

Inventaris Wob-verzoek W21-04		wordt verstrekt				weigeringsg ronden				
nr.	documenten NTS20172645	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.2, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	Aanvraagformulier				x		x		x	
2	Projectvoorstel				x		x		x	
3	Niet-technische samenvatting oud			x						
4	Bijlage dierproeven 1				x				x	
5	Bijlage dierproeven 2			x						
6	DEC-advies				x		x		x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x			
8	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x			
9	Reactie aanvulling aanvraag				x		x			
10	Niet-technische samenvatting nieuw	x								
11	Advies CCD				x					
12	Beschikking en vergunning				x		x			

Inventaris Wob-verzoek W21-04									
		wordt verstrekt			weigeringsg ronden				
nr.	documenten NTS20172645	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 oud			x					
4	Bijlage dierproeven 1				x			x	
5	Bijlage dierproeven 2			x					
6	DEC-advies				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x		
8	Verzoek aanvulling aanvraag				x		x		
9	Reactie aanvulling aanvraag				x		x		
10	Niet-technische samenvatting nieuw	x							
11	Advies CCD				x				
12	Beschikking en vergunning				x		x		

2645

Dec



Centrale Commissie Dierproeven

1

05 SEP. 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 50200 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen																								
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">Naam instelling of organisatie</td> <td colspan="2">Biomedical Primate Research Centre</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td colspan="2">41146967</td> </tr> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Lange Kleiweg</td> <td>161</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td colspan="2">3306</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>2288 GJ</td> <td>Rijswijk</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td colspan="2">Stichting Biomedical Primate Research Centre</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e		KvK-nummer	41146967		Straat en huisnummer	Lange Kleiweg	161	Postbus	3306		Postcode en plaats	2288 GJ	Rijswijk	IBAN	10.2.g		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre	
Naam instelling of organisatie	Biomedical Primate Research Centre																									
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	10.2.e																									
KvK-nummer	41146967																									
Straat en huisnummer	Lange Kleiweg	161																								
Postbus	3306																									
Postcode en plaats	2288 GJ	Rijswijk																								
IBAN	10.2.g																									
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Stichting Biomedical Primate Research Centre																									
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.e</td> <td>X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.e	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.g										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.e	X Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.																								
Functie	10.2.g																									
Afdeling	10.2.g																									
Telefoonnummer	10.2.e																									
E-mailadres	10.2.g																									
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.e</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.e	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.g										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.e	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.																								
Functie	10.2.g																									
Afdeling	10.2.g																									
Telefoonnummer	10.2.e																									
E-mailadres	10.2.g																									
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td style="width: 150px;">(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.g</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.g		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.g										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.																								
Functie	10.2.g																									
Afdeling	10.2.g																									
Telefoonnummer	10.2.e																									
E-mailadres	10.2.g																									

- 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 15 - 11 - 2017

Einddatum 14 - 11 - 2022

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken.

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken.

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

Naam DEC 10.2.g

Postadres

E-mailadres 10.2.e

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1287,- Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.
 Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- Bijlage 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 10.2.e en 10.2.g

Functie

Plaats Rijswijk

Datum 04 - 09 - 2017

Handtekening 10.2.e en 10.2.g



Format Projectvoorstel dierproeven

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

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 50200
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 Vul de titel van het project in. Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken.

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

Tuberculose, een wereldwijd probleem.

Tuberculose (TB) is in grote delen van de wereld onder kinderen en volwassenen nog steeds één van de belangrijkste dodelijke besmettelijke ziekten. Cijfers van de Wereld Gezondheidsorganisatie (WHO) van 2015 illustreren de omvang van het probleem: er waren 10,4 miljoen nieuwe TB gevallen en 1,8 miljoen mannen, vrouwen en kinderen overleden aan de gevolgen van TB. Naast het hoge sterftcijfer is in de westerse wereld met name het economische verlies door TB een aanzienlijk probleem. Wereldwijd zijn naar schatting 2 miljard (1) mensen latent geïnfecteerd (sub-klinische manifestatie). Zij zijn weliswaar niet ziek, maar vormen als dragers een voortdurend reservoir voor verspreiding van de infectie. Co-morbiditeit ten gevolge van bijvoorbeeld diabetes of co-infectie met bijvoorbeeld met HIV en ook veroudering en immuunsuppressie zijn belangrijke risicofactoren voor het ontwikkelen van TB en de verdere verspreiding ervan. De toenemende ontwikkeling van drug-resistente stammen betekent een verdere verslechtering van de situatie voor wat betreft de wereldwijde TB epidemie. Ondanks de wijde verspreiding van TB infectie (actief danwel latent) zijn er opmerkelijke populaties van mensen die ondanks een hoge mate van blootstelling aan TB (mijnwerkers, duikboot-personeel, familiecontacten) niet ziek worden noch geïnfecteerd raken, hetgeen illustreert dat niet alleen bescherming tegen ziekte maar ook bescherming tegen infectie mogelijk is. De WHO heeft in het pamflet 'The End TB Strategy' (1) doelen gesteld voor de bestrijding van TB, waarbij in 2035 het aantal TB doden met 95% moet zijn afgenomen.

Deze ambitieuze doelstelling ten spijt, is de ontwikkeling van verbeterde profylactische en therapeutische behandelmethodes niet eenvoudig. Onze kennis van de mechanismen van het ziekteproces en van beschermende immuniteit is incompleet. Er is niet één enkel mechanisme en geen éénduidig signaalprofiel aan te wijzen dat voldoende verklaart of voorspelt wat de uitkomst van TB infectie voor de individuele gastheer is. Daarom is er op voorhand geen sluitende rationale op grond waarvan vaststaat dat een nieuwe profylaxe of therapie werkzaam zal zijn en daarom zijn verder klinisch en preklinisch onderzoek en empirische benaderingen in diermodellen noodzakelijk.

Waarvoor wordt TB veroorzaakt en waaruit bestaat de huidige behandeling?

TB is een infectieziekte die kan ontstaan na besmetting met een bacterie van het geslacht *Mycobacterium*. *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) is hiervan de voornaamste vertegenwoordiger als het gaat om TB bij de mens. Een deel van de geïnfecteerden zal na (primaire) infectie progressief actieve TB ontwikkelen. In een groot deel, echter, zal de infectie zich subklinisch manifesteren (latente TB infectie, LTBI). LTBI kan op enig later moment tot actieve TB leiden, vaak in de context van een verminderde afweer zoals bij HIV co-infectie.

De mycobacterie heeft een relatief groot genoom en met meer dan 4000 genen beschikt de bacil over een groot arsenaal om zich aan de gastheer aan te passen en het afweersysteem te omzeilen. TB is uiteindelijk het netto resultaat van infectie en groei van de mycobacterie en de reactie van het immuunsysteem van de gastheer die probeert deze groei te beteugelen. De immunrespons van de gastheer kan immers collateraal aanzienlijke schade aan de eigen weefsels aanrichten.

Preventieve vaccinatie is de meest effectieve en goedkoopste strategie om TB verspreiding terug te dringen. Het enige huidig beschikbare vaccin is het bijna 100 jaar oude Bacille Calmette-Guérin (BCG): een levende, verzwakte stam van het aan *Mtb* verwante *M.bovis*. BCG wordt jaarlijks aan 100 miljoen pasgeborenen over de hele wereld toegediend. Echter, BCG vaccinatie is maar gedeeltelijk effectief. Ofschoon het naar schatting jaarlijks meer dan 100.000 gevallen van kindersterfte voorkomt, werkt het niet tot maar zeer beperkt tegen de meest voorkomende manifestatie van TB: longziekte op (jong)volwassen leeftijd (2, 3). Men acht met name (jong)volwassenen met open long TB verantwoordelijk voor de verspreiding van *Mtb*.

Naast een preventief vaccin zijn uiteraard ook anti-mycobacteriële therapeutica beschikbaar. De huidige eerstelijnsbehandeling voor TB bestaat uit een cocktail van antibiotica die uitzonderlijk lang, tenminste gedurende 6 maanden (1), dagelijks ingenomen moet worden. Daarmee wordt ongeveer 85-90% van de patiënten genezen. Tien tot 15% van de patiënten geneest echter niet, veelal doordat zij een drug-resistente infectie hebben. Dit laatste betreft jaarlijks ongeveer 500.000 mensen. Behandeling van patiënten met een multi-drug resistente infectie (MDR-TB), of ernstigere, extensieve drug resistentie

(XDR-TB), kan een periode tot wel 2 jaar (!) in beslag nemen en leiden tot langdurige ziekenhuisopname. MDR-TB behandeling gaat gepaard met aanzienlijke bijverschijnselen en geneest uiteindelijk slechts de helft van deze patiëntengroep.

Drug-resistente TB bedreigt met name ook de westerse wereld; het is opmerkelijk dat de hoogste incidentiecijfers van MDR-TB en XDR-TB worden gemeten in landen in het oostelijk Europees gebied (o.a. de Baltische staten en Rusland).

Nieuwe vaccinatie strategieën en behandelmethoden

Epidemiologische en mathematische modellen van TB infectie en vaccinatie laten zien dat de grootste effecten t.a.v. het terugdringen van de TB epidemie kunnen worden behaald met een nieuw vaccin dat een TB infectie voorkomt (4, 5). De huidige vaccinontwikkelingsstrategieën kunnen grofweg in 3 categorieën worden ingedeeld: 1) het ontwikkelen van een verbeterd (primair) vaccin dat BCG kan vervangen, 2) het ontwikkelen van een zogenaamd booster vaccin dat de door BCG opgewekte anti-mycobacteriële respons kan versterken, en 3) een combinatie van deze beide. Het lijkt niet mogelijk om een eerdere BCG vaccinatie te versterken door op latere leeftijd nogmaals BCG te geven. Een BCG booster vaccin zal dus speciaal voor dit doel ontwikkeld moeten worden.

Terwijl de ontwikkeling van nieuwe, kosteneffectieve vaccins een dringende noodzaak is, zijn ook nieuwe TB behandelingen zeer gewenst. Als voorbeeld daarvan komt, ingegeven door het succes in de oncologie, modulatie van de immuunrespons van de gastheer ter bestrijding van TB meer en meer onder de aandacht (6, 7). Granulomen zijn complexe structuren van mycobacteriën en verschillende typen immuuncellen. De mycobacteriën creëren een milieu waarin ze goed gedijen of zich soms jarenlang schuil kunnen houden, waarbij ogenschijnlijk ook de gastheerrespons in hun voordeel wordt gereguleerd (7). Modulatie van de gastheerrespons, evenwel, kan het aangrijpingspunt zijn om de anti-mycobacteriële respons te versterken en/of de schadelijke neveneffecten (pathogenese) te dempen. Zeer recent worden zowel immuunmodulatoire regimes alsook vaccins in therapeutische setting nadrukkelijk beschouwd voor toepassing in combinatie met antibiotica. Het uitgangspunt bij zo'n combinatie-therapie is enerzijds om reactivatie na antibioticumbehandeling terug te dringen en anderzijds om de duur van het gebruik van antibiotica (met hun bijwerkingen en risico op resistentie bij langdurig gebruik) te verkorten.

Diermodellen voor TB

Mtb is, als eerder vermeld, de meest voorkomende verwekker van TB bij de mens. Maar mensen kunnen ook ziek worden van andere *Mycobacterium* soorten, zoals bijvoorbeeld *M.bovis* (dat doorgaans bij tuberculose in runderen wordt aangetroffen, zie verderop). Naast de mens is er nog een aantal gewervelde diersoorten gevoelig voor infectie met *Mycobacterium*. Een beperkt aantal daarvan wordt als proefdiermodel gebruikt voor de bestudering van TB na experimentele infectie en de voornaamste zijn: zebrevissen, muizen, cavia's, konijnen, runderen en niet-humane primaten. Ieder van deze diermodellen heeft uiteraard zijn eigen specifieke kwaliteiten en tekortkomingen (8, 9). Inmiddels zijn er ook onderzoeksgroepen actief om gecontroleerde TB infectiemodellen in de mens te ontwikkelen, maar dit onderzoek bevindt zich nog in een pril en prematuur stadium.

Wat betreft de kleine gewervelde dieren is infectie met *M.marinum* in de zebraavis een model voor de bestudering van met name moleculaire aspecten van tuberculose granuloomvorming. Knaagdieren en konijnen worden van oudsher veel gebruikt als TB model, zowel voor de bestudering van pathogenese als voor het testen van nieuwe profylactische en therapeutische behandelingen. De muis heeft als model een aantal gunstige eigenschappen zoals de beschikbaarheid van goed gekarakteriseerde inteeltstammen en moleculair-genetische manipulatie technieken, en de uitgebreide kennis van het muizen-afweersysteem. Echter, er zijn ook aanzienlijke nadelen. Muizen zijn weinig gevoelig en worden doorgaans met grote aantallen *Mtb* geïnfecteerd. Muizen lenen zich niet voor de bestudering van latente stadia van TB. Niet alle aspecten van het humane immuunsysteem (adaptief en innate) worden in de huidige gangbare muismodellen goed nagebootst. Cavia's zijn, in tegenstelling tot de muis, juist wel zeer gevoelig voor *Mtb* infectie en latentie wordt niet waargenomen; de infectie verloopt zonder ingrijpen altijd fataal. De cavia geldt dan ook als een stringent model voor het testen van nieuwe TB behandelmethoden. De kennis van het immuunsysteem van de cavia is beperkter dan die van de muis en met name de geringe

beschikbaarheid van reagentia is een belemmering voor onderzoek naar de mechanismen van ziekte en bescherming. Konijnen worden minder vaak in de TB literatuur beschreven, maar blijken met name voor de bestudering van meningiaire TB en humorale afweer een goed model.

Van de grotere gewervelde dieren worden runderen voornamelijk gebruikt voor de ontwikkeling van veterinaire vaccins ter voorkoming van runder TB in veestapels. Runder TB wordt voornamelijk veroorzaakt door *M.bovis*. *Mtb* is in het rund over het algemeen weinig virulent. Met name ook op het gebied van de identificatie van biomarkers die beschermende immuniteit na vaccinatie voorspellen, wordt het rundermodel translationele waarde voor humane TB toegedicht.

In het algemeen kan men stellen dat kleine proefdieren, mede ook qua beschikbaarheid en hanteerbaarheid, een groot voordeel hebben ten opzichte van de grote gewervelde dieren. Echter, de interactie tussen *Mtb* en de humane gastheer is complex en de verscheidenheid aan klinisch-pathologische manifestaties, denk bijvoorbeeld aan de vorming van necrotiserende granuloma en cavitatie of latentie, wordt niet of slechts in uitzonderlijke condities in kleinere vertebraat-modellen gevangen. Weliswaar wordt voor de evaluatie van de werkzaamheid van nieuwe antibiotica over het algemeen volstaan met preklinische evaluatie in knaagdieren, voor de ontwikkeling van nieuwe vaccins/vaccinatie strategieën - waarbij de complexe interactie met de (afweer van de) gastheer een doorslaggevende rol speelt - worden ook grotere modeldieren en in het bijzonder niet-humane primaten (NHP) ingezet. Door diverse modeldieren te gebruiken probeert men het risico op falen in klinische testfasen te beperken. Vaak, maar niet altijd en niet noodzakelijkerwijs (zie ook onder 3.2), gaan preklinische studies in kleine proefdiermodellen vooraf aan NHP studies. Positieve signalen in muis en cavia geven vaak aanleiding tot vervolgonderzoek in NHP.

Experimentele *Mtb* infectie in makaken

NHP en makaken (*Macaca spp.*) in het bijzonder, hebben net als mensen een natuurlijke gevoeligheid voor besmetting met *Mtb*. Natuurlijke besmetting van NHP is met name geobserveerd in situaties waar de dieren in nauw contact met de mens gehuisvest zijn. De manifestaties van humane TB infectie, de histologisch kenmerkende granuloomvorming (tuberkel) in de long (10), disseminatie naar extrapulmonaire weefsels, latentie, specifieke immuunsuppressie (danwel immunologische anergie) bij ernstige infectie en tal van andere klinische verschijnselen als koorts, gewichtsverlies en (systemische) ontsteking, worden als zodanig ook bij makaken waargenomen na experimentele infectie met *Mtb* (11). Geen enkele andere diersoort (behoudens mensapen) vertoont zo'n gelijkenis met humane TB in al zijn facetten. Makaken zijn fylogenetisch nauw verwant aan de mens en vertonen uiteraard ook grote gelijkenis wat betreft anatomie, fysiologie en immuunsysteem (immunologie). Mede met het oog op de complexiteit van TB pathogenese en immuniteit wordt in het TB onderzoeksveld een zeer grote voorspellende waarde aan NHP modellen toegeschreven.

Voor onderzoek naar behandelmogelijkheden van TB door middel van immuunmodulatie zijn makaken ook van groot belang. Immers, als het aangrijpingspunt van immuunmodulatie uniek is voor primaten of het betreffende therapeuticum niet bindt aan het doelwitmolecuul in kleine proefdieren omdat er geen kruisreactiviteit is, vormen NHP het aangewezen model voor preklinische studies.

De meest gebruikte makaaksoorten in TB onderzoek, de resus en de Java aap, blijken verschillend gevoelig voor TB ziekteontwikkeling. In de Java aap treedt bij lage dosis inoculatie ogenschijnlijk latente infectie op in ca. 50% van de geïnfecteerde dieren (12). In resus apen treedt acuut progressieve ziekte op, ook na lage dosis inoculatie, in nagenoeg alle dieren. Dit maakt dat beide species relevant zijn voor de verschillende aspecten van humane TB. Recent hebben we kunnen aantonen dat ook BCG vaccinatie, net zoals wordt waargenomen in diverse humane populaties (13, 14), verschillende mate van bescherming biedt in verschillende makaak cohorten (15). Dergelijk contrast in diverse soorten en groepen makaken biedt verdere mogelijkheid tot het ontrafelen van onderliggende mechanismen van ziektegevoeligheid en beschermende immuniteit. In veel gevallen zal de resus aap de voorkeur hebben voor de evaluatie van vaccins of behandelingen, omdat het een ruimere gelegenheid geeft om het terugdringen van progressieve TB waar te nemen (ruimere window of opportunity). Als de vraag- en/of doelstelling daar aanleiding toe geeft en met name ook om de verschillen tussen resus en Java apen in mechanismen van TB pathogenese te bestuderen, zullen (ook) Java apen met hun minder progressieve

en veelal latente ziektebeeld worden gebruikt.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

De experimentele TB studies in NHP in het huidige project dienen de volgende doelstellingen:

- de preklinische evaluatie van nieuwe behandelmethodes (vaccins, immuun-modulatoire regimes),
- het optimaliseren en verder verfijnen van modelcondities,
- het vergroten van ons (fundamentele) inzicht in mechanismen/cascades van beschermende immuniteit en TB pathogenese,
- het karakteriseren van (translationele) biomarkers van beschermende immuniteit

en uiteindelijk,

- een bijdrage leveren aan het terugdringen van de TB pandemie.

Deze doelstellingen zijn per experiment veelal complementair en sluiten elkaar geenszins uit. Ze worden hieronder verder toegelicht.

