

Inventaris Wob-verzoek W21-04										
		wordt verstrekt				weigeringsgronden				
nr.	document NTS20184224	reeds openbaar	niet	geheel	deels	5.1, lid 1c	5.1, lid 2e	5.1, lid 2f	5.1, lid 2h	5.2, lid 1
1	Aanvraagformulier				x		x		x	
2	NTS origineel			x						
3	projectvoorstel				x				x	
4	Bijlage dierproeven 1			x						
5	Bijlage dierproeven 2			x						
6	Ontvangstbevestiging				x		x		x	
7	DEC advies				x		x		x	
8	NTS als bijlage bij DEC-advies	x								
9	Projectvoorstel als bijlage bij DEC-advies				x				x	
10	Bijlage dierproeven 1 als bijlage bij DEC-advies			x						
11	Bijlage dierproeven 2 als bijlage bij DEC-advies			x						
12	Advies CCD				x		x			x
13	Beschikking en vergunning				x		x		x	

4224



21 MAART 2010

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

<p>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></p>	<p><input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 50200</p> <p><input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen</p>																								
<p>1.2 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.</p>	<table border="1"> <tr> <td>Naam instelling of organisatie</td> <td colspan="2">Biomedical Primate Research Centre</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td colspan="2">41146967</td> </tr> <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																								
<p>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></p>	<table border="1"> <tr> <td>(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.e</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.e										
(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.e																								
<p>1.5 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.</p>	<table border="1"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>10.2.g</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. X Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td colspan="2">10.2.g</td> </tr> <tr> <td>Afdeling</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>Telefoonnummer</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> <tr> <td>E-mailadres</td> <td colspan="2">10.2.e</td> </tr> </table>	(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	<input type="checkbox"/> Dhr. X Mw.	Functie	10.2.g		Afdeling	10.2.e		Telefoonnummer	10.2.e		E-mailadres	10.2.e										
(Titel) Naam en voorletters	10.2.g	<input type="checkbox"/> Dhr. X Mw.																							
Functie	10.2.g																								
Afdeling	10.2.e																								
Telefoonnummer	10.2.e																								
E-mailadres	10.2.e																								

- 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 | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> 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 is 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 | 1 - 4 - 2018 |
| Einddatum | 31 - 3 - 2023 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley Fever virus vaccins in penseelapen
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--------|
| Naam DEC | 10.2.g |
| Postadres | 10.2.g |
| E-mailadres | 10.2.e |

4 Betaalgegevens

4.1 Om welk type aanvraag gaat het?

Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1287 Lege

Wijziging € Lege

4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.

Via een eenmalige incasso

Na ontvangst van de factuur

Bij een eenmalige Incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.

5 Checklist bijlagen

5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?

Verplicht

Projectvoorstel

Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen, indien van toepassing

Melding Machtiging

2 bijlagen

6 Ondertekening

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

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

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

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

Naam 10.2.e

Functie 10.2.g

Plaats Rijswijk

Datum 12 - 02 - 2018

Handtekening 10.2.e en 10.2.g



BPRC

Centrale Commissie Dierproeven
T.a.v. 10.2.e
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Lange Kleiweg 161
P.O. Box 3306
2280 GH Rijswijk
The Netherlands
Telephone: +31 15 284 25 00
Fax: +31 15 284 26 00
Website: www.bprc.nl

Date March 20, 2018

Our ref. 2137/TK

Your email dd 20-03-2018



+31.15.284.2620



langermans@bprc.nl

Subject AVD5020020174224

Geachte 10.2.e

Excuses voor de late toezending van het originele aanvraagformulier voor project
AVD5020020174224 "Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets".

Bijgesloten vindt u het originele formulier met de natte handtekening

Hoogachtend, 10.2.e en 10.2.g

Bijlage: 1



Stichting Biomedical Primate Research Centre
Committed to Health Research and Alternatives



Format

Niet-technische samenvatting

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

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley Fever virus vaccins in penseelapen
1.2 Looptijd van het project	1 april 2018 – 31 maart 2023 (5 jaar)
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Rift Valley Fever virus, vaccin, marmoset, pathogeniciteit, werkzaamheid

