed to find the optimal infectious dose via a given route of administration/infection before this challenge dose can be applied in a vaccine efficacy study. As explained in bijlage 1, these aspects are especially important for the evaluation for HIV vaccines. The proper evaluation of these vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here.</p>

Verminderen	<p>3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques: CITAAT.</p> <p>The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant level of protection or reduction in virus load in the circulation between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Since historical data are available on infection in unvaccinated animals (bijlage 2), usually less animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups. Furthermore, we aim to evaluate multiple vaccine candidates in a single experiment, so that a single challenge control group can be used. This has to be weighed against the fact that in order to obtain significant differences in immune response between the vaccine groups, more animals per vaccine group may be needed.</p>
	<p>3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques: CITAAT.</p> <p>Experience from previous experiments has shown that the virus titration experiments described under A allow us to establish a MID50 value that is sufficiently reliable to be used for subsequent vaccine efficacy evaluation, with the use of a minimum number of animals. When a new virus or virus stock is used, for which there are no preliminary data available 12 to 16 animals suffice. Using the two-phase approach, a reduction of animals can be achieved: in the first phase, 2 animals per virus dilution (using 4 different dilutions) will give a rough estimation in the amount of virus dose needed to infect the animals. In the second phase, 4 to 8 animals are then sufficient to find the optimal infectious dose. For viruses for which more information is available a limited amount of 4 to 8 animals will suffice.</p>

Verfijnen	<p>3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques: CITAAT. Before start of the experiment socially compatible animals will be selected to make social housing throughout the full length of the study possible. Furthermore, animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handlings, such as receiving the sedation. Another contribution to refinement will be the go/no go decision regarding challenging the animals depending on the immunological outcome of the vaccinations: only in case of vaccine induced immune responses against the virus, animals will be challenged. Otherwise no challenge will take place. Finally the 10w dose challenge model is also a form of refinement. This challenge model mimics the human situation of becoming infected, and increases the change to find (a level of) protection.</p>
	<p>3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques: CITAAT. Before start of the experiment socially compatible animals will be selected to make social housing throughout the full length of the study possible. Furthermore, animals are trained to cooperate as much as possible for the invasive handlings, such as receiving the sedation. Because the purpose is to find the optimal virus dose for challenge studies, the animals in titration studies will be euthanized as soon as the animals becomes clearly virus positive. Therefore, no long follow up period is required thus avoiding the animals to stay in study for an extended period of time and thus also avoiding the chance that (some) animals will develop AIDS. During the studies, animals will be monitored for clinical chemistry and haematology to avoid potential disease development. All handlings will be performed under sedation.</p>
<p>Wettelijk vereist onderzoek Indien ja, is er sprake van herhaling?</p>	<p>Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.</p>
<p>Hergebruik</p>	<p>Er is sprake van hergebruik van dieren.</p>

3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques: CITAAT. In case the decision has been made to continue to challenge, all animals will be euthanized at the end of the study. Once animals become infected with SIV/SHIV different tissues/celis contain the virus even if no virus is present in the circulation. These latently infected cells can become active and start producing virus due to yet unknown stimuli. Therefore these animals cannot be re-used for other (non HIV related) studies. In case no challenge will take place, the animals can be re-used in non-HIV related studies.

3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration)in macaques: CITAAT. Animals that will be used in these experiements, have possibly been used in previous experiments. Animals that have been involved in previous HIV vaccine studies or that have pre-existing antibodies against HIV are not suitable. In view of the long life of the animals of this species reuse of animals will take place within the limitations described in art le of the Wet op de Dierproeven.