Het doel van dit project is, als gezegd, meerledig, maar primair gericht op het bestuderen van de werkzaamheid van nieuwe vaccinatie en/of immuun-modulatoire strategieën tegen TB in een experimenteel infectiemodel in NHP. Nieuwe behandelmethodes die in samenwerking, vaak met grotere internationale consortia, door externe partners worden ontwikkeld en voor preklinische evaluatie in NHP in aanmerking komen, worden in een preklinische of *proof-of-concept* studie getest op hun vermogen om de ontwikkeling van ziekte en weefselschade te beperken, infectie te voorkomen, mycobacteriële replicatie te onderdrukken en/of therapeutische behandeling effectiever te maken.

Naast de preklinische evaluatie van werkzaamheid is het NHP TB model ook uitermate geschikt voor de bestudering van klinische verschijnselen die mogelijk optreden ten gevolge van een nieuw behandelregime (adversiteit, bijwerking). Bovendien heeft de NHP gastheer een hoge translationele waarde voor wat betreft de bestudering van het immuunsysteem. In voorkomende gevallen zal een preklinische NHP TB studie dan ook zo worden ontworpen dat registratie van klinische parameters informeert over de "verdraagbaarheid" (en dus veiligheid) en dat registratie van immunologische reacties informeert over het immuun-inducerend danwel immuun-modulerend vermogen van nieuwe behandelmethodes in een primate als gastheer.

Samen dragen deze NHP studie data, wat betreft werkzaamheid, verdraagbaarheid en immuun-inducerend/-modulerend vermogen, bij aan een preklinische dossier van de betreffende kandidaat-therapie en stellen ze de ontwikkelaars in staat om de meest veelbelovende kandidaten voor verdere klinische ontwikkeling te selecteren. Als relevante schakel in dit grotere proces (zie ook verderop onder deze paragraaf) poogt dit project uiteindelijk om een bijdrage te leveren aan de eerdergenoemde WHO doelstelling om de TB epidemie voor 2035 met 95% terug te dringen t.o.v. het niveau van 2014 (1).

Omwille van de robuustheid van het model en de vergelijkbaarheid van resultaten tussen preklinische studies onderling worden diverse modelfactoren voor alle studies zo veel mogelijk constant gehouden (standaardisatie). Daarmee is echter niet uitgesloten dat voortschrijdend inzicht of een enkele specifieke hypothese vraagt om aanpassing van modelcondities. Zo kan een analyse van de werkzaamheid van een vaccin bijvoorbeeld vragen om variatie van inoculatiestam (lees: virulentiegraad) of infectiedosis. Een ander voorbeeld: de toediening van vaccins of immuun-modulerende agentia kan om optimalisatie van tijdsintervallen vragen. Tot slot, bij het beschikbaar komen van nieuwe (klinische, immunologische of moleculaire) methodes en assays kan het bijvoorbeeld wenselijk zijn om een andere meetopstelling of biosampling procedure te introduceren. Kortom, parameter optimalisatie zal met voortschrijdende ontwikkelingen en in voorkomende gevallen een pertinent onderdeel deze NHP TB studies kunnen zijn. Dergelijke innovatieve benaderingen dragen bij aan verdere optimalisatie en verfijning van ons onderzoeksmodel.

Ondanks alle verworven kennis van immuunreacties en pathogenese rondom TB, mist het onderzoeksveld een éénduidig begrip van mechanismen of correlaten van beschermende (danwel pathogene) immuniteit. Omdat NHP TB in zoveel facetten humane TB zo nauw benadert en met name omdat het immuunsysteem zo vergelijkbaar is en vele humane (immuun)reagentia kruisreageren, heeft dit project nadrukkelijk ook het doel om meer inzicht te verwerven in immuniteit en pathogenese rondom TB infectie. Waar in experimenteel klinisch TB onderzoek de infectie 'ongecontroleerd' heeft plaatsgevonden, dragen de gecontroleerde NHP infectiestudies in dit project bij aan het temporeel ontrafelen van de interactie tussen *Mtb* en mens.

Met optimaal gebruik van de beschikbare biosamples en analyse methodes, beoogt dit onderzoek ook om (translationele) correlaten/biomarkers van ziekte en beschermende immuniteit te identificeren. Waar mogelijk zal voortschrijdend inzicht uit klinisch onderzoek worden terugvertaald naar onze preklinische studies om (immuun-)correlaten onder gecontroleerde condities te verifiëren en/of om aan de hand van dergelijke biomarkers het NHP model verder te verfijnen. Het uiteindelijke doel is om te komen tot de definitie van biomarkers (correlaten) die als surrogaat kunnen dienen voor het vroegtijdig en verfijnd uitlezen van de werkzaamheid van vaccins, zowel in mens als in prekliniek.

Ten aanzien van het uiteindelijke doel om TB als *global health issue* te verminderen, is de expertise ons instituut en zijn positie in grotere internationale netwerken relevant voor de haalbaarheid van het voorgestelde werk en de daarbij behorende oogmerken. Academische centra en onderzoeksnetwerken, enkele bedrijven, product development partnerships en organisaties als CTVD (Collaboration for Vaccine Discovery; <https://www.ctvd.co/Pages/Strategy.aspx>), Aeras (<http://www.aeras.org/>) en TBVI (TuBerculosis Vaccine Initiative; <http://www.tbvi.eu/>), in navolging van de aanbevelingen van de WHO, werken aan de ontwikkeling van verbeterde vaccins en/of behandeling op basis van immuunmodulatie om het wereldwijde TB probleem terug te dringen (5). Als onderdeel van die (product)ontwikkelingsprogramma's worden op enig moment ook NHP ingezet voor preklinische studies. Preklinische evaluatie in apen wordt het meest relevant en voorspelbaar geacht ter ondersteuning verdere klinische ontwikkeling (8, 11, 16, 17). Met name Aeras en TBVI werken samen om zogenaamde stage gating criteria voor vaccins te ontwikkelen. Hierin worden diverse checkpoints en haalbaarheidscriteria geformuleerd en vaccin evaluatie in NHP is daarbij een relevant onderdeel waarmee noodzakelijk inzicht in de werkzaamheid van een nieuwe behandelmethode wordt verschaft. Waar van toepassing, wordt een onafhankelijke afweging gemaakt door productontwikkelingsteams of diermodelgebruikersgroepen welk kandidaat vaccin of therapie in aanmerking komt voor evaluatie in NHP. Nadere criteria voor de selectie van nieuwe vaccinatiestrategieën en behandelingen staan in Bijlage 1. Waar mogelijk worden vergelijkbare ("same in class") vaccinkandidaten in een vergelijkende studie onderzocht. Alleen de meest veelbelovende preventieve of therapeutische behandelmethoden die in NHP hun effectiviteit hebben bewezen, maken een goede kans op verdere ontwikkeling tot klinische toepassing. De resultaten van ons toegepast pre-klinisch onderzoek worden nadrukkelijk onder 'open access' condities uitgevoerd.

Het aanvragende instituut van dit onderhavige project werkt met bovengenoemde partners samen op grond van haar betrekkelijk unieke capaciteit en expertise op het gebied van NHP immunologie en TB infectie. Hier is de beschikking over zowel goed gekarakteriseerde makaken uit eigen fokkolonies alsook de infrastructuur om TB infecties veilig op het betreffende, geclassificeerde DM-3 en ML-3 niveau uit te voeren (18-22). Het instituut is geaccrediteerd door de Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC). TB infectie en vaccin/therapie evaluatie experimenten in NHP zullen worden uitgevoerd als proof-of-concept of als translationeel preklinisch onderzoek.

Referenties

- [1] Uplekar M, Weil D, Lonroth K, Jaramillo E, Lienhardt C, Dias HM, et al. WHO's new End TB Strategy. *The Lancet*. 2015;385(9979):1799.
- [2] Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, Rodrigues LC, Sridhar S, Habermann S, et al. Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014;349:g4643.
- [3] Trunz BB, Fine PEM, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *The*

Lancet. 2006;367(9517):1173.

- [4] Hawn TR, Day TA, Scriba TJ, Hatherill M, Hanekom WA, Evans TG, et al. Tuberculosis vaccines and prevention of infection. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014;78(4):650.
- [5] Abu-Raddad LJ, Sabatelli L, Achterberg JT, Sugimoto JD, Longini IM, Jr., Dye C, et al. Epidemiological benefits of more-effective tuberculosis vaccines, drugs, and diagnostics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(33):13980.
- [6] Zumla A, Rao M, Dodoo E, Maeurer M. Potential of immunomodulatory agents as adjunct host-directed therapies for multidrug-resistant tuberculosis. *BMC Med.* 2016;14:89.
- [7] Ndlovu H, Marakalala MJ. Granulomas and Inflammation: Host-Directed Therapies for Tuberculosis. *Front Immunol.* 2016;7:434.
- [8] Myllymaki H, Niskanen M, Oksanen KE, Ramet M. Animal models in tuberculosis research - where is the beef? *Expert Opin Drug Discov.* 2015;10(8):871.
- [9] Cardona PJ, Williams A. Experimental animal modelling for TB vaccine development. *Int J Infect Dis.* 2017;56:268.
- [10] Kauffman KD, Sallin MA, Sakai S, Kamenyeva O, Kabat J, Weiner D, et al. Defective positioning in granulomas but not lung-homing limits CD4 T-cell interactions with Mycobacterium tuberculosis-infected macrophages in rhesus macaques. *Mucosal Immunol.* 2017.
- [11] Pena JC, Ho WZ. Monkey models of tuberculosis: lessons learned. *Infect Immun.* 2015;83(3):852.
- [12] Lin PL, Rodgers M, Smith L, Bigbee M, Myers A, Bigbee C, et al. Quantitative Comparison of Active and Latent Tuberculosis in the Cynomolgus Macaque Model. *Infect Immun.* 2009;77(10):4631.
- [13] Lalor MK, Floyd S, Gorak-Stolinska P, Ben-Smith A, Weir RE, Smith SG, et al. BCG vaccination induces different cytokine profiles following infant BCG vaccination in the UK and Malawi. *J Infect Dis.* 2011;204(7):1075.
- [14] Black GF, Weir RE, Floyd S, Bliss L, Warndorff DK, Crampin AC, et al. BCG-induced increase in interferon-gamma response to mycobacterial antigens and efficacy of BCG vaccination in Malawi and the UK: two randomised controlled studies. *Lancet.* 2002;359(9315):1393.
- [15] 10.2.g
- [16] McShane H, Williams A. A review of preclinical animal models utilised for TB vaccine evaluation in the context of recent human efficacy data. *Tuberculosis (Edinb).* 2014;94(2):105.
- [17] O'Shea MK, McShane H. A review of clinical models for the evaluation of human TB vaccines. *Hum Vaccin Immunother.* 2016;12(5):1177.
- [18] 10.2.g
- [19] 10.2.g
- [20] 10.2.g
- [21] Rahman S, Magalhaes I, Rahman J, Ahmed RK, Sizemore DR, Scanga CA, et al. Prime-boost vaccination with rBCG/rAd35 enhances CD8(+) cytolytic T-cell responses in lesions from Mycobacterium tuberculosis-infected primates. *Mol Med.* 2012;18:647.
- [22] 10.2.g
- [23] 10.2.g

3.3 Belang

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

De urgentie voor het ontwikkelen van verbeterde vaccins en behandelingen tegen TB is hoog, getuige het enorme aantal TB-gerelateerde doden, elk jaar weer. Bovendien zijn morbiditeit en economisch verlies ten gevolge van TB, als ook onder 3.1 beschreven, aanzienlijk. Nieuwe vaccinatiestrategieën en behandelingsregimes zijn dringend nodig om het wereldwijde TB probleem aan te pakken en de ontwikkeling hiervan sluit direct aan bij de ambitie van de WHO, zoals geformuleerd in haar 'The End TB Strategy' (1), om TB te bestrijden

Als eerder aangegeven, mist het onderzoeksveld een éénduidig begrip van mechanismen of correlaten van beschermende immuniteit en pathogenese.

Eenzijds hindert dit gebrek aan inzicht een zuiver rationeel ontwerp van verbeterde therapieën met een grote kans van slagen op succesvolle toepassing. Daarom is in zekere mate empirisch, pre-klinisch onderzoek voornamelijk nodig om het nodige vertrouwen in met name werkzaamheid te hebben alvorens kostbare en beperkte klinische TB onderzoekscapaciteit wordt aangewend om werking in de mens te onderzoeken (*Phase IIb/III efficacy trials*). Het NHP model fungeert hierbij als een belangrijke preklinische poortwachter (*stage-gating instrument*) in het TB vaccin-ontwikkelingsproces om risico op falen in latere klinische testfasen te beperken. Niet minder belangrijk, de bestudering van (diverse) immunologische reacties in onze NHP TB studies draagt bij aan een groter inzicht en daarmee aan een verbeterde rationele benadering met grotere kans van slagen voor de ontwikkeling van een vaccinatiestrategie die beter werkt dan BCG.

Anderzijds zijn door gebrek aan kennis geen eenduidige correlaten of biomarkers bekend waarmee de uitkomst van therapie kan worden voorspeld. Biomarkers zouden uitermate waardevol zijn met name als eindpunt-parameter om klinische werkzaamheid efficiënter (lees: vroegtijdig) vast te kunnen stellen. Het is in dit verband van groot belang om op te merken dat zogenaamde klinische efficacy trials op zich en het ontbreken van eenduidig hanteerbare biomarkers voor zulke langdurige, complexe en kostbare trials aanzienlijke knelpunten vormen voor een snelle ontwikkeling en implementatie van een nieuw vaccin. Van NHP studies met name kan worden verwacht dat enig resultaat op dit gebied van biomarker-identificatie snel kan worden vertaald naar een klinische toepassing.

Ten aanzien van therapeutische behandeling van TB is het vervangen of het verkorten van de duur van van de huidige, langdurige antibiotica-therapie een belangrijke doelstelling. Omdat het langdurige gebruik van de huidige antibiotica vervelende en ernstige bijwerkingen heeft, heeft het verkorten van therapieduur een direct gunstig effect voor de huidige TB chemotherapie. Het vergroten van de succespercentages van TB behandeling (op dit moment 85-90%) en het voorkomen van reactivatie zijn daarnaast zeer gewenst om de verdere ontwikkeling en verspreiding van drug resistente *Mtb* tegen te gaan.

Kortom, het onderzoek naar nieuwe behandelingen tegen TB is grotendeels ingebed binnen onderzoeksprogramma's van grote internationale organisaties en consortia (6). De preklinische evaluatie van de effecten van nieuwe vaccins en geneesmiddelen in apen en het vaststellen van de werkzaamheid in een 'outbred' primaten populatie (i.p.v. bijvoorbeeld een 'inbred' knaagdier) wordt in het algemeen gezien als een kritisch element voorafgaand aan toepassing van nieuwe vaccins en nieuwe kandidaat geneesmiddelen in de mens (11, 23). Voorbeelden van specifieke vragen die in het preklinische traject moeten worden beantwoord, zijn: Kunnen we primaire vaccinatie tegen tuberculose (door vervanging van BCG) verbeteren? Kunnen andere vaccins de effecten van BCG versterken? Kunnen populaties die ongevoelig zijn voor de werking van BCG, alsnog beschermd worden door aanvullende booster vaccinatie? Kan een vaccin alleen de mate van ziekte terugdringen of kan het de infectie ook voorkomen? Kunnen nieuwe (combinaties van) therapieën de behandelduur van TB verkorten? Is een nieuw kandidaat geneesmiddel effectief in het verminderen van de ziekteverschijnselen en welke mechanismen spelen daarbij een rol?

Het TB model in makaken is reeds eerder opgezet en gehanteerd binnen het instituut waar dit project zal

worden uitgevoerd. Het NHP TB model heeft geleid tot belangrijke inzichten voor TB vaccinatie en de rol van het model in de ontwikkeling van vaccins (15, 18, 19, 21, 22). Voortschrijdend inzicht en nieuwe vraagstellingen zullen vereisen dat we studieparameters en modelcondities verder optimaliseren en verfijnen. Terwijl wereldwijd de beschikbaarheid van dit NHP model schaars is, zal het voorgestelde onderzoek en de verfijning van uitleesparameters en modelcondities een belangrijke bijdrage leveren aan het versterken van onze expertise op het gebied van experimentele TB en aan het wereldwijde research & development doel om nieuwe profylactische en therapeutische strategieën te ontwikkelen in het bijzonder, om zodoende de wereldwijde TB epidemie te bestrijden.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

De kern van deze onderzoeksstrategie is geënt op de evaluatie van de werkzaamheid van nieuwe kandidaat-vaccins en therapeutische methodes. Hiertoe worden NHP/makaken behandeld en aan een experimentele infectie met *Mtb* onderworpen (infectieuze challenge). Het effect van behandeling wordt afgemeten tegen de mate van ziekte die optreedt in een niet-behandelde controle groep. Naast preventie tegen ziekte kan het model ook worden aangepast om preventie tegen infectie uit te lezen. Met name in het geval van vaccin-evaluatie wordt veelal een behandelgroep met BCG, als enig huidig beschikbare standaard, opgenomen. Mede ook omdat het effect van BCG in NHP (net als in humane populaties) variabel is gebleken, afhankelijk van het cohort onder studie, is het gebruik van historische controles in dit 'outbred' model vooralsnog uitgesloten. Het NHP TB infectiemodel is reeds opgezet, geoptimaliseerd, verfijnd en gestandaardiseerd op het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd (15, 18, 19, 21, 22).

Naast de toegepast wetenschappelijke output draagt de bestudering van TB in NHP in dit project nadrukkelijk bij aan ons fundamentele inzicht in TB pathogenese en (beschermende) immuniteit. Dit aspect van onze strategie krijgt met name gestalte door immunologisch onderzoek, globale screening van gastheer-responsen (middels zogenaamde -OMICS approaches) en registratie van diverse klinische parameters, gedurende de studies of retrospectief (met gebruik van opgeslagen biomaterialen en samples).

Terwijl actuele (immuun)assays en klinische bepalingen te allen tijde onderdeel zijn van een NHP TB studieplan, worden van deze NHP TB studies ook biosamples (serum, bloedcellen, RNA e.d.) en geconditioneerde supernatanten van immuuncelstimulaties opgeslagen om op enig moment verder te analyseren. Wanneer het onderzoeksveld nieuwe assays of aanknopingspunten voor verder onderzoek voortbrengt, kan de NHP TB biobank hiervoor worden aangeboord. Experimentele en controle groepen zullen na experimentele infectie beschermde of gevoelige fenotypes opleveren hetgeen een noodzakelijke voorwaarde is voor het identificeren van correlaten/biomarkers van bijvoorbeeld TB vaccin-effectiviteit of gevoeligheid voor TB infectie/ziekte.

Waar relevant zal op basis van voortschrijdend inzicht en terug-vertaling van waarnemingen uit klinisch en experimenteel-medisch onderzoek het huidige standaard model worden aangepast. De optimalisatie van modelparameters kan nodig zijn om specifieke aspecten van TB infectie voor enige specifieke vraagstelling beter te benaderen. Hierbij moet worden gedacht aan bijvoorbeeld variatie van experimentele inoculatie (zoals herhaalde dosering), variatie van pathogene challenge stam (lees: virulentie), variatie in gebruik van gastheer species of genotype, aanvullende biosampling en analyse methodieken, etc. Een en ander is al onder 3.1 toegelicht. Dergelijke parameter-optimalisatie zal de translationele waarde van het model vergroten en de kennis-basis vergroten, zowel van het model per se als van de interactie tussen *Mtb* en de primaat als gastheer.

Als een behandeling moet worden getest waarvan het niet bekend is in welke dosis het therapeuticum gegeven moet worden of wanneer biologisch beschikbare dosering zeer nauw luistert, zal een farmacokinetiek/farmacodynamiek studie worden uitgevoerd.