2 Categorie van het project

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

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Rift Valley fever (RVF) is een infectieziekte die wordt veroorzaakt door het Rift Valley fever virus (RVFV). RVF is een ernstige ziekte bij vee die ook op mens kan worden overgedragen (zoönose). RVF bij mensen kenmerkt zich meestal door "griepachtige" ziekteverschijnselen, maar 1-3% van de geïnfecteerden ontwikkelt ernstige ziekte waaraan tot 50% van deze mensen overlijdt. RVF komt momenteel voornamelijk voor in Afrika, maar gevreesd wordt dat RVFV Europa zal binnenkomen via geïnfecteerde muggen, of via geïnfecteerde dieren of mensen. De Wereldgezondheidsorganisatie is groot pleitbezorger voor de ontwikkeling van een zgn. 'One Health vaccin', een vaccin dat kan worden gebruikt om zowel mensen als dieren te beschermen tegen RVFV infectie. In dit project zullen we de beschermende werking van dit type vaccins testen in vaccinatie-infectie experimenten in penseelapen.
3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	Op het ogenblik zijn er nog geen RVFV vaccins beschikbaar voor gebruik in de mens. In dit project zullen wij nieuwe vaccins, bestemd voor gebruik in de mens en dier, testen op hun vermogen om penseelapen te beschermen tegen infectie met RVF. Wij verwachten dat dit onderzoek zal bijdragen aan de ontwikkeling van een toekomstig 'One Health' vaccin tegen RVF, dat kan worden gebruikt om nieuwe epidemieën bij mens en dier te voorkomen.
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Maximaal 134 penseelapen
3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve	De dieren ondervinden ongerief door biotechnische handelingen, en het plaatsen van een meetinstrument in de buikholte. Daarnaast kunnen de dieren ziek worden door de virusinfectie.

gevolgen voor het
welzijn van de
proefdieren?

3.5 Hoe worden de
dierproeven in het
project ingedeeld naar
de verwachte ernst?

Door toepassing van een humaan eindpunt wordt de welzijnsaantasting beperkt tot matig.

3.6 Wat is de bestemming
van de dieren na afloop?

De dieren worden aan het einde van het experiment geëuthanaseerd.



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).

4 Drie V's

4.1 **Vervanging**

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Het is nog niet mogelijk om de beschermende werking van vaccins zonder gebruik van proefdieren te bepalen. Het afweersysteem is dermate ingewikkeld dat de beschermende werking van een vaccin tegen RVFV infectie nog niet in het laboratorium kan worden nagebootst. Vanwege hun grote immunologische overeenkomsten met de mens zijn apen het meest geschikt als proefdiermodel voor dit vaccinonderzoek. Dit maakt een optimale vertaling van bevindingen naar de mens mogelijk.

4.2 **Vermindering**

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

Alleen vaccinkandidaten die eerst in vee op veiligheid en werkzaamheid zijn getest zullen in apen worden getest op hun werkzaamheid. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statistische analyses. Waar mogelijk zullen meerdere vaccins tegelijk getest worden, waardoor maar één controlegroep nodig is. Er wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering: als het vaccin geen immuunreactie opwekt, of als het nadelige invloed heeft op de gezondheid van de dieren, zal niet worden overgegaan op het infecteren met RVFV

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.

Penseelapen zijn zeer gevoelig voor RVFV-infectie, en het infectieverloop is in hoge mate vergelijkbaar met ernstige ziekte bij de mens. In deze apensoort is de kans het grootst dat eventuele nadelige effecten van de vaccins kunnen worden opgespoord. Omdat hun afweersysteem grote gelijkenis vertoont met dat van de mens, kan een gedegen voorspelling worden gedaan wat betreft werkzaamheid bij de mens.

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

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

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen

Form

Project proposal

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

1 General information

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

2 Categories

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

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Rift Valley fever virus (RVFV) is a mosquito-borne virus and the causative agent of Rift Valley fever (RVF). RVFV belongs to the Order Bunyvirales (genus Phlebovirus, family Phenuiviridae). Its genome is composed of 3 negative-sense RNA segments, referred to as large (L), medium (M), and small (S). The L segment encodes for the viral RNA polymerase (L protein). The M segment encodes the structural glycoproteins Gn and Gc, the non-structural protein NSm, and a large 78-kDa glycoprotein (LGp). The small segment encodes for the nucleocapsid protein (N), and the interferon antagonist

NSs, which is a major determinant of virulence (6).