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration)in macaques	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques	<p>HEP: CITAAT. The percentage of animals reaching the end point (AIDS) will depend on the virus being used. Some SIV/SHIV viruses will only cause none to minimal effect while other viruses are more pathogenic. Even with pathogenic viruses AIDS symptoms will usually not develop before 26 weeks post infection. Usually the follow up period after SHIV infection is shorter than 26 weeks meaning that < 1% of the animal will face AIDS like symptoms. In case of SIV infection < 25% of the animals will face AIDS like symptoms in the timeframe as mentioned.</p>	<p>CITAAT. Animals are monitored daily. In case the first clinical symptoms of AIDS become manifest (animals suffer from chronic diarrhoea and show more than 10% body weight loss in combination with abnormal haematology parameters: these are AIDS-defining conditions and are "criteria for euthanasia"), the animals will be euthanized. In case an animal becomes sick but not related to the vaccination, and cannot be treated than the animal will be euthanized as well.</p>
Rhesusapen (Macaca mulatta)	<p>Ongerief: 100% Matig</p>	

3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques	HEP: Zie 3.4.4.1.	Zie 3.4.4.1.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: 100% Matig	

5 Samenvatting

Dit project is gericht op de ontwikkeling van een HIV vaccin. Hiervoor worden niet-humane primaten gebruikt.

Onderzoek met niet-humane primaten mag alleen uitgevoerd worden als wetenschappelijk kan worden onderbouwd dat het doel van het project niet kan worden bereikt anders dan met niet-humane primaten. De aanvrager geeft weliswaar aan dat het onderzoek niet in andere diersoorten uitgevoerd kan worden, maar onderbouwt dit niet. Het Secretariaat is van mening dat de aanvrager niet voldoende onderbouwd heeft waarom (een deel) van dit onderzoek niet in andere diersoorten plaats kan vinden. Het Secretariaat heeft de aanvrager daarom gevraagd dit beter te onderbouwen.

Het Secretariaat heeft de aanvrager bovendien gevraagd het belang van het onderzoek beter te onderbouwen. De aanvrager geeft in de aanvraag aan dat het gebruik van combinatietherapie er weliswaar toe leidt dat het virus niet langer detecteerbaar is in bloed, maar dat er nog wel sprake is van chronische ontsteking en mortaliteit. Het is volgens de aanvrager daarom nog steeds noodzakelijk een vaccin te ontwikkelen tegen HIV. Verdere onderbouwing ontbreekt. In publicaties wordt echter gesuggereerd dat door de introductie van antiretrovirale combinatietherapie een hiv-infectie in Nederland veranderd is van een dodelijke ziekte in een chronische aandoening met een vrijwel genormaliseerde levensverwachting. Gezien de maatschappelijk zorg rond het gebruik van niet-humane primaten dient de aanvrager beter uit te leggen waarom het nog desondanks nog steeds noodzakelijk is om een vaccin te ontwikkelen voor HIV in apen. Het Secretariaat heeft de aanvrager gevraagd dit toe te lichten.

De aanvrager beschrijft een aantal keuzemomenten en criteria op basis waarvan besluiten worden genomen. Het Secretariaat is van mening dat een aantal criteria niet of niet in voldoende mate zijn beschreven. De aanvrager geeft bijvoorbeeld aan dat immunogeniciteit van een kandidaatvaccin bewezen moet zijn in andere diersoorten, tenzij dit niet mogelijk is vanwege het type vaccin. Aangezien de aanvrager aangeeft dat onderzoek naar HIV niet in andere diersoorten plaats kan vinden, is de vraag in hoeverre vooronderzoek in andere diersoorten voorspellend is voor de effectiviteit van

een vaccin in niet-humane primaten. Het is niet duidelijk of er nog aanvullende criteria zijn? Het is bovendien onduidelijk op basis van welke criteria besloten wordt een vaccin dat niet eerst in andere diersoorten getest wordt, in niet-humane primaten te testen.

De aanvrager geeft aan twee soorten makaken te gebruiken. Hoewel de voorkeur gaat uit naar rhesus makaken, zal indien nodig gebruik maken van een andere soort makaak (*Macaca fascicularis*). Het is echter niet geheel duidelijk op basis van welke criteria besloten wordt de andere soort te gebruiken?

Tot slot geeft de aanvrager aan dat er meerdere toedieningswijzen mogelijk zijn. In bijlage 3.4.4.2 wordt de mogelijkheid open gehouden om indien nodig 2 toedieningswijzen te testen. De aanvrager beschrijft echter niet op basis van welke criteria besloten wordt een specifieke toedieningswijze te testen en hoe voorkomen wordt dat het nodig is de proef te herhalen met een andere toedieningswijze.

Het Secretariaat heeft de aanvrager gevraagd bovengenoemde criteria te beschrijven.