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

Het bestuderen van de effecten van preventieve en therapeutische behandelingen tegen TB wordt

beschreven in Bijlage 1. Preventieve behandelingen zoals vaccinatie strategieën worden uiteraard ingezet voorafgaand aan TB infectie. Therapeutische behandelingen zoals met monoclonale antistoffen, al dan niet in combinatie met drugs, worden getest gedurende een TB infectie. Het is ook mogelijk om voor specifieke doeleinden een preventieve vaccinatie te combineren met een therapeutische strategie.

Nieuwe inzichten in TB infectie in mensen en apen kunnen leiden tot nieuwe inzichten hoe pathologische en immunologische kenmerken van TB in apen zich verhouden tot deze parameters van de ziekte in mensen. Dit helpt in het verder verbeteren van de representatie van de humane ziekte in het apen model. Er zal worden gevarieerd met de experimentele opzet van het model teneinde een betere representatie van specifieke aspecten van de humane ziekte of van humane therapie te bewerkstelligen. Dit zal de extrapolatiebaarheid van de resultaten in het apenmodel naar toepassing in de mens bevorderen.

Farmacokinetiek/farmacodynamiek studies om de juiste dosis vast te stellen van nieuwe kandidaat geneesmiddelen worden beschreven in Bijlage 2.

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

Het type dierproef beschreven in bijlage 1 is het makaakmodel voor TB. De primaire uitkomstparameter is de macroscopische pathologie in de longen, op basis van de publicatie van Lin et al. (12) en zoals toegepast in eerdere studies (15).

In bijlage 1 wordt het model gebruikt voor de bestudering van ziekte mechanismen door middel van parameter optimalisatie en voor de bestudering van de effecten van preventieve en/of therapeutische behandelingen. Deze studies worden merendeels uitgevoerd in samenwerking met grote internationale consortia, bedrijven of publiek-private samenwerkingsverbanden. Het merendeel van de studies wordt onafhankelijk van elkaar uitgevoerd, omdat ze gebaseerd zijn op verschillende onderzoeksrichtingen (behandeling versus vaccin, verschillende aangrijpingspunten van behandeling). De studies worden sequentieel uitgevoerd, verdeeld over een periode van 5 jaar. Resultaten van elke studie worden kritisch geëvalueerd en gebruikt voor de verdere optimalisatie van de volgende studies.

Het type dierproef in bijlage 2 dient ter ondersteuning van de studies in bijlage 1. Als er behandelingen moeten worden getest met geneesmiddelen waarvan de juiste dosis niet afgeleid kan worden uit andere studies, dan zal er eerst een farmacokinetiek/farmacodynamiek studie gedaan worden (zie bijlage 2). Vervolgens kunnen de effecten van de optimale dosis van het geneesmiddel worden bestudeerd in een dierproef als beschreven in bijlage 1. Als deze PK/PD niet het gewenste resultaat oplevert, zal het beoogde vervolg-experiment niet plaatsvinden.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken.
2	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaat geneesmiddelen voor TB.
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken.
- 1.2 Looptijd van het project 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) Tuberculose, vaccin, geneesmiddel, diermodel

2 Categorie van het project

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

3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Tuberculose (TB) is in derdewereldlanden onder kinderen en volwassenen nog steeds één van de belangrijkste doodsoorzaken. TB wordt veroorzaakt door een bacterie, *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Naar schatting is bijna één derde deel van de wereldbevolking geïnfecteerd met *Mtb*. Een groot deel van de infecties verloopt subklinisch en vormt daarmee een groot risico voor de verspreiding van *Mtb*. In 2015 kregen 10,4 miljoen mensen daadwerkelijk de ziekte tuberculose, en 1,8 miljoen mannen, vrouwen en kinderen overleden aan de gevolgen van TB.
- Het enige beschikbare vaccin is Bacille Calmette-Guérin (BCG). Echter, BCG vaccinatie is maar gedeeltelijk effectief. Ofschoon het naar schatting jaarlijks meer dan 100.000 gevallen van kindersterfte voorkomt, werkt het maar zeer

beperkt tegen longtuberculose, waardoor de verspreiding van *Mtb* niet wordt voorkomen.

De huidige standaardbehandeling van TB patiënten bestaat uit een cocktail van antibiotica die gedurende 6 maanden ingenomen moet worden. Deze behandeling is relatief zwaar en vaak moeilijk vol te houden, met name voor een groot deel van de patiënten in derdewereldlanden. Daarnaast leidt het ook niet altijd tot genezing omdat de patiënten besmet zijn met *Mtb* stammen die resistent zijn tegen de huidige antibiotica. Daarom zijn nieuwe vaccinatie strategieën en behandelingen hard nodig om het jaarlijkse aantal patiënten en doden terug te dringen.

De Wereldgezondheidsorganisatie heeft zich ten doel gesteld om het aantal doden ten gevolge van TB in 2035 met 95% te verminderen ten opzichte van het aantal doden in 2014. Het doel van dit project is om in samenwerkingen veelal binnen grote internationale consortia nieuwe vaccinatie strategieën en behandelingen tegen TB te testen in een experimenteel *Mtb* infectie model in apen. Vaak is dit de laatste stap voordat de werkzaamheid in mensen wordt getest. Waar nodig zal de juiste dosering van een behandeling eerst worden getest in een gecombineerde farmacokinetiek/farmacodynamiek (PK/PD) studie.

- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? Dit project draagt bij aan de selectie van veelbelovende vaccins en geneesmiddelen voor klinische ontwikkeling en uiteindelijk toepassing in de mens en daarmee op langere termijn aan het terug dringen van de incidentie van TB.
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt? Voor dit project zullen over een periode van 5 jaar maximaal 420 makaken (resus apen en Java apen) nodig zijn.
- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? Handelingen worden onder verdoving en/of narcose uitgevoerd, waarna, net als bij de mens, een gevoel van sufheid en misselijkheid kan ontstaan. Voor dieren in een PK/PD studie zijn er geen additionele negatieve gevolgen te verwachten. Voor dieren die een experimentele infectie ondergaan, valt te verwachten dat zij tuberculose ontwikkelen met de mogelijke bijbehorende symptomen zoals verlies van eetlust en/of gewicht, bemoeilijkte ademhaling en/of lusteloosheid. In gevaccineerde of behandelde dieren is de ernst van deze symptomen naar verwachting verminderd.
- 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? Het cumulatieve ongerief van de dierproeven zal voor het grootste deel van de dieren naar verwachting matig zijn. Voor de dieren in een PK/PD studie, zal het verwachte ongerief matig (of, in voorkomende gevallen, licht) zijn.
- 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop? Ruim 95% van de dieren zal worden geëuthanaseerd in het kader van de proef. De overige 5% komt in aanmerking voor hergebruik.

4 Drie V's

- 4.1 **Vervanging**
Geef aan waarom het De respons van het afweersysteem tegen een vaccin zorgt voor een beschermende werking tegen een TB infectie. De interacties van organen,

gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdier vrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

cellen en moleculen zijn zodanig complex dat het bij de huidige stand van de wetenschap niet zinvol is om dit zonder levende dieren na te bootsen en te bestuderen.

Tuberculose is een ziekte waarbij de interactie tussen *Mtb* en het immuunsysteem van de gastheer verantwoordelijk is voor het uiteindelijke ziektebeeld. Ook hier geldt: het ziekteproces is zodanig complex dat het bij de huidige stand van de wetenschap niet zinvol is dit na te bootsen met *in vitro* alternatieven.

Alleen wanneer het niet mogelijk is om de betreffende vaccinatie strategieën en/of behandelingen te testen in kleine proefdieren zal het TB model in apen worden aangewend.

4.2 Vermindering

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

Wetenschappelijk onderzoek naar het verloop van een *Mtb* infectie en de reactie van het immuunsysteem op deze infectie levert inzichten op, op basis waarvan nieuwe vaccins en behandelingen worden ontwikkeld. Alleen de meest veelbelovende vaccins en kandidaat-geneesmiddelen zoals getest in het laboratorium en mogelijk ook in andere diersoorten worden vervolgens in apen getest.

Het aantal benodigde dieren per groep in een TB vaccin of behandelingsstudie zal berekend worden op basis van eerdere resultaten uit soortgelijke experimenten. Standaardisering van de methoden draagt nog verder bij aan het verminderen van het benodigde aantal dieren. Waar valide zullen studies worden gecombineerd, zodat de controle groepen kunnen worden gedeeld en het benodigde aantal gebruikte proefdieren kan worden beperkt.

4.3 Verfijning

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

Voor het onderzoek naar TB zijn diermodellen beschikbaar in zebrafissen, knaagdieren, konijnen, koeien en apen. Van al deze soorten staan apen evolutionair gezien het dichtst bij de mens. Apen, en dan in het bijzonder makaken (resus apen en Java apen), zijn net als mensen, maar in tegenstelling tot muizen, van nature gevoelig voor een infectie met *Mtb*. Een *Mtb* infectie in mensen is ook besmettelijk voor makaken. Omgekeerd is een *Mtb* infectie in makaken ook besmettelijk voor mensen. De klinische verschijnselen van TB in makaken vertonen ook grote overeenkomsten met de klinische symptomen van TB in mensen. TB studies in de diverse diermodellen leveren allemaal relevante informatie op, maar met name studies in niet-humane primaten zijn belangrijk als laatste stap is in de ontwikkeling van vaccins en behandelingen, voordat ze verder worden onderzocht in mensen. Onderzoek in niet-humane primaten is ook relevant voor het opsporen van eventuele onverwachte bijwerkingen die in andere diermodellen gemist kunnen zijn.

Analysemethoden zoals een nauwkeurige detectiemethode in levende dieren, op basis van positron emissie tomografie-computed tomografie en analyse van uitgedemde metabolieten zijn in ontwikkeling en deze kunnen in de toekomst bijdragen aan een betere gezondheidsbewaking.

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in het eigen verblijf zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan handelingen zoals het geven van een verdoving via intramusculaire toediening.

Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan wordt de veterinaire en de

mogelijk te houden.

onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld, zodat wanneer nodig een behandeling kan worden gestart.

Medicatie: Hoewel pijn in de regel niet optreedt, kan het niet volledig worden uitgesloten. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen adequate medicatie worden gegeven.

Humane eindpunten: Een klein percentage van de dieren kan ziek worden waardoor het noodzakelijk kan zijn om de dieren vroegtijdig te euthanaseren.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



Bijlage

Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	50200				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Biomedical Primate Research Centre				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Volgnummer</th> <th>Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethoden in een tuberculose infectie model in makaken.</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	1	Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethoden in een tuberculose infectie model in makaken.
Volgnummer	Type dierproef					
1	Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethoden in een tuberculose infectie model in makaken.					

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Evaluatie nieuwe preventieve en therapeutische strategieën

Het doel van preventieve TB therapieën is het bieden van protectie tegen infectie of vermindering van TB symptomen na *Mtb* infectie. Een belangrijke en noodzakelijke component van beschermende afweer tegen TB is het cytokine interferon-gamma (IFN γ) dat door lymfocyten wordt geproduceerd en dat macrofagen activeert om (myco)bactericide cascades aan te schakelen. Ofschoon duidelijk is geworden dat inductie van IFN γ weliswaar noodzakelijk maar alleen niet voldoende is om bescherming te bewerkstelligen, zullen vaccinatie responsen primair worden geëvalueerd aan de hand van deze parameter. Terwijl andere (individuele) processen ook een rol spelen bij het induceren van bescherming, ontbreekt de kennis, zowel in mensen als in apen, om te kunnen voorspellen of een vaccin een beschermende respons heeft geïnduceerd. Daarom zal de vaccinatiefase in principe worden gevolgd door een infectieuze challenge. Alleen als in een bepaalde groep in geen van de dieren een vaccin geïnduceerde IFN γ respons wordt gemeten en er verder ook geen aanwijzingen zijn voor de inductie van een beschermende respons in die groep, zal de betreffende groep niet worden gechallenged.

TB preventie wordt dus typisch onderzocht op basis van vaccinatie, voorafgaand aan de *Mtb* infectie. Niet-gevaccineerde dieren en vaak ook intradermaal BCG gevaccineerde dieren dienen als controle groepen. Op specifieke tijdstippen worden bloedsamples genomen om de (dynamiek van de) immunogeniteit en reactogeniciteit te bestuderen aan de hand van humorale en cellulaire responsen, hematologische en klinisch chemische bloedwaarden, transcriptoom en/of metabool analyse, etc.

Therapeutische TB strategieën vinden plaats na experimentele infectie. Het behandelingschema volgt uit de

aard van het te onderzoeken geneesmiddel. Geneesmiddelen die onderzocht zullen worden, kunnen small molecules, monoclonale antistoffen of andere biologicals zijn. Bij de evaluatie kan het aantal mycobacteriën, en dan voornamelijk het aantal in de long, als primaire grootheid worden gekozen voor het uitlezen van het proefresultaat, afhankelijk van de vraagstelling.

Criteria voor het testen van nieuwe vaccins en behandelingen in het makaak TB model zijn als volgt:

- Er is een hypothese met betrekking tot het veronderstelde werkingsmechanisme van het vaccin of kandidaat-geneesmiddel voorhanden, dat is gebaseerd op wetenschappelijke kennis van het verloop van de *Mtb* infectie en de immuunrespons van de gastheer op de infectie.
- Waar mogelijk is aanvullend onderzoek gedaan in het laboratorium en in andere diersoorten om deze hypothese verder te ondersteunen.
- Behandelingen gericht op de *Mtb* specifieke immuunrespons van de gastheer zijn vaak gericht op een dusdanig specifiek onderdeel, dat het betreffende mechanisme in bijvoorbeeld knaagdieren niet als zodanig voorkomt of dat de proef wegens gebrek aan kruisreactiviteit niet in die species kan worden uitgevoerd. In die gevallen kan het gebruik van apen dus noodzakelijk zijn. Dit is vaak het geval zijn bij het gebruik van biologicals of small molecules die op specifieke cascades of doelwitmoleculen in de primaat aangrijpen. Kruisreactiviteit van het geneesmiddel met de beoogde target in makaken zal voorafgaand aan de studie worden vastgesteld.
- Te testen vaccins of geneesmiddelen moeten van voldoende kwaliteit zijn voor gebruik in dieren. Met andere woorden, het moet aangetoond zijn, of anderszins moet het aannemelijk zijn dat de vaccins of geneesmiddelen geen vervuilingen of andere componenten bevatten die ongewenste bijwerkingen kunnen hebben in de dieren.
- Binnen grote internationale consortia worden doorgaans meerdere vaccin kandidaten getest *in vitro* en in kleine proefdiermodellen. Alleen de meest-veelbelovende kandidaat komt in aanmerking voor testen in makaken. Hieraan gaat een uitvoerig evaluatie- en selectieproces binnen het betreffende consortium vooraf.

Experimentele *Mtb* infectie

De basis van de dierproef is de experimentele, pulmonaire infectie van makaken met *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Hiervoor wordt als standaard *Mtb* stam Erdman K01 gebruikt, die vanuit een internationaal harmonisatie-initiatief centraal is gedeponeerd en via BEI Resources in de VS (www.beiresources.org) ter beschikking wordt gesteld. Waar een specifieke vraag- of doelstelling daartoe aanleiding geeft, kan echter ook voor een andere inoculatiestam worden gekozen. *Mtb* wordt onder verdoving met een bronchoscoop bronchiaal toegediend door instillatie in één van de onderste longkwabben (volgens een gestandaardiseerd protocol). Gedurende een periode van 12 tot 20 weken ontwikkelen onbehandelde controle dieren (long)tuberculose. De tijdsduur tot het ontwikkelen van TB is afhankelijk van welke makaak species gebruikt wordt (resus apen vertonen een meer acuut ziekte verloop dan Java apen), van de hoeveelheid toegediende mycobacteriën, van de virulentie van de gebruikte *Mtb* stam, etc. Het experimentele eindpunt van de proef wordt daarom vastgelegd op 12 tot 20 weken na infectie, afhankelijk van de verwachte tijdsduur van het ontwikkelen van TB in de controle dieren in het betreffende experiment. Het experiment eindigt met euthanasie van de proefdieren. Aansluitend wordt tijdens een autopsie procedure de macroscopische pathologie kwalitatief en semi-kwantitatief beoordeeld volgens een gestandaardiseerd protocol en biomateriaal wordt verzameld voor verdere analyses, waaronder het vaststellen van het aantal mycobacteriën in specifieke weefsels. Humane eindpunt-criteria zijn gedefinieerd die tot een voortijdige euthanasie kunnen leiden indien de conditie van het dier, het ongerief, daartoe aanleiding geeft. Op zo'n humaan eindpunt wordt een volledige autopsie procedure uitgevoerd, zodat het betreffende dier optimaal bijdraagt aan de uitkomst van de proef.

Primaire uitkomstparameter: macroscopische longpathologie

De primaire maat van tuberculose na experimentele infectie met *Mtb* is de macroscopische pathologie in de long. De longpathologie wordt gescoord volgens een semi-kwantitatief score systeem. Dit is een afgeleide van hetgeen in de publicatie van Lin et al. [1] is beschreven en waarbij het aantal en de grootte van TB laesies wordt gescoord, plus een aantal andere kenmerkende manifestaties zoals cavitatie, pleurale adhesie, etcetera. Dit scoresysteem wordt als een geharmoniseerde procedure gehanteerd binnen de Non-Human Primates werkgroep van het Collaboration for TB Vaccine Discovery (www.ctvd.co; een initiatief van de Bill & Melinda Gates Foundation).

Additionele analyses

Naast de mate van ziekte in de long wordt ook de betrokkenheid van lymfeknopen - met name de bronchoalveolaire lymfeknopen - bepaald, en wordt extra-pulmonaire pathologie - in milt, lever, e.d. - geregistreerd, die als een voor tuberculose kenmerkende manifestatie van gedissemineerde longinfectie kan optreden. Weefsels verzameld tijdens de autopsie worden histologisch geanalyseerd ter bepaling van de pathologie en ter verdere beschrijving van de uitkomst van het infectie experiment.

Naast de registratie van pathologie en bacteriologie op het eindpunt, wordt gedurende de infectiefase longitudinaal gediagnostiseerd met behulp van (conventionele) röntgenopnames onder sedatie of met gecombineerde PET/CT registratie onder narcose. Hiermee wordt de dynamiek van de ziekteontwikkeling gevolgd. Terwijl de CT techniek driedimensionaal inzicht in TB pathologie en anatomie geeft, wordt de PET techniek gebruikt om - na injectie van een radiotracer op basis van een glucose derivaat (18Fluor-Deoxy-Glucose, FDG) - lokale metabole activiteit en daarmee lokale ontsteking te meten [2].

Eveneens longitudinaal, worden dieren gesedeerd voor bloedafname, gewichtsregistratie en bronchoalveolaire lavage (BAL). Gewichtsverlies is een relevante maat voor tuberculose en dient als belangrijk humaan eindpunt-criterium. Bloedsampling wordt gebruikt voor het meten van standaard hematologische en klinisch chemische bloedwaarden, humorale en cellulaire immuniteit tegen *Mtb.*, transcriptoom- en/of metaboolanalyse, etc. Cellulaire immuniteit kan ook lokaal in de BAL worden gemeten. *Mtb.*-specifieke immuun responsen zijn maatgevend voor infectie en immuun status. Daarnaast gebruiken we meer experimentele analyses om inzicht te krijgen in ziekteproces en de (beschermende) cascades in het afweersysteem van de gastheer.