RVF is a zoonotic disease affecting wild and domesticated ruminants, and humans. In ruminants and humans, RVFV causes markedly different disease syndromes, reflecting the differences in immune system and physiology between the target species.

In ruminants, the disease is characterized by neonatal mortality and an increased incidence of abortions and fetal malformations. Sheep are the animal species that are most susceptible to severe disease. Infection of adult sheep usually results in about 20% mortality, but the mortality rate in newborns can reach 100%. An important feature of RVF outbreaks are the so-called "abortion storms" in which almost all pregnant ewes abort. Clinical symptoms in other ruminants (goats, cattle) are usually less severe, although abortions and death also occurs in herds of these animals. The most important clinical symptoms in adult animals are **fever, drop in milk production, respiratory disease, diarrhea and anorexia.**

RVFV is able to cause disease in humans and can have serious consequences. Humans can be infected via mosquito bites, but human cases can also be attributed to contact with tissues and blood during slaughtering of RVFV-infected animals, or to handling of aborted fetuses. **Human infection usually manifests as a transient, flu-like febrile illness with symptoms including fever, severe headaches, muscle pains, nausea and general weakness. A common additional complication is temporary or permanent blindness as a result from retinal damage. A minority of patients (1-3%), develop severe RVF disease, exhibiting early symptoms of acute hepatitis with associated jaundice, renal failure, encephalitis, and hemorrhagic complications. The fatality rate in this group can be as high as 50% (2,6,16). In contrast to the disease in ruminants, abortions are not a common RVFV disease symptom in humans.**

RVFV is endemic to Africa, the Arabian Peninsula, and several islands located off the coast of Southern Africa, including Madagascar. The largest epidemics generally occur in East-Africa (8,13). **Eradication of RVFV is difficult because the virus circulates between wild- and domesticated ruminants,** and is transmitted by several common species of mosquitos, including *Aedes* and *Culex* mosquito species (9). Animal movements, legal or illegal, strongly contribute to viral spread, and there is serious concern among both veterinary authorities and human health authorities that the virus via these routes will reach other geographic regions, including Europe, where vectors are abundantly present (3).

Experimental infection of the common European mosquito *Culex pipiens* (in Dutch the 'gewone steekmug'), but also the invasive *Aedes albopictus* ('Tijgermug') confirmed their competence to transmit RVFV (1). Thus, there is an increasing urgency that effective and safe RVFV vaccines become available to prevent or control potential future outbreaks worldwide, in both animals and humans.

Rift Valley Fever virus vaccines and vaccine development

At present, there are three licensed RVFV vaccines **only for use in animals.** One inactivated-virus vaccine, and two vaccines based on live-attenuated viruses (LAV), are currently being used in Africa to vaccinate livestock. The inactivated-virus vaccine can be applied safely during all life-stages, including pregnancy, but requires repeated vaccinations for optimal efficacy, which makes it unsuitable for controlling outbreak situations. One LAV-vaccine is based on the RVFV Smithburn strain, which contains attenuating mutations across its genome, and another live-attenuated vaccine is based on the Clone 13 RVF virus, which lacks 70% of the NSs gene (the most important virulence factor of the virus). Although both vaccines are very effective, and are being used to control RVF outbreaks, both cannot be used safely in pregnant animals, due to residual pathogenicity and their potential to induce abortions (5). During an outbreak of RVF, it is logistically impossible to vaccinate all RVFV-susceptible animals in a very short time-period, and thereby also fully protect humans against RVFV infection. In this context, it is important to realize that not only farm animals play a role in the transmission, but also wild animals such as deer, buffalos, and possibly also rodents are reservoirs for RVFV.

The zoonotic RVFV is recognized as an important pathogen, both by the world organization for animal health (OIE), as well as the World Health Organization (WHO).

Importantly, RVF is one of the diseases that are prioritized by the WHO on their R&D blueprint (15). The WHO R&D Blueprint focuses on severe emerging diseases with potential to generate a public health emergency, and for which insufficient, or no preventive (vaccines) and curative solutions (antiviral compounds) exist (See Executive Summary attached to this paragraph).