Er is sprake van de volgende bijzondere categorie handelingen: huisvesting anders dan volgens bijlage III van de richtlijn. Dieren worden in principe met een kooigenoot worden gehuisvest. Indien een van de twee dieren een humaan eindpunt bereikt, zal het overgebleven dier echter gedurende het resterende deel van de studie solitair gehuisvest zijn. De aanvrager geeft aan dat het introduceren van een nieuwe kooigenoot meer stress oplevert voor het dier dan individuele huisvesting. Het Secretariaat heeft hier geen bezwaar tegen.

Vanwege het gebruik van niet-humane primaten moet na afloop van het project een beoordeling achteraf plaatsvinden.

De antwoorden op de gestelde vragen zijn van belang voor de beoordeling van deze aanvraag. Deze antwoorden zijn echter nog niet ontvangen. Deze zullen, indien mogelijk, mondeling in de vergadering worden ingebracht.

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat adviseert dit project alleen toe te wijzen als de aanvrager voldoende kan onderbouwen wat het belang is van het onderzoek en waarom het gebruik van niet-humane primaten noodzakelijk is. Indien de aanvraag vergund wordt, is het voorstel om de vergunning te verlenen van 1-1-2018 tot en met 31-12-2022. Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

Dit project wordt voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk december 2023 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen 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.

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

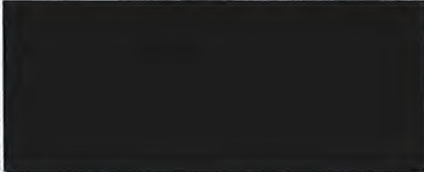
In artikel 10, lid 1 sub a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren 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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.

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

7 Concept beschikking voor akkoord CCD



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**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
AVD: 20171544
Bijlagen

1

Datum 13 juli 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Op 24 mei 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect project? against SIV/SHIV virus infection in macaques." met aanvraagnummer AVD5020020171544. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 28 juni 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Op ons verzoek heeft u verhelderd waarom uw onderzoek niet met een andere diersoort dan met niet-humane primaten kan worden uitgevoerd, heeft u de keuzemomenten en bijbehorende criteria nader beschreven, en heeft u de NTS ingekort.

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.

De algemene voorwaarde(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

U kunt met uw project "Evaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect project? against SIV/SHIV virus infection in macaques." starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022. Deze termijn is anders dan in uw aanvraag, omdat een vergunning niet voor langer dan vijf jaar mag worden afgegeven.

De tijdelijke individuele huisvesting van de dieren, bij uitval van kooigenoten, is besproken. Plaatsen bij een andere kooigenoot zal meer stress opleveren.

Tijdelijke individuele huisvesting van de dieren is om deze reden accoord bevonden.

Datum:
13 juli 2017
Aanvraagnummer:
AVD 20171544

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er 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.

Beoordeling achteraf dient plaats te vinden wegens gebruik van niet-humane primaten.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-BPRC gevoegd. Dit advies is opgesteld op 22 mei 2017. 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 over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

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.

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).

Datum:

13 juli 2017

Aanvraagnummer:

AVD [REDACTED] 20171544

Centrale Commissie Dierproeven

na

ir.

Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam:

Adres:

Postcode en plaats:

Deelnemersnummer:

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 januari 2018 tot en met 31 december 2022, voor het project "Évaluation of novel HIV vaccine candidates for immunogenicity and capacity to protect project? against SIV/SHIV virus infection in macaques." met aanvraagnummer AVI [REDACTED] 0171544, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-BPRC. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Chairman. De aanvraag omvat de volgende beschelden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 24 mei 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per brief op 24 mei 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per brief op 24 mei 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 22 mei 2017, ontvangen op 24 mei 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 28 juni 2017

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1. Vaccine evaluation in macaques				
	Rhesusapen (Macaca mulatta) /	180	100% Matig	
3.4.4.2. SIV/SHIV virus infection (titration) in macaques				
	Rhesusapen (Macaca mulatta) /	56	100% Matig	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

Dit project wordt voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk december 2023 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen 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.

Aanvraagnummer:

AVI [REDACTED] 0171544

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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:

AVI [REDACTED] 20171544

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

Aanvraagnummer:

AVD [REDACTED] 0171544

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.