Parameter optimalisatie

Elke preventieve of therapeutische behandeling richt zich op een bepaald onderdeel van de immunologische gastheerrespons. De uitdaging is om in een experimenteel TB model de gastheerrespons in de makiak zo goed als mogelijk te optimaliseren voor de humane gastheerrespons ten aanzien van de specifieke vraagstelling. Dat geeft ten eerste inzichten in de pathogenese van TB, maar leidt ook tot een betere voorspellende waarde van het model.

Nieuwe wetenschappelijke inzichten kunnen aanleiding geven om bepaalde parameters verder te optimaliseren en zodoende het experimentele infectiemodel verder te verfijnen. Voorbeelden van parameter optimalisatie zijn beschreven in de literatuur [3-6] of volgen uit voortschrijdend inzicht in de toekomst. Voorbeelden zijn optimalisatie van experimentele infectie (dosis), variatie van pathogene virulentie, variatie in gebruik van gastheer species of genotype, aanvullende biosampling en nieuwe analyse methodieken. Deze studies verlopen verder hetzelfde zoals hierboven beschreven voor studies ter evaluatie van nieuwe preventieve en therapeutische strategieën.

Referenties bij 2A

1. Lin, P.L., et al., *Quantitative Comparison of Active and Latent Tuberculosis in the Cynomolgus Macaque Model*. *Infection and Immunity*, 2009. **77**(10): p. 4631-4642.
2. Lin, P.L., et al., *Radiologic Responses in Cynomolgus Macaques for Assessing Tuberculosis Chemotherapy Regimens*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013. **57**(9): p. 4237-4244.
3. Martin, C.J., et al., *Digitally Barcoding Mycobacterium tuberculosis Reveals In Vivo Infection Dynamics in the Macaque Model of Tuberculosis*. *MBio*, 2017. **8**(3).
4. Cardona, P.J. and A. Williams, *Experimental animal modelling for TB vaccine development*. *Int J Infect Dis*, 2017. **56**: p. 268-273.
5. Tanner, R. and H. McShane, *Replacing, reducing and refining the use of animals in tuberculosis vaccine research*. ALTEX, 2016.
6. Sharpe, S., et al., *Ultra low dose aerosol challenge with Mycobacterium tuberculosis leads to divergent outcomes in rhesus and cynomolgus macaques*. *Tuberculosis (Edinb)*, 2016. **96**: p. 1-12.
7. Mellors, T.R., et al., *A new method to evaluate macaque health using exhaled breath: A case study of M. tuberculosis in a BSL-3 setting*. *J Appl Physiol (1985)*, 2017. **122**(3): p. 695-701.

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

In geval van een vaccin evaluatiestudie, vindt de vaccinatiefase plaats voorafgaand aan de *Mtb* infectie. De lengte van deze fase hangt af van de vaccinatie strategie en varieert meestal tussen de 12 en 52 weken,

afhankelijk van de situatie of alleen een primaire vaccinatie (zoals BCG) wordt getest of dat primaire vaccinatie wordt gevolgd door herhaalde toediening, zogenaamde booster vaccinaties (typisch 1x tot 3x), zoals vaak het geval is bij de huidige experimentele vaccinatiestrategieën. In geval van evaluatie van een therapeutisch/immuun-modulator regime, vindt de experimentele behandeling plaats na *Mtb* infectie. De *Mtb* infectie fase duurt doorgaans tussen de 12 en 20 weken waarna de dieren worden geëuthanaseerd. Zowel gedurende de vaccinatie fase als de *Mtb* infectie fase (met of zonder behandeling) kunnen biotechnische handelingen zoals hieronder beschreven plaatsvinden. Biotechnische handelingen vinden plaats onder sedatie. Waar nodig wordt de sedatie aangevuld met anesthesie. Sommige handelingen, zoals intramusculaire toediening, kunnen plaatsvinden op wakkere dieren. Dieren worden voor aanvang van het experiment getraind om vrijwillig mee te werken aan het ondergaan van de intramusculaire toedieningen.

- Bloedafname, gemiddeld 1x per 2 weken, met incidenteel een aantal extra, kleinere bloedafnames in korte tijdspanne (bijvoorbeeld bij transcriptoom analyse). Bloedsamples worden gebruikt voor het meten van hematologie en klinische chemie, humorale en cellulaire immuniteit, transcriptoom- en/of metabool analyse in de circulatie, etc. De totale hoeveelheid afgenomen bloed zal het binnen het instituut vastgestelde maximum van 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken (en 0,7% max per bloeding) niet overschrijden.
- Vaccinaties kunnen via verschillende routes plaatsvinden: toediening van vloeistof via bronchoalveolaire, intramusculaire, subcutane, intraveneuze route of toediening als aerosol. Vaccinaties worden soms eenmalig, maar vaak ook herhaald toegediend, tot 3 maal en een enkele keer tot 4 maal toe, voorafgaand aan de experimentele TB infectie.
- Bronchoalveolaire toediening van *Mtb* via een bronchoscoop, variërend van een enkele toediening tot herhaalde toediening.
- Toediening kandidaat geneesmiddel: de toedieningsroute wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Drugs met een korte halfwaardetijd zoals de meeste small molecules, moeten mogelijk een aantal keer per week worden toegediend. Monoclonale antistoffen en andere biologicals hebben een langere halfwaardetijd, en daarbij kan de frequentie worden verlaagd naar 1x per week of zelfs nog minder. Mogelijke toedieningsroutes zijn intradermaal (i.d.), intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculair (i.m), intranasaal (i.n.), oraal, bronchoalveolair via een bronchoscoop, of als aerosol.
- Bronchoalveolaire lavage (BAL) via een bronchoscoop, met een gemiddelde frequentie tussen 1x per studie tot 1x per 3 weken, afhankelijk van de fase van de studie en de aard van de vraagstelling (zogenaamde innate immunresponsen verlopen doorgaans sneller dan adaptieve immunreacties). In de BAL samples worden gastheer responsen als effecten van behandeling gemeten, maar ook detectie van *Mtb* of teststof kan onderdeel van de doelstelling zijn.
- PET/CT diagnostiek. Dieren krijgen onder anesthesie een radioactieve vorm van glucose (18F-FDG) toegediend. Dit wordt opgenomen in de TB laesies als ze een hoge metabole activiteit (lees: ontstekingsreactie) vertonen. Op het instituut is een geïntegreerde PET-CT scanner in de geklassificeerde dierruimtes aanwezig. Vanwege de gevoeligheid van deze techniek kan de dynamiek van de laesies zeer goed gevolgd worden bij een frequentie variërend tussen 1x per 2 weken tot 1x per 4 weken.
- Euthanasie vindt plaats op een gefixeerd eindpunt, meestal tussen de 12 en 20 weken na infectie. Echter, een dier kan eerder een humaan eindpunt bereiken. In dat geval, zal het betreffende dier voortijdig worden geëuthanaseerd en onderzocht volgens de standaard procedures op eindpunt, opdat het zo optimaal mogelijk blijft bijdragen aan de doelstelling van de studie.
- Delayed type hypersensitivity (DTH) respons. Immunresponsen in het bloed zijn niet altijd met voldoende gevoeligheid te meten en/of niet representatief voor de verwachte immunrespons in weefsels. Na intradermale injectie van een antigeen ontwikkelt zich binnen 3 dagen een lokale immunrespons, de DTH reactie. Deze methode is het best gekend als de beproefde diagnostische tuberculine huidtest voor TB (mantoux). In onze experimentele setting kan aan de hand van een klein huidbiopt de infiltratie van immunocellen ten gevolge van de DTH reactie verder worden bestudeerd. De plek van bioptie wordt met een enkele steek gehecht; het dier krijgt eenmalig pijnstilling.
- Exhaled breath condensate. Vluchtige, uitgeademde metabolieten van de gastheer, danwel van de mycobacterie, kunnen met grote gevoeligheid worden gemeten in het zogenaamde 'exhaled breath condensate'. Gastheermoleculen kunnen dienen als diagnosticum voor voortschrijdende pathologie; mycobacteriële componenten kunnen dienen als maat voor de aanwezigheid van (het aantal) pathogenen na infectie [7]. Exhaled breath condensate kan worden verzameld tijdens de infectiefase

als de dieren gesedeerd zijn voor andere biotechnische handelingen. Dit geeft dus geen extra ongerief. Deze sampling techniek is nog niet geïmplementeerd binnen het instituut waar deze studies plaatsvinden, maar als deze zal worden opgezet, zal dat worden gedaan zoals beschreven in de literatuur [7].

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

De primaire uitkomstparameter is de macroscopische longpathologie. Voor elke studie, waarin behandelmethodes onderling of tegen controle behandeling vergeleken worden, zal een powercalculatie worden gedaan om de groepsgrootte te berekenen. Het aantal dieren per groep wordt berekend, uitgaande van een student T-verdeelde populatie en α (tweezijdige toetsing) = 5% en β = 80%.

Afhankelijk van het te verwachten effect van het nieuwe vaccin of behandeling, zal de groepsgrootte berekend worden. Mede op grond van eerder verkregen resultaten met BCG: met groepsgroottes van bijvoorbeeld 6 dieren per groep kunnen effect sizes van 1,8x de standaarddeviatie significant aangetoond worden, en met 12 dieren tot 1,2x de standaarddeviatie.

Resusapen vertonen iets meer macroscopische longpathologie dan Java apen. De standaarddeviatie van de primaire uitkomstparameter is echter niet verschillend gebleken tussen resus apen en Java apen. De keuze van makaaksoort heeft dus geen gevolgen voor de statistische onderbouwing.

Studies waarin geen vaccin of behandeling wordt getest, maar die als doel hebben modelparameter(s) te optimaliseren, zijn exploratief van karakter. Ook voor deze studies worden de groepsgroottes ingeschat op basis van de variatie in de verwachte macroscopische longpathologie door deze te extrapoleren aan de hand van vergelijkbare studies. Groepsgroottes liggen daarom in dezelfde range als wanneer een nieuwe vaccinatie strategie of kandidaat geneesmiddel wordt geëvalueerd: doorgaans tussen de 6 tot 12 dieren per groep.

B. De dieren

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

De studies zullen worden uitgevoerd in volwassen makaken, mannen en vrouwen, geschat aantal dieren: $n=400$, zie hieronder.

De makaakspecies die worden gebruikt zijn resusapen (*Macaca mulatta*) of Java apen (*Macaca fascicularis*). Over het algemeen vertonen deze soorten onderling weinig verschillen. Echter, in resus apen ontstaat in 100% van de dieren acuut progressieve ziekte, ook na lage dosis inoculatie, terwijl eenzelfde infectie in Java apen in circa de helft van de gevallen een acuut verloop heeft en in de andere helft een latent ziektebeeld geeft (immunologisch is de infectie evident en na autopsie wordt *Mtb* uit de weefsels opgekweekt, maar er zijn geen ziekte verschijnselen waar te nemen). Ook vertonen resus apen bij vergelijkbare infectie iets meer longpathologie. In veel gevallen zal de resus aap de voorkeur hebben voor de evaluatie van vaccins of behandelingen, omdat het een ruimere gelegenheid geeft om het terugdringen van progressieve TB waar te nemen (ruimere window of opportunity). Echter, als de vraag- en/of doelstelling daar aanleiding toe geeft, zal de effectiviteit van specifieke vaccins of therapeutica worden bestudeerd in Java apen met hun minder progressieve en veelal latente ziektebeeld. Dit zal per vraagstelling verder worden uitgewerkt in het werkprotocol dat beoordeeld zal worden door de IvD.

De dieren zullen afkomstig zijn van de eigen fok binnen het instituut waar het experiment wordt uitgevoerd of in uitzonderingsgevallen van een erkende importeur, waarbij de richtlijnen van de EU zullen worden gevolgd.

Groepsgroottes variëren meestal tussen de 6 en 12 dieren per groep. De *Mtb* infectie verloopt verschillend per individu zowel in apen, als in mensen. Deze heterogeniteit maakt het noodzakelijk om de effecten van een vaccin of behandeling te vergelijken met een onbehandelde groep binnen hetzelfde experiment. In samenwerkingsverbanden, vaak in grotere consortia, worden verscheidene vaccinatie strategieën en/of behandelingen naast elkaar getest, waarbij de controlegroep gedeeld kan worden.

Ofschoon BCG, net als in mensen, ook in makaakcohorten soms een variabele uitkomst geeft, zal in de meeste vaccinatie studies een BCG gevaccineerde groep worden geïncubeerd om het cohort op BCG gevoeligheid te kunnen karakteriseren en om de nieuwe, te testen vaccinatie strategie mee te vergelijken.

Een studie zal in het algemeen bestaan uit 1 of 2 controle groepen (ongevaccineerd/onbehandeld en/of

BCG). Het aantal additionele groepen ligt doorgaans tussen de 1 en 4. Het aantal dieren per studie ligt daarmee meestal tussen de 24 en 60. Over een periode van 5 jaar schatten we 5 tot 10 van zulke studies te doen. Het verwachte aantal dieren kent daarmee een grote spreiding, maar mede vanwege de logistieke capaciteit anticiperen we dat we maximaal 400 dieren zullen gebruiken.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven.

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging door *in vitro* alternatieven

Tuberculose is een ziekte waarbij de interactie tussen *Mtb* en het immuunsysteem van de gastheer verantwoordelijk is voor het uiteindelijke ziektebeeld. Het is bij de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk dit na te bootsen met diervrije *in vitro* alternatieven. Ook vaccinatie, zonder kennis van het exacte mechanisme van beschermende werking, is een complex immunologisch proces waar tot op heden geen alternatief voor beschikbaar is, anders dan het gebruik van het intacte, levende organisme.

Om te bepalen of makaken geschikt zijn voor het testen van een beoogde behandeling met bijvoorbeeld monoclonale antistoffen, zal de binding van de monoclonale antistoffen met het antigeen in de betreffende makaaksoort worden getest met *in vitro* methoden. Ook de kwaliteitscontrole van nieuwe vaccins en behandelingen wordt zoveel als mogelijk gedaan zonder gebruik van levende dieren.

Vervanging door sociaal en psychologisch minder complexe diersoorten

TB infecties in kleine proefdieren en runderen verlopen anders dan in primaten; gevoeligheid voor infectie is anders en manifestatie van ziekte is minder gelijkend. Bovendien worden, naast anatomische en fysiologische verschillen, niet alle immunologische componenten noch alle aspecten van gevoeligheid voor infectie en/of behandeling zoals die bij de mens optreden, door kleine proefdieren gerecapituleerd. NHP hebben daarmee een unieke niche in het preklinisch onderzoeksgebied. Alleen wanneer het noodzakelijk is om de betreffende vaccinatie strategieën en/of behandelingen te testen in het TB model in makaken, zal dit model worden aangewend.

Bij de huidige stand van de wetenschap zijn preklinische studies in geen enkele diersoort onomstotelijk voorspellend voor de klinische werking van TB behandeling, maar het NHP TB model wordt het meest waardevol geacht om werkzaamheid aan te tonen. Om het risico op klinisch falen te beperken en uit de aard van de complexiteit van de ziekte, de tekortkomingen in onze kennis van pathogenese en beschermende afweer, en de niet formeel gevalideerde status van de diverse modellen, worden m.n. vaccins in meer dan 1 diersoort getest. Het NHP TB model met zijn fylogenetische verwantschap, natuurlijke gevoeligheid voor *Mtb* infectie, en gelijkende TB ziekteverschijnselen (inclusief de kenmerkende granuloom vorming), benadert het beste de humane situatie.

De keuze voor makaken kan ook zijn ingegeven door het feit dat de inductie van een vaccinatie respons in ander diersoorten anders verloopt dan in primaten. Een mogelijke target van een therapeutische behandeling van *Mtb*, is de immuunrespons van de gastheer. De component van het immuunsysteem waarop de behandeling aangrijpt kan specifiek zijn voor de primate. Als deze component in minder

complexe diersoorten onvoldoende overeenkomt met de situatie in de mens, dan is het testen van die specifieke behandeling in apen de enige mogelijkheid.

Vermindering:

Binnen grote internationale consortia worden doorgaans meerdere vaccin kandidaten getest *in vitro* en in kleine proefdiermodellen. Alleen de meest-veelbelovende kandidaat(en) komt(komen) in aanmerking voor evaluatie in makaken. Hieraan gaat een uitvoerig selectieproces binnen het betreffende consortium vooraf. Dit leidt tot een vermindering van het aantal benodigde apen.

We streven er te allen tijde naar om op grond van een power analyse zo min mogelijk dieren te gebruiken als nodig voor een beantwoording van de onderzoeksvraag. Waar mogelijk worden studies gecombineerd, zodat de controle groepen kunnen worden gedeeld, om het benodigde aantal proefdieren terug te dringen.

Verfijning:

De dieren worden getraind om een voedselbeloning aan te nemen uit de hand van de dierverzorgers. Hierdoor kunnen de dieren goed worden geobserveerd.

Welzijnsobservaties worden gedaan door getrainde dierverzorgers die de dieren goed kennen. Hierbij worden parameters zoals ademhaling, eetlust, lichaamshouding en apathie gescoord op een semi-kwantitatieve basis.

Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume. De totale hoeveelheid afgenomen bloed wordt gemaximeerd tot de op het binnen het instituut vastgestelde limiet van 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken (en 0,7% max per bloeding).

PET/CT wordt ingezet om longitudinale data over het verloop van de ziekte te verkrijgen, waar klassieke pathologische evaluatie alleen eenmalig op eindpunt kan plaatsvinden. Aldus wordt met een gelijk aantal proefdieren meer informatie verkregen.

Het experimentele eindpunt van studies wordt doorgaans gesteld op een volgtijd van 12 tot 20 weken na infectie om verder ongerief te voorkomen. In eerdere studies is aangetoond dat (bij een relatief hoge dosis infectie) het verloop in de eerste weken na infectie vergelijkbaar is en voorspellend voor hetgeen tot 1 jaar na Mtb infectie wordt waargenomen. Humane eindpunten zijn vooraf vastgesteld om in onvoorziene gevallen het ongerief te beperken.

Om de dynamiek van de ziekte te registreren, worden klinische, radiologische en/of nucleair medische parameters gedurende de infectiefase gemeten. Herhaalde waarneming draagt bij aan de statistische power van dergelijke grootheden.

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thuishooi zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving via intramusculaire toediening.

Welzijnsobservaties: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren dierverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan worden de veterinaire en de onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts een behandeling worden gestart.

Zowel bij training als bij welzijnsobservaties wordt ook in de vorm van interactie en het aanbieden van verrijking (food en non-food) een zo optimaal mogelijk welzijn van de proefdieren nagestreefd.

Medicatie: Hoewel pijnsensatie ten gevolge van experimenteel handelen in de regel niet in dit model wordt waargenomen, kan het ook niet volledig worden uitgesloten. In geval van risico op, of het waarnemen van pijn tijdens de proef (om welke reden dan ook), zal door het team van dierenartsen een adequate pijnremedie/-profylaxe worden toegepast.

Milieu effecten: Om te voorkomen dat levend Mtb en/of levende, genetisch gemodificeerde vectoren (virussen of bacteriën die als vaccin worden onderzocht) in het milieu terecht komen, worden alle studies op biologisch inperkingsniveau DM3/ML3 uitgevoerd.

Het gebruik van radioactieve tracers (bijvoorbeeld 18F-FDG) ter visualisatie van TB laesies met behulp van de PET-CT scanner, behelst enig stralingsrisico. Het project zal worden uitgevoerd binnen de Kernenergiewet- en regelgeving. Maatregelen zoals tijdelijke opslag van afval tot nader verval van radioactiviteit; voor 18F-FDG binnen 24 uur zijn van kracht om de milieubelasting te voorkomen en milieueffecten zijn dan ook niet te verwachten. Dat geldt ook voor maatregelen ter reductie van de stralingsbelasting voor de mens.

Kans op overige nadelige milieueffecten is niet te verwachten, maar waar nodig zullen adequate maatregelen worden genomen. Het instituut waarbinnen de studies worden uitgevoerd is ISO 14001, "Omgevingsvergunning, onderdeel milieu", gecertificeerd.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Niet van toepassing, dit is geen wettelijk vereist onderzoek.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

De toediening van een teststof of vaccin kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale pijn en irritatie veroorzaken. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.

Als een biopt wordt genomen van een DTH plek, krijgen de dieren in overleg met de veterinaire adequate pijnstilling.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- 1> Ongerief door het ontwaken uit sedatie
- 2> Reactie op de vaccinatie of kandidaat geneesmiddel
- 3> Verlies van eetlust, gewichtsverlies, verminderde activiteit/alertheid en/of intensievere ademhaling/ademhalingsfrequentie ten gevolge van TB.
- 4> Ongerief door tijdelijke niet-sociale huisvesting.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- 1> Net als bij mensen kunnen we verwachten dat voor makaken het bijkomen uit een sedatie soms een gevoel van desoriëntatie en/of misselijkheid met zich meebrengt.
- 2> Vaccins worden vaak geformuleerd in een adjuvant. Dat kan een lokale reactie in de huid geven.
- 3> Door de TB infectie gaat het lichaam over op een overlevingsmodus. De energie wordt aangewend om de TB infectie te bestrijden en er is geen energie meer over om te eten (een kenmerk van de ziekte tuberculose ('de tering') per se). Hierdoor treedt gewichtsverlies op. Ook de intensievere ademhaling of ademhalingsfrequentie is een gevolg van pulmonaire TB. Als het energieniveau ten gevolge van bovenstaande symptomen te laag wordt, zullen dieren mogelijk minder alert op hun omgeving reageren.
- 4> De dieren zijn sociaal gehuisvest in duo's. Als een van de twee dieren een humaan eindpunt bereikt, dan blijft de ander alleen in de kooi achter.

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

- 1> De bijverschijnselen na sedatie kunnen niet worden geantagoneerd. Wel worden de dieren 16-18 uur voor aanvang van de procedure nuchter gehouden om te voorkomen dat ze overgeven en aspireren na sedatie.
- 2> Ongerief van teststoffen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
- 3> Dieren krijgen extra voedsel dat ze lekker vinden en/of een hoge calorische waarde heeft. Bij aanhoudend gewichtsverlies, zijn humane eindpunten geïndiceerd, zie vraag J.
- 4> Een mogelijke maatregel zou kunnen zijn dat een nieuwe kooimaat wordt geïntroduceerd aan het dier dat alleen achterblijft. Echter, introducties van nieuwe dieren veroorzaakt stress, niet alleen bij de kooimaat, maar ook bij de andere dieren in het verblijf en stress heeft een remmende invloed op het immuunsysteem. Bovendien is de periode van single huisvesting beperkt tot naar verwachting maximaal zo'n 6 weken. De voordelen van het introduceren van een nieuwe kooimaat wegen dan niet op tegen de nadelige uitwerking op de studie als geheel. Wel krijgt het dier waar nodig extra kooiverrijking.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Gewichtsverlies is een expliciet kenmerk van tuberculose ('de tering'). Daarmee is de gewichtsonwikkeling na experimentele TB infectie een belangrijke parameter voor de toepassing van humane eindpunten. Bij een gewichtsverlies van meer dan 20% ten opzichte van het piekgewicht na de infectie, of bij gewichtsverlies van meer dan 10% bij 2 opeenvolgende wegingen binnen 3-4 weken, zal in overleg met een veterinaire de conditie van het dier worden beoordeeld. Als ook andere parameters zoals veranderde ademhaling, PET-CT beeld en/of klinische bloedwaardes de ernst van de conditie bevestigen, is een humaan eindpunt geïndiceerd. Ook zonder gewichtsverlies kunnen observationele parameters als verzwaarde



Bijlage Beschrijving dierproeven

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

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	50200				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Biomedical Primate Research Centre				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Volgnummer</th> <th>Type dierproef</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2</td> <td>Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaat geneesmiddelen voor TB.</td> </tr> </tbody> </table>	Volgnummer	Type dierproef	2	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaat geneesmiddelen voor TB.
Volgnummer	Type dierproef				
2	Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaat geneesmiddelen voor TB.				

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Als onvoldoende gegevens beschikbaar zijn om dosis en toedieningsfrequentie van nieuwe behandelingen in het makiak TB model vast te stellen, kan het soms nodig zijn om de farmacokinetiek, farmacodynamiek en/of het optimale toedieningsschema van de nieuwe therapie te bepalen, voorafgaand aan het testen van de werkzaamheid in een TB studie. Nieuwe therapieën kunnen bestaan uit small molecules, of biologicals/monoclonale antistoffen.

Alleen als de noodzaak van het testen van nieuwe behandelingen in het makiak TB model is vastgesteld aan de hand van de criteria zoals aangegeven in bijlage 1, kan vervolgens bekeken worden of het noodzakelijk is om eerst de farmacokinetiek/farmacodynamiek van de middelen te bestuderen.

Criteria die aanleiding kunnen zijn voor het bepalen van de farmacokinetiek en farmacodynamiek van nieuwe kandidaat geneesmiddelen zijn:

- Onvoldoende gegevens om dosis en eventueel frequentie te kunnen extrapoleren van eerdere studies, andere species, vergelijkbare compounds.
- Waar mogelijk zal physiologically based pharmacokinetic modelling worden gebruikt om deze gegevens verder aan te vullen. Echter, voor biologicals is deze methode nog niet beschikbaar voor apen. Getracht zal worden om dit wel te ontwikkelen.
- Kleine therapeutische index.

Chemische compounds hebben vaak een kortere halfwaardetijd dan biologicals. De experimentele aanpak zal dus aangepast worden aan de aard van de teststof, beschikbare informatie vooraf, en de verwachte halfwaardetijd.

In een farmacokinetiek/farmacodynamiek studie wordt het geneesmiddel 1 maal of herhaald toegediend. De primaire uitkomstparameter is in veel gevallen de concentratie van het geneesmiddel in de circulatie/het bloed, maar de vraagstelling kan zich in dit preklinische model ook toespitsen op het bepalen van de weefstdistributie. Vaak wordt ook gekeken naar de effecten van het geneesmiddel op indirecte grootheden zoals hematologie, bloedchemie, celtypes in het bloed, cytokineproductie en andere functionele waarden. Ook hier kan het in voorkomende gevallen wenselijk zijn om indirecte grootheden als effect van geneesmiddeltoediening te meten in specifieke, perifere weefsels (bijvoorbeeld lymfoïde organen of long). Als longitudinale biosampling onmogelijk of ontoereikend is, kan euthanasie op het eindpunt van de studie nodig zijn om eindstandig weefselconcentraties of lokale, indirecte grootheden te meten.

In farmacokinetiek/farmacodynamiek studies is het meestal niet nodig om een controle groep mee te nemen. De waarden in het bloed voor toediening dienen als interne (baseline) controle. Alleen als de aard van de te verwachten effecten daar aanleiding toe geeft, bijvoorbeeld effecten in de lymfoïde organen, zal een controle groep worden geïnccludeerd.

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

- Biotechnische handelingen vinden typisch plaats onder sedatie. Waar nodig wordt de sedatie aangevuld met anesthesie. Sommige handelingen, zoals intramusculaire toediening kunnen plaatsvinden op wakkere dieren. Dieren worden voor aanvang van het experiment getraind om vrijwillig mee te werken.
- De toedieningsroute van een teststof wordt per studie bepaald en is afhankelijk van de aard van de teststof. Drugs met een korte halfwaardetijd moeten mogelijk frequent, enkele keren per week, worden toegediend. Monoclonale antistoffen hebben een langere halfwaardetijd en daarbij kan de frequentie worden verlaagd naar 1x per week of minder. Mogelijke toedieningsroutes zijn intradermaal (i.d.), intraveneus (i.v.), subcutaan (s.c), intramusculair (i.m), intranasaal (i.n.), oraal, bronchoalveolair via een bronchoscoop, of mucosaal na aerosolisatie/verneveling.
- Na de toediening zal regelmatig bloed worden afgenomen of anderszins biologisch materiaal worden verzameld (bijvoorbeeld via longspoeling). In het geval van farmacokinetiek kunnen dit meerdere kleine bloedafnames zijn in een relatief korte tijdsperiode na de eerste injectie. In het geval van farmacodynamiek, waarbij het effect van het kandidaat geneesmiddel op biologische/immunologische processen wordt bepaald, kunnen grotere bloedvolumes nodig zijn. De totale hoeveelheid afgenomen bloed zal het binnen het instituut vastgestelde maximum van 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken (en 0,7% max per bloeding) niet overschrijden.
- Bronchoalveolaire lavage (BAL), mits van toepassing, vindt plaats met behulp van een bronchoscoop, met een frequentie variërend tussen 1x per studie tot 1x per 2 weken.
- Als het nodig is om de aanwezigheid of de effecten van het nieuwe kandidaat geneesmiddel in de longen of de lymfoïde organen (van de longen) te meten, dan zullen de dieren worden geëuthanaseerd.

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

In een farmacokinetiek en/of farmacodynamiek experiment is in de meeste gevallen ieder dier zijn eigen controle. Statistische toetsing vindt plaats door vergelijking van een parameter (meestal de hoeveelheid teststof in het bloed) voor en na toediening van een behandeling. De grootte van een testgroep wordt niet door power analyse bepaald, maar op basis van ervaringen uit eerdere studies met een soortgelijke therapie. Een testgroep zal in de regel bestaan uit een gelimiteerd aantal dieren (n=2-4 per groep), omdat farmacokinetiek profielen consistent en doorgaans weinig verschillend tussen individuele dieren zijn. Het is een ervaringsgegeven uit eerdere studies dat een dergelijk beperkte groepsgrootte voldoende is. Het effect van een therapie op biologische processen (farmacodynamiek) omvat meerdere variabelen en vereist daarom een groepsgrootte van 3 tot 5 dieren, afhankelijk van de aard van de therapie/het therapeutikum en de uitkomstparameters. Als per geneesmiddel verscheidene doseringen en/of toedieningsroutes getest worden in hetzelfde experiment, kan vaak met 2 dieren per groep worden volstaan. Het aantal dieren per groep zal per studie ter goedkeuring worden voorgelegd aan de IvD.

B. De dieren

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

De studies zullen worden uitgevoerd in volwassen makaken, mannen en vrouwen, n=20.

De keuze welke species, resusapen (*Macaca mulatta*) of java apen (*Macaca fascicularis*), in de farmacokinetiek/farmacodynamiek studie gebruikt zal worden, zal worden bepaald door welke soort in de uiteindelijke effectiviteitsstudie zal worden gebruikt.

De dieren zullen afkomstig zijn van de eigen fok binnen het instituut waar het experiment wordt uitgevoerd of van een ander geregistreerd fok- en/of afleveringsbedrijf binnen de Europese Unie. Zowel mannen als vrouwen kunnen worden gebruikt. Bij voorkeur worden dieren van hetzelfde geslacht gebruikt zoals beoogd in de latere TB effectiviteitsstudie.

Groepsgroottes variëren meestal tussen de 2 en 5 dieren per groep, afhankelijk van of alleen farmacokinetiek wordt gemeten waarin weinig variatie tussen de dieren wordt verwacht of ook farmacodynamiek, waarin veel variatie tussen de dieren wordt verwacht. Het maximale geschatte aantal dieren dat in 5 jaar nodig zal zijn is 20.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1^e van de Wet op de Dierproeven.

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

Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging door *in silico* alternatieven

Physiologically based pharmacokinetic modelling zal worden toegepast waar mogelijk. Voor laag moleculaire chemische drugs is deze methode ontwikkeld, maar is op dit moment voor hoogmoleculaire biologische geneesmiddelen (biologicals), zoals monoclonale antistoffen, cytokines e.d. nog niet ontwikkeld. Wij zijn al in overleg met een binnenlands expertisecentrum om dit ook voor biologicals in apen te gaan ontwikkelen, maar toepassing hiervan is vooralsnog (en binnen het tijdsbestek van dit project prematuur).

Vervanging door *in vitro* alternatieven

In geval van biologicals of small molecules die aangrijpen op een specifieke cascade van de gastheer, zal, voorafgaand aan het PK/PD experiment in makaken, nadrukkelijk worden vastgesteld of er kruisreactiviteit en/of werkzaamheid is in deze proefdiersoort met gebruikmaking van proefdiervrije *in vitro* methoden.

Eveneens zullen waar nodig dergelijke assays worden ingezet voor kwaliteitscontrole van de kandidaat geneesmiddelen.

Vervanging door minder complexe diersoorten

De farmacokinetiek en/of farmacodynamiek is specifiek voor de diersoort. Als de noodzaak van het testen van de werkzaamheid van een nieuw therapeuticum in makaken is vastgesteld, dan volgt daaruit als vanzelf de noodzaak voor het testen van eventuele farmacokinetiek en/of -dynamiek in dezelfde betreffende diersoort. Vervanging door een minder complexe diersoort is in dat geval niet relevant.

Vermindering:

Farmacokinetiek/dynamiek studies kunnen met een beperkt aantal dieren in studie volstaan en draagt direct bij aan vermindering van het aantal dieren in makaka studies naar de werkzaamheid.

Verfijning:

Er is geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume.

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thulskooi vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving.

Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, ontlasting of anderszins, dan wordt de veterinaire arts en de onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts een behandeling worden gestart.

Medicatie: Hoewel pijn, lijden en angst in de regel niet worden waargenomen in dergelijke farmacokinetiek/farmacodynamiek studies, kan het niet volledig worden uitgesloten. In voorkomende gevallen zal in overleg door de veterinaire staf een adequate maatregel en eventuele medicatie worden vastgesteld.

Milieueffecten: Kans op nadelige milieueffecten is niet te verwachten, maar waar nodig zullen adequate maatregelen worden genomen. Het instituut waarbinnen de studies worden uitgevoerd is ISO 14001, "Omgevingsvergunning, onderdeel milieu", gecertificeerd.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

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

Niet van toepassing, dit is geen wettelijk vereist onderzoek.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

De toediening van een teststof kan in principe, en afhankelijk van de toedieningsroute, lokale irritatie en eventuele pijn veroorzaken. Bij lokale adversiteit zal het ongerief naar verwachting licht zijn, maar waar nodig zal de veterinaire staf in overleg een passende medicatie toepassen.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- 1> Ongerief door het ontwaken uit sedatie
- 2> Ongerief door toediening teststof
- 3> Ongerief door frequent vasten

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

- 1> Net als bij mensen kunnen we verwachten dat voor makaken het bijkomen uit een sedatie soms een gevoel van desoriëntatie en/of misselijkheid met zich meebrengt.
- 2> De toediening van een teststof kan, afhankelijk van de toedieningsroute, lokale irritatie en eventuele jeuk en/of pijn veroorzaken.
- 3> Een farmacokinetische reeks kan dagelijkse bloedsampling onder sedatie noodzakelijk maken, zeker in de eerste dagen na toediening van de teststof. Ten behoeve van de sedatie worden de dieren gevast. Door dit frequente vasten in de eerste dagen na toediening van de teststof is mogelijkheid tot voedselopname verminderd.

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

- 1> De bijverschijnselen na sedatie kunnen niet worden geantagoneerd. Wel worden de dieren 16-18 uur voor aanvang van de procedure nuchter gehouden om te voorkomen dat ze overgeven en aspireren na sedatie.
In geval dat de frequentie van sedaties (in de eerste dagen na de toediening van de teststof) dagelijks is, krijgen de dieren extra calorie-rijk en voedzaam dieet toegediend via een maagsonde. Hiertoe wordt, na afloop van de biotechnische handeling maar nog tijdens dezelfde sedatie sessie, kortstondig een sonde in de maag ingebracht.
- 2> Ongerief van de toedieningen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
- 3> Aanvullend voedzaam en calorierijk dieet wordt (via een maagsonde) toegediend gedurende de periode van frequent (dagelijks) vasten.

J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Gewichtsverlies van meer dan 20% ten opzichte van het gewicht voor de toediening, of bij gewichtsverlies van meer dan 10% binnen 3-4 weken, gecombineerd met andere waargenomen afwijkingen.

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

Het ligt niet in de lijn der verwachting dat dieren in farmacokinetiek/farmadynamiek studies humane

eindpunten bereiken, maar het is ook niet helemaal uit te sluiten. De verwachting is dat dit percentage tussen de 0 en 5% ligt.

K. Classificatie van ongerief

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

Het cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als maximaal matig. Het ongerief wordt vooral bepaald door het bijkomen uit de verdoving na de bloedafnames. Indien het aantal verdovingen beperkt is, kan in voorkomende gevallen het ongerief worden ingeschat als licht. Dit zal gebeuren in overleg met de IVD.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

Nee

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

In sommige gevallen zullen de dieren aan het eind van een studie worden gedood ten einde onderzoek te kunnen doen naar de biologische respons van de teststof op (lymfoïde) organen en/of de longen.

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja

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: AVD5020020172645
2. Titel van het project: Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken.
3. Titel van de NTS: Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in het tuberculose infectie model in makaken
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: 10.2.g
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2.e
 - e-mailadres contactpersoon: 10.2.e
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 17-08-2017
 - aanvraag compleet: 17-08-2017
 - in vergadering besproken: 24-08-2017
 - anderszins behandeld: 01-09-2017
 - termijnonderbreking(en) van 29-08-2017 tot 01-09-2017
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag: 01-09-2017
 - advies aan CCD: 04-09-2017
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: 29-08-2017 en 01-09-2017
 - Gestelde vraag/vragen: Enige tekstuele aanpassingen, aanvullende informatie betreffende de onderlinge samenhang en fasering van de subdoelen, go/no go momenten binnen en tussen de experimenten, het te gebruiken infectie agens, de te gebruiken diersoorten.
 - Datum antwoord: 01-09-2017
 - Verstrek(e) antwoord(en): Het project is aangepast in het projectvoorstel (onderlinge samenhang en fasering van de subdoelen, te gebruiken diersoorten), de bijlages (samenhang tussen modelverfijning en vaccin en therapie evaluatie studies, te gebruiken diersoorten) en in de NTS (enige tekstuele aanpassingen).
 - 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, bacteriële pathogenen, 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 *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* 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. Er waren geen conflicterende belangen bij de beoordeling van dit voorstel.

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 ziektemechanismen en de effectiviteit en veiligheid van nieuwe preventieve en therapeutische behandelmethoden tegen TB in niet-humane primaten en 2) vaststellen van de juiste dosering waarin het kandidaat geneesmiddel getest zal gaan worden, door middel van een farmacokinetiek/farmacodynamiek (PK/PD) studie. Deze vaccins en behandelingen zijn innovatief en gebaseerd op inzichten in het werkingsmechanisme en de wijze waarop het middel ingrijpt in de interactie tussen *Mycobacterium tuberculosis* en het immuunsysteem van de gastheer. Vaccinatie en behandelstrategieën zijn doorgaans ontwikkeld binnen internationale netwerken waar preklinische evaluatie in niet-humane primaten een essentieel onderdeel van vormt. De subdoelen sluiten logisch aan bij het hoofdoel en vormen een samenhangend geheel.
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 vaccinatie strategieën tegen TB getest op hun vermogen om een goede immuunrespons te induceren die bescherming biedt tegen *Mycobacterium tuberculosis* infectie of de ziekteverschijnselen reduceert en worden nieuwe behandelingen getest op veiligheid en het reduceren van TB ziekteverschijnselen. Tevens zal het project bijdragen aan een verdere verfijning van het TB infectie model en het verkrijgen van een beter inzicht in de interactie tussen de ziekteverwekker *Mycobacterium tuberculosis* en de gastheer. Ten slotte worden mogelijk geschikte biomarkers voor verfijnd uitlezen van de effectiviteit van behandelingen/vaccins verkregen.

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 vaccins en behandelingen tegen tuberculose op veiligheid en effectiviteit in niet-humane primaten. Het uiteindelijke doel is de implementatie van nieuwe vaccins die ofwel de BCG vaccinatie in pasgeborenen kan vervangen of als booster vaccin gegeven kan worden in (jong) volwassenen ter bescherming tegen *Mycobacterium tuberculosis* infectie. Daarnaast is het doel om nieuwe behandelingen te ontwikkelen die tuberculose effectiever kunnen genezen. Momenteel zijn meer dan 2 miljard mensen besmet met *mycobacteriën*, worden jaarlijks meer dan 10 miljoen mensen ziek en overlijden jaarlijks 1,8 miljoen mensen aan de gevolgen van tuberculose. Een groot probleem vormt het grote aantal mensen waarin de infectie subklinisch aanwezig is. Bij verminderde afweer kan alsnog ziekte optreden en de infectie kan zich bovendien verspreiden naar andere personen. Tevens vormt het ontstaan van drug resistente tuberculose, die momenteel moeilijk te behandelen is, een groot probleem. Met een effectief vaccin en effectieve medicijnen kan de verspreiding van tuberculose worden teruggedrongen. De onderzoekers willen de veiligheid en effectiviteit van TB vaccin kandidaten en kandidaat geneesmiddelen tegen tuberculose testen in niet-humane primaten voor toepassing in de mens. Het betreft hier *preklinisch* onderzoek. Het onderzoek vindt plaats binnen het kader van internationale netwerken gericht op het ontwikkelen van effectieve vaccins en/of

behandelingen tegen tuberculose en sluit aan bij de doelen van de WHO. 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 en geneesmiddelen tegen tuberculose zijn de te beschermen personen, de proefdieren en het onderzoeksveld.

Voor de te beschermen personen is het beschikbaar komen van een effectief vaccin tegen TB van groot belang, aangezien het infectie met *Mycobacterium tuberculosis* of de ernst van de ziekteverschijnselen en sterfte kan voorkomen c.q. verminderen. Met een effectief geneesmiddel tegen tuberculose dat na een korte behandeling resulteert in genezing van bijna alle patiënten wordt langdurig gebruik van geneesmiddelen vermeden en genezing mogelijk van 10-15% van de patiënten waarin de huidige middelen niet werken.

Het belang voor de samenleving is dat infectie met *Mycobacterium tuberculosis* en verspreiding onder de menselijke populatie voorkomen wordt. Dit resulteert in; een sterke verbetering van de gezondheid van grote groepen mensen, een sterke beperking van de uitgaven voor verpleging en medicatie en minder verlies in economische productiviteit.

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 binnen de consortia en 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. Tevens kan meer inzicht verkregen worden in de pathogenese van tuberculose.

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 *Mycobacterium tuberculosis* en het met de mens vergelijkbare ziektebeeld. Bovendien vertoont deze diersoort zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens. De kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn van tevoren gekarakteriseerd in *in vitro* en waar mogelijk in *in vivo* (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins en geneesmiddelen is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccin en geneesmiddel kandidaten kunnen niet afdoende in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest met oog op bescherming tegen infectie en genezing van tuberculose in de mens. De resultaten verkregen in dit proefdiermodel kunnen de sterkte van de immuunrespons van de kandidaat 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 of bijwerkingen van de kandidaat geneesmiddelen voor de mens kunnen in dit diermodel worden bepaald.

Voor alle studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt. Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.

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 maximaal matig ingeschat op basis van ervaring met PK/PD, vaccin evaluatie en *Mycobacterium tuberculosis* infectie studies in niet-humane primaten en wordt veroorzaakt door de experimentele technieken, de vaccinaties, de toegediende geneesmiddelen en de klinische symptomen ten gevolge van de infectie. In combinatie zijn de gevolgen van deze handelingen terecht als matig ongerief ingeschat. Echter in geval dat bij PK/PD studies een beperkt aantal verdovingen nodig is dan kan het ongerief als licht worden ingeschat. Door implementatie van humane eindpunten op basis van klinische symptomen en gewichtsverlies en door het aanhouden van een gelimiteerde infectie periode wordt ernstig ongerief vermeden. De dieren zijn speciaal voor onderzoek (dit doel) gefokt, en zullen als sociaal compatibel duo worden gehuisvest.

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, door de toediening van geneesmiddelen en door infectie met *Mycobacterium tuberculosis* en het nemen van huid biopten. Dieren die met *Mycobacterium tuberculosis* geïnoculeerd zijn worden aan het eind van de studie, of eerder bij het bereiken van een humaan eindpunt, gedood. Hierdoor wordt de ernst van de ziekte beperkt zodat ernstig ongerief vermeden wordt. Bovendien is doden van de dieren nodig om de belangrijkste uitkomstparameters, namelijk pathologie en bacteriën in de longen en organen te bepalen. Bij dieren die in een PK/PD studie gebruikt worden zal deze aantasting van voorbijgaande aard zijn en zullen de dieren in het algemeen geheel terug keren naar hun oorspronkelijke toestand, qua gezondheid en welzijn.
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 die de beschermende werking van vaccins in voldoende mate kan voorspellen. Ook een effect van het vaccin op het verloop van de ziekte kan niet met *in vitro* modellen 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 de *Mycobacterium tuberculosis* infectie en of geneesmiddelen tegen deze bacterie de ziekte kunnen genezen kan alleen zinvol getest worden in niet-humane primaten. Alhoewel diverse diersoorten geïnfecteerd kunnen raken met varianten *Mycobacterium* zijn maar enkele diersoorten gevoelig voor de *Mycobacterium tuberculosis*, die bij de mens voor komt en geeft deze bacterie alleen in niet-humane primaten een ziektebeeld dat vergelijkbaar is met tuberculose bij de mens. Voorwaarde voor vaccin studies in niet-humane primaten is wel dat er een wetenschappelijke onderbouwing is voor de mogelijke werkzaamheid van het product en dat waar mogelijk aanvullend onderzoek gedaan is in het laboratorium en in andere diersoorten. 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 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. Het uitvoeren van een PK/PD studie zal worden uitgevoerd met alleen het strikt noodzakelijk aantal dieren. Waar mogelijk zal physiologically based pharmacokinetic modellering worden toegepast om gebruik van proefdieren te minimaliseren. Bij het onderzoeken van meerdere test kandidaten binnen een proefopzet zal het aantal controlegroepen beperkt worden. Vaak is bij een vaccin evaluatie studie echter wel een BCG gevaccineerde positieve controle groep nodig, omdat de nieuwe vaccinatie strategie een verbetering moet geven ten opzichte van BCG. Het werkelijk aantal dieren gebruikt in dit project wordt bepaald door het aanbod van kandidaat vaccins en geneesmiddelen en kan daardoor mogelijk lager uitvallen dan het gevraagde maximum. Deze DEC verwacht dat in het voorgestelde onderzoeksproject, dat is ingebed in grote, internationale consortia, belangrijke vooruitgang in de ontwikkeling van vaccins en kandidaat geneesmiddelen tegen tuberculose wordt bereikt. Het maximum aantal dieren is realistisch ingeschat.

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 diertechnische 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. Tijdens dit project wordt een verdere verfijning van het model nagestreefd en worden verfijndere uitleesparameters van de ziekte ontwikkeld, zoals PET-CT en analyse van uitgedemde metabolieten. 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.
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, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd. Dieren waarbij *Mycobacterium tuberculosis* is toegediend zullen aan het einde van het experiment worden gedood om te pathologie en de hoeveelheid bacteriën in de longen en andere organen te bepalen. Daarnaast worden dieren ge-euthanaseerd wanneer humane eindpuntcriteria worden bereikt, dit om verder ongerief te voorkomen (zoals gedefinieerd in de projectaanvraag). Bij PK/PD studies zullen de meeste dieren in leven blijven aan het einde van het experiment, behalve als het effect van de teststof op de organen onderzocht moet worden. 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 en geneesmiddelen tegen tuberculose 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 waarde voor de te beschermen personen en voor mensen met een (latente) *Mycobacterium tuberculosis* infectie is gelegen in ofwel het voorkomen van infectie met deze bacterie of het genezen, ook van de drug resistente vormen, van *Mycobacterium tuberculosis*. Dit betekent een sterke verbetering van de gezondheid en kwaliteit van leven van de betrokken personen. De waarden voor de samenleving zijn gelegen in het ontwikkelen van vaccins en betere medicijnen tegen tuberculose. Momenteel is alleen BCG als vaccin beschikbaar. BCG biedt echter geen bescherming tegen het ontstaan van longziekte in jongvolwassenen en volwassenen. Met de huidige beschikbare medicijnen kan genezing bereikt worden in 85-90% van de geïnfecteerde mensen. Hiervoor is echter een langdurige en kostbare behandeling nodig, die met name in "resource poor" settings moeilijk is te realiseren. Bovendien is er een sterke toename van multi-drug en extensieve drug resistente vormen van *Mycobacterium tuberculosis*. Naar schatting zijn wereldwijd 2 miljard mensen besmet met mycobacteriën, worden jaarlijks 10 miljoen mensen ziek en overlijden jaarlijks 1,8 miljoen mensen aan de gevolgen van tuberculose. De voordelen van het beschikbaar komen van een effectief vaccin of betere medicijnen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten) als bevorderlijk voor het algemene welzijn van de samenleving (minder zieken, minder doden). Bovendien wordt hierdoor de verspreiding van tuberculose voorkomen.

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, bronchoscopie, biopten en infectie met *Mycobacterium tuberculosis*. Dit resulteert in maximaal matig ongerief voor de dieren.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de werking van potentiële tuberculose vaccins en de respons van het immuunsysteem hierop, de werking van geneesmiddelen en in voorkomende gevallen ook de interactie tussen de bacterie 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 een vaccin dat beschermt tegen *Mycobacterium tuberculosis* infectie en geneesmiddelen tegen de ziekte. Het terugdringen van tuberculose in de mens kan ook de verspreiding naar niet humane primaten verminderen. 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 *Mycobacterium tuberculosis* infectie kan voorkomen en het ontwikkelen van een effectief medicijn met *Mycobacterium tuberculosis*-geïnfecteerde mensen kan genezen. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in de pathogenese van tuberculose en de mechanismen van beschermende immuniteit.

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 *Mycobacterium tuberculosis*-infectie en vaccins tegen deze bacterie. De gekozen strategie voor infectie en vaccinatie, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit deze eerdere studies. Daarnaast bestaat binnen het instituut ruime ervaring met PK/PD studies en evaluatie van nieuwe geneesmiddelen in niet-humane primaten. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor infectie met *Mycobacterium tuberculosis*, het op de mens vergelijkbare ziektebeeld na *Mycobacterium tuberculosis* infectie 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 en geneesmiddelen worden ontwikkeld binnen het kader van gespecialiseerde grote internationale consortia. De kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn tevoren gekarakteriseerd in *in vitro* en voor zover mogelijk *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. De mate waarin kandidaat geneesmiddelen naast het doden van bacteriën ook ernstige schade aan de long kunnen voorkomen kan alleen getest worden in dit diermodel aangezien alleen in niet-humane primaten het ziekteverloop, met de vorming van granulomen en disseminatie naar extra-pulmonaire weefsels, in voldoende mate overeenkomt met tuberculose bij de mens.

De 3V-principes worden gehonoreerd door het toepassen van een klinische scoringstabel, training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen (positieve reinforcement) en het ontwikkelen van verfijnde uitleesparameters (PET-CT, meten uitgedemde metaboliëten). Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt. Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt. Het grote aantal dieren dat nodig is valt te rechtvaardigen doordat naar verwachting de inbedding van dit onderzoek in grote internationale consortia zal leiden tot het beschikbaar komen van diverse vaccin en geneesmiddel kandidaten.

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, specificiteer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.
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.



7

Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

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

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD5020020172645
Bijlagen
2

Datum 6 september 2017
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 5 september 2017. Het gaat om uw project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD5020020172645. 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).

Datum:

6 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD5020020172645

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
6 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172645

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

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

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

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

Datum:
6 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172645

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

Gegevens gemachtigde

Naam: 10.2.e
Postbus: 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK

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: 15 november 2017
Geplande einddatum: 14 november 2022
Titel project:

Datum:
6 september 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172645

Titel niet-technische samenvatting: Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken

Naam DEC: 10.2.g
Postadres DEC: 10.2.g
E-mailadres DEC: 10.2.e

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.287,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: [x] Projectvoorstel
[x] Beschrijving Dierproeven
[x] Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen: [x] Melding Machtiging
[x] DEC-advies

Ondertekening

Naam: 10.2.e
Functie: 10.2.g
Plaats: Rijswijk
Datum: 4 september 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

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

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD5020020172645

Datum 27 september 2017
Betreft aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 5 september 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken" met aanvraagnummer AVD5020020172645. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

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

Niet technische samenvatting

De NTS is erg lang en bevat ongeveer 1000 woorden. Een NTS bevat bij voorkeur maximaal 500 woorden. U wordt verzocht de NTS in te korten.

Onduidelijkheden

- 1) U beschrijft in uw aanvraag dat beide geslachten zullen worden ingezet. In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u dat u bij voorkeur dieren gebruikt worden van hetzelfde geslacht zoals beoogd in de latere effectiviteitsstudie. Dit kan op meerdere manieren gelezen worden. Kunt u verhelderen wat hiermee bedoeld wordt? Wij stellen deze vraag omdat in het kader van de transleerbaarheid naar de mens het gebruik van beide geslachten in elke studie van belang is.
- 2) U beschrijft het gebruik van dieren voor testen van veiligheid en efficacy van vaccins en geneesmiddelen, maar daarnaast ook parameter optimalisatie. Kunt u aangeven hoeveel dieren gebruikt zullen worden voor parameter optimalisatie en hoeveel dieren u inzet voor de primaire doelstelling van het

testen van vaccins en geneesmiddelen?

3) U beschrijft dat het rundermodel vooral bruikbaar is voor identificatie van biomarkers die beschermende immuniteit na vaccinatie voorspellen. Dit is ook één van de doelstellingen van dit project. Kunt u aangeven waarom u voor deze doelstelling apen wilt gebruiken en u deze vraag niet in runderen kunt beantwoorden?

4) Kunt u een inschatting maken van het aantal rhesus-ape versus java-ape voor beide bijlagen? Wij begrijpen dat exacte aantallen moeilijk te geven zijn, maar zouden graag een schatting ontvangen.

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

Opsturen binnen veertien dagen

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

Wanneer een beslissing

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

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

Bijlagen:

- Melding bijlagen

Datum:

27 september 2017

Aanvraagnummer:

AVD5020020172645

**Antwoord op vragen van de CCD betreffende project aanvraag AVD5020020172645
"Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in
een tuberculose infectie model in makaken".**

Beste Leden van de CCD,

Op onze project aanvraag AVD5020020172645 "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken" hebben we een aantal vragen ter verdere verduidelijking van u ontvangen en het verzoek om de NTS in te korten. Hieronder vindt u onze puntsgewijze beantwoording/verduidelijking (gewoon lettertype) op de door u gestelde vragen (*italics*). De NTS wordt apart bijgevoegd.

- 1) *U beschrijft in uw aanvraag dat beide geslachten zullen worden ingezet. In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u dat u bij voorkeur dieren gebruikt worden van hetzelfde geslacht zoals beoogd in de latere effectiviteitsstudie. Dit kan op meerdere manieren gelezen worden. Kunt u verhelderen wat hiermee bedoeld wordt? Wij stellen deze vraag omdat in het kader van de transleerbaarheid naar de mens het gebruik van beide geslachten in elke studie van belang is.*

Ofschoon in zijn algemeenheid mannen vrouwen biologisch verschillend zijn, is er voor zover wij weten voor TB geen éénduidige aanwijzing dat pathogenese of beschermende immuniteit in mannen versus vrouwen verschilt. Op grond hiervan zien wij dus geen reden om te veronderstellen dat preklinische aapdata alleen geslachtsspecifiek transleerbaar zijn.

Echter, in het verleden is door ons binnen één experiment een verschil in longpathologie (als primaire uitkomstmaat) waargenomen tussen mannetjes en vrouwtjes resusapen, resulterend in een grotere standaarddeviatie dan vooraf ingeschat. We hebben geen andere verklaring voor deze waarneming dan dat niet-genetische factoren (omgevingsfactoren) een impact hebben op het verloop van experimentele TB in makaken; de mannetjes en vrouwtjes in dit experiment hadden een andere 'huisvestingsgeschiedenis' binnen onze fokkolonie. Een dergelijke situatie en de daaruit volgende consequentie om grotere groepsgroottes te moeten gebruiken, willen we voorkomen. Door per experiment, zonder voorkeur, en op basis van beschikbaarheid een homogene groep mannen danwel vrouwen te selecteren en zodoende de spreiding binnen 1 experiment te reduceren, denken wij uiteindelijk proefdieren te sparen.

Tot slot: mocht op enig moment toch blijken dat het gebruik van 1 sekse binnen 1 studie de transleerbaarheid nadelig beïnvloedt, dan zullen we de studie opzet navenant aanpassen en (grotere) studiegroepen van gemengd geslacht gebruiken.

- 2) *U beschrijft het gebruik van dieren voor testen van veiligheid en efficacy van vaccins en geneesmiddelen, maar daarnaast ook parameter optimalisatie. Kunt u aangeven hoeveel dieren gebruikt zullen worden voor parameter optimalisatie en hoeveel dieren u inzet voor de primaire doelstelling van het testen van vaccins en geneesmiddelen?*

De dieren die gebruikt worden binnen Bijlage 2 (maximaal n=20) dienen allen ter ondersteuning van het testen van geneesmiddelen.

Het geschatte maximumaantal dieren in Bijlage 1 is 400. Daarvan zullen naar schatting tussen de 200 en 350 dieren worden gebruikt voor het testen van vaccins en behandelingen en tussen de 25 en 75 voor parameteroptimalisatiestudies. Daarbij zal te allen tijde het maximum van 400 in totaal, niet worden overschreden (het één gaat ten laste van het ander).

- 3) *U beschrijft dat het rundermodel vooral bruikbaar is voor identificatie van biomarkers die beschermende immuniteit na vaccinatie voorspellen. Dit is ook één van de doelstellingen van dit project. Kunt u aangeven waarom u voor deze doelstelling apen wilt gebruiken en u deze vraag niet in runderen kunt beantwoorden?*

Wellicht is in de beschrijving van het rundermodel wat stellig geformuleerd, maar er is in elk geval 1 paper die immunologische correlaten van beschermende immuniteit na toediening van een humane TB vaccin-kandidaat beschrijft. Echter, men moet zich goed realiseren dat in het betreffende model een interactie tussen rund en *Mycobacterium bovis* als surrogaat voor humane TB wordt gebruikt. Makaken daarentegen zijn van nature gevoelig voor infectie met het humane pathogeen, *Mycobacterium tuberculosis*, dat ook in onze experimentele infecties wordt gebruikt. Bovendien lijkt het arsenaal aan immuun-reagentia en assays dat transleerbaar in het makaakmodel gebruikt kan worden, groter dan in het rundermodel. Derhalve menen wij dat het bestaan van een *M.bovis* rundermodel het gebruik van een *M.tuberculosis* makaakmodel geenszins in de weg moet staan.

- 4) *Kunt u een inschatting maken van het aantal rhesus-ape versus java-ape voor beide bijlagen? Wij begrijpen dat exacte aantallen moeilijk te geven zijn, maar zouden graag een schatting ontvangen.*

Naar verwachting zal zowel in Bijlage 1 als in Bijlage 2 minimaal driekwart van het aantal gebruikte dieren resus aap zijn. Met andere woorden: het aantal gebruikte Java apen zal beperkt zijn.



Advies aan CCD

B

Datum 19 oktober 2017
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD20172645

Instelling: Biomedical Primate Research Centre
Onderzoeker: 10.2.e
Project: Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken
Aanvraagnummer: AVD20172645
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

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

Proces	<p>De aanvrager is nog de volgende vragen gesteld.</p> <ol style="list-style-type: none">1) De NTS is erg lang en bevat meer dan 1000 woorden. Streven is een woordenaantal van maximaal 500 woorden. Graag de NTS inkorten.2) U beschrijft in uw aanvraag dat beide geslachten zullen worden ingezet. In bijlage 3.4.4.2 beschrijft u dat u bij voorkeur dieren gebruikt worden van hetzelfde geslacht zoals beoogd in de latere effectiviteitsstudie. Dit kan op meerdere manieren gelezen worden. Kunt u verhelderen wat hiermee bedoeld wordt? Wij stellen deze vraag omdat in het kader van de transleerbaarheid naar de mens het gebruik van beide geslachten in elke studie van belang is.4) U beschrijft het gebruik van dieren voor testen van veiligheid en efficacy van vaccins en geneesmiddelen, maar daarnaast ook parameter optimalisatie. Kunt u aangeven hoeveel dieren gebruikt zullen worden voor parameter optimalisatie en hoeveel dieren u inzet voor de primaire doelstelling van het testen van vaccins en geneesmiddelen?5) U beschrijft dat het rundermodel vooral bruikbaar is voor identificatie van biomarkers die beschermende immuniteit na vaccinatie voorspellen. Dit is ook één van de doelstellingen van dit project. Kunt u aangeven waarom u voor deze doelstelling apen wilt gebruiken en u deze vraag niet in runderen kunt beantwoorden?6) Kunt u een inschatting maken van het aantal rhesus- apen versus java- apen voor beide bijlagen? Wij begrijpen dat exacte aantallen moeilijk te geven zijn, maar zouden graag een schatting ontvangen.
---------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		300	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
	Java-apen (Macaca fascicularis)		100	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB				
	Rhesusapen (Macaca mulatta)		15	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
	Java-apen (Macaca fascicularis)		5	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

De dieren van bijlage 3.4.4.1 zijn gehuisvest in duo's. Als een van de twee dieren een humaan eindpunt bereikt, dan blijft de ander alleen in de kooi achter.

citaat: Een mogelijke maatregel zou kunnen zijn dat een nieuwe kooimaat wordt geïntroduceerd aan het dier dat alleen achterblijft. Echter, introducties van nieuwe dieren veroorzaakt stress, niet alleen bij de kooimaat, maar ook bij de andere dieren in het verblijf en stress heeft een remmende invloed op het immuunsysteem. Bovendien is de periode van single huisvesting beperkt tot naar verwachting maximaal zo'n 6 weken. De voordelen van het introduceren van een nieuwe kooimaat wegen dan niet op tegen de nadelige uitwerking op de studie als geheel. Wel krijgt het dier waar nodig extra kooiverrijking.

Er wordt gebruik gemaakt van NHP.

Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

- 3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken / Rhesusapen (Macaca mulatta): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

- 3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken / Java-apen (*Macaca fascicularis*): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.
- 3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB / Rhesusapen (*Macaca mulatta*): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt. Citaat: Zowel mannen als vrouwen kunnen worden gebruikt. Bij voorkeur worden dieren van hetzelfde geslacht gebruikt zoals beoogd in de latere TB effectiviteitsstudie.
- 3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB / Java-apen (*Macaca fascicularis*): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt. Zie Rhesusapen.

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

2 DEC advies

DEC-advies	<p>Citaat uit DEC advies: De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor infectie met <i>Mycobacterium tuberculosis</i> en het met de mens vergelijkbare ziektebeeld. Bovendien vertoont deze diersoort zeer grote fysiologische en immunologische overeenkomsten met de mens. De kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn van tevoren gekarakteriseerd in vitro en waar mogelijk in vivo (veelal knaagdieren) modellen. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling van kandidaat vaccins en geneesmiddelen is het echter noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid te onderzoeken in een diermodel waarin de aard en verloop van de ziekte grote overeenkomsten vertonen met de mens. Vaccin en geneesmiddel kandidaten kunnen niet afdoende in andere diermodellen of alternatieve modellen worden getest met oog op bescherming tegen infectie en genezing van tuberculose in de mens. De resultaten verkregen in dit proefdiermodel kunnen de sterkte van de immuunrespons van de kandidaat 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 of bijwerkingen van de kandidaat geneesmiddelen voor de mens kunnen in dit diermodel worden bepaald. Voor alle studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt. Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.</p> <p>Of een vaccin bescherming kan bieden tegen de <i>Mycobacterium</i></p>
-------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

tuberculose infectie en of geneesmiddelen tegen deze bacterie de ziekte kunnen genezen kan alleen zinvol getest worden in niet-humane primaten. Alhoewel diverse diersoorten geïnfecteerd kunnen raken met varianten Mycobacterium zijn maar enkele diersoorten gevoelig voor de Mycobacterium tuberculosis, die bij de mens voor komt en geeft deze bacterie alleen in niet-humane primaten een ziektebeeld dat vergelijkbaar is met tuberculose bij de mens. Voorwaarde voor vaccin studies in niet-humane primaten is wel dat er een wetenschappelijke onderbouwing is voor de mogelijke werkzaamheid van het product en dat waar mogelijk aanvullend onderzoek gedaan is in het laboratorium en in andere diersoorten. 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 ontwikkeling daarom dan ook niet verantwoord.

Hergebruik wordt altijd overwogen en ook nagestreefd (binnen de kaders omtrent dierenwelzijn en wetenschappelijke kwaliteit).

Ethische afweging van de DEC:

1. Rechtvaardigt het testen van nieuwe vaccins en geneesmiddelen tegen tuberculose 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 waarde voor de te beschermen personen en voor mensen met een (latente) Mycobacterium tuberculose infectie is gelegen in ofwel het voorkomen van infectie met deze bacterie of het genezen, ook van de drug resistente vormen, van Mycobacterium tuberculosis. Dit betekent een sterke verbetering van de gezondheid en kwaliteit van leven van de betrokken personen. De waarden voor de samenleving zijn gelegen in het ontwikkelen van vaccins en betere medicijnen tegen tuberculose.

Momenteel is alleen BCG als vaccin beschikbaar. BCG biedt echter geen bescherming tegen het ontstaan van longziekte in jongvolwassenen en volwassenen. Met de huidige beschikbare medicijnen kan genezing bereikt worden in 85-90% van de geïnfecteerde mensen. Hiervoor is echter een langdurige en kostbare behandeling nodig, die met name in "resource poor" settings moeilijk is te realiseren. Bovendien is er een sterke toename van multi-drug en extensieve drug resistente vormen van Mycobacterium tuberculose. Naar schatting zijn wereldwijd 2 miljard mensen besmet met mycobacteriën, worden jaarlijks 10 miljoen mensen

ziek en overlijden jaarlijks 1,8 miljoen mensen aan de gevolgen van tuberculose. De voordelen van het beschikbaar komen van een effectief vaccin of betere medicijnen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten) als bevorderlijk voor het algemene welzijn van de samenleving (minder zieken, minder doden). Bovendien wordt hierdoor de verspreiding van tuberculose voorkomen.

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, bronchoscopie, bipten en infectie met *Mycobacterium tuberculosis*. Dit resulteert in maximaal matig ongerief voor de dieren.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in de werking van potentiële tuberculose vaccins en de respons van het immuunsysteem hierop, de werking van geneesmiddelen en in voorkomende gevallen ook de interactie tussen de bacterie 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 een vaccin dat beschermt tegen *Mycobacterium tuberculosis* infectie en geneesmiddelen tegen de ziekte. Het terugdringen van tuberculose in de mens kan ook de verspreiding naar niet humane primaten verminderen. 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 *Mycobacterium tuberculosis* infectie kan voorkomen en het ontwikkelen van een effectief medicijn met *Mycobacterium tuberculosis*- geïnfecteerde mensen kan genezen. Daarnaast kan dit onderzoek meer inzicht geven in de pathogenese van tuberculose en de mechanismen van beschermende immuniteit.

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 *Mycobacterium tuberculosis*-infectie en vaccins tegen deze bacterie. De gekozen strategie voor infectie en vaccinatie, alsmede het management van dierenwelzijn,

is mede gebaseerd op ervaringen uit deze eerdere studies. Daarnaast bestaat binnen het instituut ruime ervaring met PK/PD studies en evaluatie van nieuwe geneesmiddelen in niet-humane primaten. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor infectie met *Mycobacterium tuberculosis*, het op de mens vergelijkbare ziektebeeld na *Mycobacterium tuberculosis* infectie 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 en geneesmiddelen worden ontwikkeld binnen het kader van gespecialiseerde grote internationale consortia. De kandidaat vaccins en geneesmiddelen zijn tevoren gekarakteriseerd in in vitro en voor zover mogelijk 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. De mate waarin kandidaat geneesmiddelen naast het doden van bacteriën ook ernstige schade aan de long kunnen voorkomen kan alleen getest worden in dit diermodel aangezien alleen in niet-humane primaten het ziekteverloop, met de vorming van granulomen en disseminatie naar extra-pulmonaire weefsels, in voldoende mate overeenkomt met tuberculose bij de mens.

De 3V-principes worden gehonoreerd door het toepassen van een klinische scoringstabel, training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen (positive reinforcement) en het ontwikkelen van verfijnde uitleesparameters (PET-CT, meten uitgedemde metabolieten). Dieren van beide geslachten zullen worden gebruikt. Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven.

Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt. Het grote aantal dieren dat nodig is valt te rechtvaardigen doordat naar verwachting de inbedding van dit onderzoek in grote internationale consortia zal leiden tot het beschikbaar komen van diverse vaccin en geneesmiddel kandidaten.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij

	<p>- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd</p> <p>Gestelde vraag/vragen: Enige tekstuele aanpassingen, aanvullende informatie betreffende de onderlinge samenhang en fasering van de subdoelen, go/no go momenten binnen en tussen de experimenten, het te gebruiken infectie agens, de te gebruiken diersoorten.</p> <p>- Verstrek(e) antwoord(en): Het project is aangepast in het projectvoorstel (onderlinge samenhang en fasering van de subdoelen, te gebruiken diersoorten), de bijlages (samenhang tussen modelverfijning en vaccin en therapie evaluatie studies, te gebruiken diersoorten) en in de NTS (enige tekstuele aanpassingen).</p> <p>- De antwoorden hebben wel geleid tot aanpassing van de aanvraag</p> <p>Het DEC advies is Verlenen onder voorwaarden</p> <p>Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.</p>
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	
<p>Het DEC advies is helder, navolgbaar en goed onderbouwd. De aan de aanvrager gestelde vragen en bijbehorende antwoorden zijn niet volledig weergegeven. Het betreft vragen waarvan zeer aannemelijk is dat de antwoorden zijn verwerkt in de aangepaste aanvraagformulieren.</p>	

4 Inhoudelijke beoordeling

Doelstelling	Citaat:
Doelstelling	<p>De experimentele TB studies in NHP in het huidige project dienen de volgende doelstellingen:</p> <ul style="list-style-type: none"> • de preklinische evaluatie van nieuwe behandelmethodes (vaccins, immuun-modulatoire regimes), • het optimaliseren en verder verfijnen van modelcondities, • het vergroten van ons (fundamentele) inzicht in mechanismen/cascades van beschermende Immunitet en TB pathogenese, • het karakteriseren van (translationele) biomarkers van beschermende immunitet en uiteindelijk, • een bijdrage leveren aan het terugdringen van de TB pandemie. <p>Deze doelstellingen zijn per experiment veelal complementair en sluiten elkaar geenszins uit.</p> <p>Voor nadere toelichting van de doelstellingen zie vraag 3.2 van het projectvoorstel.</p>

<p>Wetenschappelijk en maatschappelijk belang</p>	<p>Citaat:</p> <p>De urgentie voor het ontwikkelen van verbeterde vaccins en behandelingen tegen TB is hoog, getuige het enorme aantal TB-gerelateerde doden, elk jaar weer. Bovendien zijn morbiditeit en economisch verlies ten gevolge van TB, als ook onder 3.1 beschreven, aanzienlijk. Nieuwe vaccinatiestrategieën en behandelingsregimes zijn dringend nodig om het wereldwijde TB probleem aan te pakken en de ontwikkeling hiervan sluit direct aan bij de ambitie van de WHO, zoals geformuleerd in haar 'The End TB Strategy' (1), om TB te bestrijden</p> <p>Als eerder aangegeven, mist het onderzoeksveld een éénduidig begrip van mechanismen of correlaten van beschermende immuniteit en pathogenese.</p> <p>Eenzijds hindert dit gebrek aan inzicht een zuiver rationeel ontwerp van verbeterde therapieën met een grote kans van slagen op succesvolle toepassing. Daarom is in zekere mate empirisch, pre-klinisch onderzoek vooralsnog nodig om het nodige vertrouwen in met name werkzaamheid te hebben alvorens kostbare en beperkte klinische TB onderzoekscapaciteit wordt aangewend om werking in de mens te onderzoeken (Phase 11b/111 efficacy trials). Het NHP model fungeert hierbij als een belangrijke preklinische poortwachter (stage-gating instrument) in het TB vaccin-ontwikkelingsproces om risico op falen in latere klinische testfasen te beperken. Niet minder belangrijk, de bestudering van (diverse) immunologische reacties in onze NHP TB studies draagt bij aan een groter inzicht en daarmee aan een verbeterde rationele benadering met grotere kans van slagen voor de ontwikkeling van een vaccinatiestrategie die beter werkt dan BCG.</p> <p>Anderzijds zijn door gebrek aan kennis geen eenduidige correlaten of biomarkers bekend waarmee de uitkomst van therapie kan worden voorspeld. Biomarkers zouden uitermate waardevol zijn met name als eindpunt-parameter om klinische werkzaamheid efficiënter (lees: vroegtijdig) vast te kunnen stellen. Het is in dit verband van groot belang om op te merken dat zogenaamde klinische efficacy trials op zich en het ontbreken van eenduidig hanteerbare biomarkers voor zulke langdurige, complexe en kostbare trials aanzienlijke knelpunten vormen voor een snelle ontwikkeling en implementatie van een nieuw vaccin. Van NHP studies met name kan worden verwacht dat enig resultaat op dit gebied van biomarkeridentificatie snel kan worden vertaald naar een klinische toepassing.</p> <p>Ten aanzien van therapeutische behandeling van TB is het vervangen of</p>
---------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

het verkorten van de duur van van de huidige, langdurige antibiotica-therapie een belangrijke doelstelling. Omdat het langdurige gebruik van de huidige antibiotica vervelende en ernstige bijwerkingen heeft, heeft het verkorten van therapieduur een direct gunstig effect voor de huidige TB chemotherapie. Het vergroten van de succespercentages van TB behandeling (op dit moment 85-90%) en het voorkomen van reactivatie zijn daarnaast zeer gewenst om de verdere ontwikkeling en verspreiding van drug resistente Mtb tegen te gaan.

Kortom, het onderzoek naar nieuwe behandelingen tegen TB is grotendeels ingebed binnen onderzoeksprogramma's van grote internationale organisaties en consortia (6). De preklinische evaluatie van de effecten van nieuwe vaccins en geneesmiddelen in apen en het vaststellen van de werkzaamheid in een 'outbred' primaten populatie (i.p.v. bijvoorbeeld een 'inbred' knaagdier) wordt in het algemeen gezien als een kritisch element voorafgaand aan toepassing van nieuwe vaccins en nieuwe kandidaat

geneesmiddelen in de mens (11, 23). Voorbeelden van specifieke vragen die in het preklinische traject moeten worden beantwoord, zijn: Kunnen we primaire vaccinatie tegen tuberculose (door vervanging van BCG) verbeteren? Kunnen andere vaccins de effecten van BCG versterken? Kunnen populaties die ongevoelig zijn voor de werking van BCG, alsnog beschermd worden door aanvullende booster vaccinatie? Kan een vaccin alleen de mate van ziekte terugdringen of kan het de Infectie ook voorkomen? Kunnen nieuwe (combinaties van) therapieën de behandelduur van TB verkorten? Is een nieuw kandidaat geneesmiddel effectief in het verminderen van de ziekteverschijnselen en welke mechanismen spelen daarbij een rol?

Het TB model in makaken is reeds eerder opgezet en gehanteerd binnen het instituut waar dit project zal worden uitgevoerd. Het NHP TB model heeft geleid tot belangrijke inzichten voor TB vaccinatie en de rol van het model in de ontwikkeling van vaccins [...]. Voortschrijdend inzicht en nieuwe vraagstellingen zullen vereisen dat we studieparameters en modelcondities verder optimaliseren en verfijnen. Terwijl wereldwijd de beschikbaarheid van dit NHP model schaars is, zal het voorgestelde onderzoek en de verfijning van uitleesparameters en modelcondities een belangrijke bijdrage leveren aan het versterken van onze expertise op het gebied van experimentele TB en aan het wereldwijde research & development doel om nieuwe profylactische en therapeutische strategieën te ontwikkelen in het bijzonder, om zodoende de wereldwijde TB epidemie te bestrijden.

Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Het belang is uitgebreid beschreven.
Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek	De DEC zegt hierover: "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." Het Secretariaat heeft geen reden hieraan te twifelen.

3V's

Vervanging	<p>3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken: Citaat:</p> <p>Vervanging door in vitro alternatieven</p> <p>Tuberculose is een ziekte waarbij de interactie tussen Mtb en het immuunsysteem van de gastheer verantwoordelijk is voor het uiteindelijke ziektebeeld. Het is bij de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk dit na te bootsen met diervrije in vitro alternatieven. Ook vaccinatie, zonder kennis van het exacte mechanisme van beschermende werking, is een complex immunologisch proces waar tot op heden geen alternatief voor beschikbaar is, anders dan het gebruik van het intacte, levende organisme.</p> <p>Om te bepalen of makaken geschikt zijn voor het testen van een beoogde behandeling met bijvoorbeeld monoclonale antistoffen, zal de binding van de monoclonale antistoffen met het antigeen in de betreffende makaaksoort worden getest met in vitro methoden. Ook de kwaliteitscontrole van nieuwe vaccins en behandelingen wordt zoveel als mogelijk gedaan zonder gebruik van levende dieren.</p> <p>Vervanging door sociaal en psychologisch minder complexe diersoorten TB infecties in kleine proefdieren en runderen verlopen anders dan in primaten; gevoeligheid voor infectie is anders en manifestatie van ziekte is minder gelijkend. Bovendien worden, naast anatomische en fysiologische verschillen, niet alle immunologische componenten noch alle aspecten van gevoeligheid voor infectie en/of behandeling zoals die bij de mens optreden, door kleine proefdieren gerecapituleerd. NHP hebben daarmee een unieke niche in het preklinisch onderzoeksgebied. Alleen wanneer het noodzakelijk is om de betreffende vaccinatie strategieën en/of behandelingen te testen in het TB model in makaken, zal dit model worden aangewend.</p>
------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Bij de huidige stand van de wetenschap zijn preklinische studies in geen enkele diersoort onomstotelijk voorspellend voor de klinische werking van TB behandeling, maar het NHP TB model wordt het meest waardevol geacht om werkzaamheid aan te tonen. Om het risico op klinisch falen te beperken en uit de aard van de complexiteit van de ziekte, de tekortkomingen in onze kennis van pathogenese en beschermende afweer, en de niet formeel gevalideerde status van de diverse modellen, worden m.n. vaccins in meer dan 1 diersoort getest. Het NHP TB model met zijn fylogenetische verwantschap, natuurlijke gevoeligheid voor Mtb infectie, en gelijkende TB ziekteverschijnselen (inclusief de kenmerkende granuloom vorming), benadert het beste de humane situatie.

De keuze voor makaken kan ook zijn ingegeven door het feit dat de inductie van een vaccinatie respons in ander diersoorten anders verloopt dan in primaten. Een mogelijke target van een therapeutische behandeling van Mtb, is de immuunrespons van de gastheer. De component van het immuunsysteem waarop de behandeling aangrijpt kan specifiek zijn voor de primate. Als deze component in minder complexe diersoorten onvoldoende overeenkomt met de situatie in de mens, dan is het testen van die specifieke behandeling in apen de enige mogelijkheid.

3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB: Citaat:

Vervanging door in silico alternatieven

Physiologically based pharmacokinetic modelling zal worden toegepast waar mogelijk. Voor laag moleculaire chemische drugs is deze methode ontwikkeld, maar is op dit moment voor hoogmoleculaire biologische geneesmiddelen (biologicals), zoals monoclonale antistoffen, cytokines e.d. nog niet ontwikkeld. Wij zijn al in overleg met een binnenlands expertisecentrum om dit ook voor biologicals in apen te gaan ontwikkelen, maar toepassing hiervan is vooralsnog (en binnen het tijdsbestek van dit project prematuur).

Vervanging door in vitro alternatieven

In geval van biologicals of small molecules die aangrijpen op een specifieke cascade van de gastheer, zal, voorafgaand aan het PK/PD experiment in makaken, nadrukkelijk worden vastgesteld of er kruisreactiviteit en/ of werkzaamheid is in deze proefdiersoort met gebruikmaking van proefdiervrije in vitro methoden. Eveneens zullen waar nodig dergelijke assays worden ingezet voor kwaliteitscontrole van de kandidaat geneesmiddelen.

Vervanging door minder complexe diersoorten

De farmacokinetiek en/of farmacodynamiek is specifiek voor de diersoort. Als de noodzaak van het testen van de werkzaamheid van een nieuw therapeuticum in makaken is vastgesteld, dan volgt daaruit als vanzelf de noodzaak voor het testen van eventuele farmacokinetiek en/of -dynamiek in dezelfde betreffende diersoort. Vervanging door een minder complexe diersoort is in dat geval niet relevant.

Verminderen	
	<p>3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken: Citaat:</p> <p>Binnen grote internationale consortia worden doorgaans meerdere vaccins kandidaten getest in vitro en in kleine proefdiermodellen. Alleen de meest-veelbelovende kandidaat(en) komt(komen) in aanmerking voor evaluatie in makaken. Hieraan gaat een uitvoerig selectieproces binnen het betreffende consortium vooraf. Dit leidt tot een vermindering van het aantal benodigde apen.</p> <p>We streven er te allen tijde naar om op grond van een power analyse zo min mogelijk dieren te gebruiken als nodig voor een beantwoording van de onderzoeksvraag. Waar mogelijk worden studies gecombineerd, zodat de controle groepen kunnen worden gedeeld, om het benodigde aantal proefdieren terug te dringen.</p>
	<p>3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB: Citaat:</p> <p>Farmacokinetiek/dynamiek studies kunnen met een beperkt aantal dieren in studie volstaan en draagt direct bij aan vermindering van het aantal dieren in makakaastudies naar de werkzaamheid.</p>
Verfijnen	
	<p>3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken: Citaten:</p> <p>"De dieren worden getraind om een voedselbeloning aan te nemen uit de hand van de diervverzorgers. Hierdoor kunnen de dieren goed worden geobserveerd.</p> <p>Welzijnsobservaties worden gedaan door getrainde diervverzorgers die de dieren goed kennen. Hierbij worden parameters zoals ademhaling, eetlust, lichaamshouding en apathie gescoord op een semi-kwantitatieve basis.</p> <p>Er is veel geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume. De totale hoeveelheid afgenomen bloed wordt gemaximeerd tot de op het binnen het instituut vastgestelde limiet van 1% van het lichaamsgewicht per 4 weken (en 0,7% max per bloeding).</p> <p>PET/CT wordt ingezet om longitudinale data over het verloop van de ziekte te verkrijgen, waar klassieke pathologische evaluatie alleen eenmalig op eindpunt kan plaatsvinden. Aldus wordt met een gelijk</p>

aantal proefdieren meer informatie verkregen.

Het experimentele eindpunt van studies wordt doorgaans gesteld op een volgtijd van 12 tot 20 weken na infectie om verder ongerief te voorkomen. In eerdere studies is aangetoond dat (bij een relatief hoge dosis infectie) het verloop in de eerste weken na infectie vergelijkbaar is en voorspellend voor hetgeen tot 1 jaar na Mtb infectie wordt waargenomen. Humane eindpunten zijn vooraf vastgesteld om in onvoorziene gevallen het ongerief te beperken.

Om de dynamiek van de ziekte te registreren, worden klinische, radiologische en/of nucleair medische parameters gedurende de infectiefase gemeten. Herhaalde waarneming draagt bij aan de statistische power van dergelijke grootheden."

"Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thuishooi zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving via intramusculaire toediening.

Welzijnsobservaties: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, of ontlasting, dan worden de veterinaire en de onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts een behandeling worden gestart. Zowel bij training als bij welzijnsobservaties wordt ook in de vorm van interactie en het aanbieden van verrijking (food en non-food) een zo optimaal mogelijk welzijn van de proefdieren nagestreefd.

Medicatie: Hoewel pijnsensatie ten gevolge van experimenteel handelen in de regel niet in dit model wordt waargenomen, kan het ook niet volledig worden uitgesloten. In geval van risico op, of het waarnemen van pijn tijdens de proef (om welke reden dan ook), zal door het team van dierenartsen een adequate pijnremedie-profylaxe worden toegepast."

	<p>3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB: Citaten:</p> <p>"Er is geïnvesteerd in micro-methodes om zoveel mogelijk informatie te krijgen uit een zo klein mogelijk bloedvolume."</p> <p>"Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om in de thuishooi vrijwillig mee te werken aan invasieve biotechnische handelingen zoals het geven van een verdoving.</p> <p>Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en ervaren diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust, ontlasting of anderszins, dan wordt de veterinaire arts en de onderzoeker hiervan op de hoogte gesteld. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts een behandeling worden gestart.</p> <p>Medicatie: Hoewel pijn, lijden en angst in de regel niet worden waargenomen in dergelijke farmacokinetiek/farmacodynamiek studies, kan het niet volledig worden uitgesloten. In voorkomende gevallen zal in overleg door de veterinaire staf een adequate maatregel en eventuele medicatie worden vastgesteld.</p>
<p>3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken: Voldoende beschreven.</p>	
<p>3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB: Voldoende beschreven.</p>	
<p>Hergebruik</p>	<p>Er is sprake van hergebruik van dieren.</p>
<p>3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken: Citaat: Dieren die zullen worden gebruikt in de experimenten, zijn mogelijk gebruikt in eerdere studies. Gezien de lange levensduur van deze species zal hergebruik plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1e van de Wet op de Dierproeven.</p>	
<p>3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB: Zie bijlage 3.4.4.1.</p>	

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken	HEP: <10%	<p>Citaat: Gewichtverlies is een expliciet kenmerk van tuberculose ('de tering'). Daarmee is de gewichtsonwikkeling na experimentele TB infectie een belangrijke parameter voor de toepassing van humane eindpunten. Bij een gewichtsverlies van meer dan 20% ten opzichte van het piekgewicht na de infectie, of bij gewichtsverlies van meer dan 10% bij 2 opeenvolgende wegingen binnen 3-4 weken, zal in overleg met een veterinaire de conditie van het dier worden beoordeeld. Als ook andere parameters zoals veranderde ademhaling, PET-CT beeld en/of klinische bloedwaarden de ernst van de conditie bevestigen, is een humaan eindpunt geïndiceerd. Ook zonder gewichtsverlies kunnen observationele parameters als verzwaarde ademhaling en verminderde eetlust een indicatie zijn voor een humaan eindpunt.</p> <p>Als onverhoopt ernstige ziekte optreedt met mogelijk symptomen als apathie, bloed ophoesten of dyspneu, dan wordt het betreffende dier direct geëuthanaseerd. In alle gevallen van een humaan eindpunt zal het betreffende dier aan de eindpuntsevaluatie met uitgebreide pathologische analyse worden onderworpen. Hiermee blijft de waarde van dit dier voor de totale proefuitslag behouden.</p>
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: Matig	
Java-apen (Macaca fascicularis)	Ongerief: Matig	
3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB	HEP: Niet verwacht, maar ook niet uit te sluiten. 0-5%	Citaat: Gewichtverlies van meer dan 20% ten opzichte van het gewicht voor de toediening, of bij gewichtsverlies van meer dan 10% binnen 3-4 weken, gecombineerd met andere waargenomen afwijkingen.
Rhesusapen (Macaca mulatta)	Ongerief: Matig	Het ongerief wordt vooral bepaald door het bijkomen uit de verdoving na de bloedafnames. Indien het aantal verdovingen beperkt is, kan in voorkomende gevallen het ongerief worden ingeschat als licht.

Java-apen (<i>Macaca fascicularis</i>)	Ongerief: Matig	Zie Rhesusapen
------------------------------------------	--------------------	----------------

De dieren zullen meerdere keren onder anesthesie handelingen ondergaan. Het exacte maximale aantal keren anesthesie is niet beschreven. Wel zijn de verschillende handelingen waarvoor een aap onder anesthesie gebracht wordt beschreven en hun bijbehorende frequenties.

Voordat dieren gesedeerd worden voor de verschillende handelingen zullen ze 16-18 uur nuchter worden gezet om te voorkomen dat ze overgeven en aspireren na sedatie. Voor bijlage 3.4.4.2 kan de frequentie van sedatie dagelijks zijn (in de eerste dagen na toediening van de teststof), wat wordt opgevangen door toediening van extra-calorie rijk en voedzaam dieet via een maagzonde tijdens de sedatie sessie. Voor bijlage 3.4.4.1 krijgen de dieren extra voedsel dat ze lekker vinden en/of een hoge calorische waarde heeft. Opmerkingen over de dierproeven

Naam proef	Opmerkingen
3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken	Het totaal aantal dieren voor deze bijlage is 400. Het aantal Rhesusapen is minimaal 75% van het totaal. Het overige aantal zijn Java-apen.
3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddel en voor TB	Het totaal aantal dieren voor deze bijlage is 20. Het aantal Rhesusapen is minimaal 75% van het totaal. Het overige aantal zijn Java-apen.

5 Samenvatting

Deze aanvraag bevat voldoende informatie over de doelstelling, het belang, de 3V's en de strategie om tot een besluit te komen. Het DEC advies is goed onderbouwd en kan aan dit besluit ten grondslag liggen.

Het betreft een aanvraag met NHP. De noodzaak voor het gebruik van NHP is goed onderbouwd. In het kort: NHP en makaken in het bijzonder hebben een natuurlijke gevoeligheid voor besmetting met Mtb (*Mycobacterium tuberculosis*), vergelijkbaar ziektebeeld, nauwe verwantschap wat betreft anatomie, fysiologie en immunologie, kruisreactiviteit bij behandelingen gericht op immuunmodulatie, betere voorspellende waarde van eventuele bijwerkingen.

Ook de criteria waaraan de (kennis over de) vaccins/geneesmiddelen moeten voldoen alvorens ze te testen in NHP zijn helder weergegeven.

De aanvraag heeft met name een translationele doelstelling. Echter, de aanvrager geeft aan dat de kennis die wordt opgedaan tijdens het testen van de effectiviteit en veiligheid van de teststoffen, ook gebruikt wordt voor opbouwen van kennis over de interactie tussen vaccins, het immuunsysteem en Mtb en voor verfijning van het diermodel. Hiervoor zullen mogelijk extra weefsel/bloed worden afgenomen en opgeslagen. Deze combinatie van translationeel en fundamenteel onderzoek is verdienen.

Huisvesting vindt in principe plaats volgens de eisen zoals beschreven in de richtlijn. De dieren worden in duo's gehuisvest. Indien 1 van een duo wordt gedood vanwege het bereiken van humane eindpunten zal het overgebleven dier tijdelijk alleen gehuisvest blijven. Koppelen aan een nieuwe kooigenoot zou meer stress opleveren dan de tijdelijke individuele huisvesting. Dit is voldoende onderbouwd.

Voor elke sedatie worden de dieren 16-18 uur nuchter gezet. Dit om te voorkomen dat de dieren overgeven na de sedatie.

De aanvrager geeft aan dieren van beide geslachten te gebruiken. In bijlage 3.4.4.2 schrijft de aanvrager hierbij dat "Bij voorkeur worden dieren van hetzelfde geslacht gebruikt zoals beoogd in de latere TB effectiviteitsstudie". Het Secretariaat gaat ervan uit dat hiermee bedoeld wordt dat het hier de verdeling man/vrouw betreft afhankelijk van beschikbaarheid, en niet dat in 1 experiment slechts 1 geslacht wordt gebruikt. De aanvrager is nog gevraagd dit, in verband met de transleerbaarheid naar de mens, te verhelderen.

De aanvrager is daarnaast nog gevraagd het aantal java-apen versus rhesus-apen in te schatten. Bij eventuele vergunning stelt het Secretariaat voor een vergunning af te geven voor 400+20 apen, en de verdeling tussen beide soorten flexibel te laten. De vraag over de inschatting van de verdeling over de soorten is wel gesteld aan de aanvrager vanwege de registratie.

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat volgt het DEC-advies.

Het Secretariaat adviseert dit project toe te wijzen.

Voorstel is om de vergunning te verlenen van 15 november 2017 tot en met 14 november 2022.

Hierbij stelt het Secretariaat voor de volgende voorwaarden te stellen:

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk november 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.

Ter informatie

Onderstaande informatie is opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

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

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

8 Concept beschikking voor akkoord CCD



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

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

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

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD5020020172645
Bijlagen
1

Datum 19 oktober 2017
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 5 september 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken" met aanvraagnummer AVD5020020172645. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a lid 1 van de Wet op de dierproeven (hierna: de wet).

U kunt met uw project starten. De vergunning wordt afgegeven van 15 november 2017 tot en met 14 november 2022.

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

Aanvullende opmerkingen

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie (DEC) 10.2.g gevoegd. Dit advies is ontvangen op 4 september 2017. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Het advies van de DEC is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Datum:
19 oktober 2017
Aanvraagnummer:
AVD5020020172645

Nadere vragen aanvrager

Op 27 september 2017 hebben wij u om aanvullingen gevraagd. U heeft tijdig antwoord gegeven. De aanvullingen hadden betrekking op verheldering en onderbouwing van de te gebruiken geslachten, verheldering van het aantal dieren benodigd voor parameter-optimalisatiestudies, onderbouwing van de noodzaak van het gebruik van niet-humane primaten voor identificatie van biomarkers en een inschatting van het aantal rhesus-apen versus java-apen. Ook heeft u op ons verzoek een kortere NTS ingediend. Uw antwoord is betrokken bij de behandeling van uw aanvraag.

Overwegingen

Alle hierboven genoemde stukken liggen ten grondslag aan ons besluit.

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

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1 lid 1 sub d van de wet. Beoordeling achteraf dient plaats te vinden wegens gebruik van niet-humane primaten. Deze beoordeling zal uiterlijk november 2023 plaatsvinden. Meer informatie over de eisen die gesteld worden bij de beoordeling achteraf vindt u in de bijlage 'Weergave wet- en regelgeving'.

Bezwaar

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

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 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.

Datum:

19 oktober 2017

Aanvraagnummer:

AVD5020020172645

Meer informatie

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

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2.g



ir. G. de Peuter
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: Biomedical Primate Research Centre
Adres: Postbus 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK
Deelnemersnummer: 50200

deze projectvergunning voor het tijdvak 15 november 2017 tot en met 14 november 2022, voor het project "Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken" met aanvraagnummer AVD5020020172645, volgens advies van Dierexperimentencommissie 10.2.g.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Hoofd TB Research.

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

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 5 september 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 5 september 2017;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken, zoals ontvangen op 5 september 2017;
 - 3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB, zoals ontvangen op 5 september 2017;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 5 oktober 2017;
 - d Advies van Dierexperimentencommissie zoals ontvangen op 4 september 2017
 - e De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 5 oktober 2017.

Aanvraagnummer:

AVD5020020172645

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Overige opmerkingen
3.4.4.1 Bestudering van ziektemechanismen en de effectiviteit van nieuwe behandelmethodes in een tuberculose infectie model in makaken				Het totaal aantal dieren voor deze bijlage is 400. Het aantal Rhesusapen is minimaal 75% van het totaal. Het overige aantal zijn Java-apen.
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	300	Matig	
	Java-apen (Macaca fascicularis)	100	Matig	
3.4.4.2 Farmacokinetiek/Farmacodynamiek in makaken van nieuwe kandidaatgeneesmiddelen voor TB				Het totaal aantal dieren voor deze bijlage is 20. Het aantal Rhesusapen is minimaal 75% van het totaal. Het overige aantal zijn Java-apen.
	Rhesusapen (Macaca mulatta)	15	Matig	
	Java-apen (Macaca fascicularis)	5	Matig	

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk november 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:

AVD5020020172645

Ter informatie

Onderstaande informatie is opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

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



Aanvraagnummer:

AVD5020020172645

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:

AVD5020020172645

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 blijven 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.

Levensloofdossier

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

Niet-menselijke primaten

De Minister heeft een ontheffing verleend volgens artikel 10e lid 7, die het gebruik van niet-menselijke primaten toestaat voor een periode van maximaal vijf jaar.

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

Aanvraagnummer:
AVD5020020172645

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