In addition, zoonotic infections, like RVF, are likely candidates for a One Health approach to disease control:

- 1 **'One Health** recognizes that the health of people is connected to the health of animals and the environment. The goal of One Health is to encourage the collaborative efforts of multiple disciplines-working locally, nationally, and globally-to achieve the **best health for people, animals, and our environment'** (<https://www.cdc.gov/onehealth/index.html>)

Future 'One Health-based' RVFV vaccines should be able to protect both animals as well as humans against infection. The vaccines that will be evaluated in this project are developed in the framework of partnerships between veterinary industry and (inter)national health organizations, or publicly-funded research collaborations. The nature of the vaccines can vary from protein-based vaccines, DNA/RNA vaccines, to novel live-attenuated vaccines.

Inherent to the broad spectrum of protection, vaccine efficacy of One Health-based vaccines need to be evaluated both in models that represent disease in livestock animals, and in animal models that best mimic human infection.

Nonhuman primate models for RVFV vaccine development

For the veterinary use of such RVF vaccines, vaccine efficacy is commonly evaluated in ruminant models for natural RVFV infection, like sheep, goats and cattle (12). However, for the efficacy evaluation of novel RVF vaccines intended for use in humans, **non-human primates (NHP) are the preferred species because they are the species that most closely reproduces disease symptoms observed in humans and have an immune system that is comparable to that of humans.**

Several nonhuman primate infection models have been evaluated to assess the human RVFV vaccines (12). Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) and cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) can be infected with RVFV and develop viremia after experimental infection, but the disease pattern observed in these animals differs from that in humans with severe disease. In addition, disease is only seen in a minority (20%) of the infected macaques (7,10,11,12,14). Therefore, **the macaque infection model is not considered an optimal RVFV disease model (17).**

More recently, African green monkeys (AGM; *Chlorocebus aethiops*), and common marmosets (*Callithrix jacchus*) were used to develop an animal model for human RVF (4,14). In both species, 100% of the animals became infected and developed fever with a biphasic pattern that is also found in humans. They also developed clinical illness with clear signs of encephalitis.

Additionally, marmosets were more susceptible to infection at lower doses than AGM (4,14). Equally, marmosets showed higher morbidity, mortality, and viremia, and displayed marked aberrations in hematological and chemistry values. These animals exhibited acute-onset hepatitis, delayed-onset encephalitis, and hemorrhagic disease, which are dominant features of severe human RVF (14). Together with an immune system and physiology that are highly similar to that of humans, this makes **marmosets the most optimal animal model to study human-like pathogenicity and immunology and development of human RVF vaccines. In addition, this makes marmosets the best model to study absence of residual pathogenicity of human vaccines.**

Other highly susceptible animal species, like sheep, show a disease pattern, like neonatal mortality and increased incidence of abortions and fetal malformations, that is much unlike that seen in humans, while macaques show disease symptoms in a minority of animal.

In sum, the common marmoset is chosen as the best animal model in this project because it represents a NHP model that is most sensitive to RVFV infection, that best mimics the severe manifestations of human RVF, and that can be utilized for the evaluation of potential therapeutics and vaccines.

References:

1. Brustolin, M., Talavera, S., Nunez, A., Santamaria, C., Rivas, R., Pujol, N., et al. (2017). Rift Valley fever virus and European mosquitoes: vector competence of *Culex pipiens* and *Stegomyia albopicta* (= *Aedes albopictus*). *Medical and Veterinary Entomology*, 356, 1422.
2. CDC. (2013). *Rift Valley Fever (RVF)* (<https://www.cdc.gov/vhf/rvf/RVF-FactSheet.pdf>).
3. Chevalier, V. (2013). Relevance of Rift Valley fever to public health in the European Union. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(8), 705-708.
4. Hartman, A. L., Powell, D. S., Bethel, L. M., Caroline, A. L., Schmid, R. J., Oury, T., & Reed, D. S. (2014). Aerosolized Rift Valley Fever Virus Causes Fatal Encephalitis in African Green Monkeys and Common Marmosets. *Journal of Virology*, 88(4), 2235–2245.
5. Makoschey, B., van Kilsdonk, E., Hubers, W. R., Vrijenhoek, M. P., Smit, M., Wichgers Schreur, P. J., et al. (2016). Rift Valley Fever Vaccine Virus Clone 13 Is Able to Cross the Ovine Placental Barrier Associated with Foetal Infections, Malformations, and Stillbirths. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(3), e0004550.
6. Mansfield, K. L., Banyard, A. C., McElhinney, L., Johnson, N., Horton, D. L., Hernández-Triana, L. M., & Fooks, A. R. (2015). Rift Valley fever virus: A review of diagnosis and vaccination, and implications for emergence in Europe. *Vaccine*, 33(42), 5520–5531.
7. Morrill, J. C., Jennings, G. B., Johnson, A. J., Cosgriff, T. M., Gibbs, P. H., & Peters, C. J. (1990). Pathogenesis of Rift Valley fever in rhesus monkeys: role of interferon response. *Archives of Virology*, 110(3-4), 195–212.
8. Nanyingi, M. O., Munyua, P., Kiama, S. G., Muchemi, G. M., Thumbi, S. M., Bitek, A. O., et al. (2015). A systematic review of Rift Valley Fever epidemiology 1931–2014. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5, 28024.
9. Pepin, M., Bouloy, M., Bird, B. H., Kemp, A., & Paweska, J. (2010). Rift Valley fever virus (Bunyaviridae: Phlebovirus): an update on pathogenesis, molecular epidemiology, vectors, diagnostics and prevention. *Veterinary Research*, 41(6), 61.
10. Peters, C.J., Jones, D., Trotter, R., Donaldson, J., White, J., Stephen, E., and Slone, T.W. (1988). Experimental Rift Valley fever in rhesus macaques. *Archives of Virology*, 99(1-2), 31-44.
11. Peters, C.J., & Linthicum, K.J. (1994). Rift Valley fever, p125–138. In: Beran, G.W., Steele, J.H (ed), *Handbook of zoonoses*, section B. Viral, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL
12. Ross, T. M., Bhardwaj, N., Bissel, S. J., Hartman, A. L., & Smith, D. R. (2012). Animal models of Rift Valley fever virus infection. *Virus Research*, 163, 417-423.
13. Samy, A. M., Peterson, A. T., & Hall, M. (2017). Phylogeography of Rift Valley Fever Virus in Africa and the Arabian Peninsula. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(1), e0005226.
14. Smith, D. R., Bird, B. H., Lewis, B., Johnston, S. C., McCarthy, S., Keeney, A., et al. (2012). Development of a Novel Non-human Primate Model for Rift Valley Fever. *Journal of Virology*, 86(4), 2109–2120.
15. WHO, P. (2017). WHO Research and Development Blueprint (<http://www.who.int/blueprint/what/research-development/2017-Prioritization-Long->

Report.pdf?ua=1).

16. WHO. (2017). Rift Valley Fever Factsheet (www.who.int/mediacentre/factsheets/fs207/en/).
17. Wonderlich, E. R., Caroline, A. L., McMillen, C. M., Walters, A. W., Reed, D. S., Barratt-Boyes, S. M., & Hartman, A. L. (2018). Peripheral Blood Biomarkers of Disease Outcome in a Monkey Model of Rift Valley Fever Encephalitis . *Journal of Virology*, 92(3), e01662–17.



Executive summary

On 24-25 January 2017, the World Health Organization held an informal consultation in Geneva, Switzerland, to review the list of priority diseases for the WHO R&D Blueprint. The R&D Blueprint focuses on severe emerging diseases with potential to generate a public health emergency, and for which insufficient or no preventive and curative solutions exist. The original list of diseases that most readily meet these criteria and for which additional research and development is urgently required was agreed at an [international consultation](#) held in November 2015.

The January 2017 meeting brought together virologists, bacteriologists, vaccinologists, public and animal health professionals as well as infectious disease clinicians to review the list of priority diseases. These experts made use of a tailored prioritization methodology developed by WHO and validated at an informal consultation in [November 2016](#). The methodology uses the Delphi technique, questionnaires, multi-criteria decision analysis, and expert review to identify relevant diseases.

The 2017 annual review determined there was an urgent need for research and development for:¹

- Arenaviral hemorrhagic fevers (including Lassa Fever)
- Crimean Congo Haemorrhagic Fever (CCHF)
- Filoviral diseases (including Ebola and Marburg)
- Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)
- Other highly pathogenic coronaviral diseases (such as Severe Acute Respiratory Syndrome, (SARS))
- Nipah and related henipaviral diseases
- [Rift Valley Fever \(RVF\)](#)
- Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS)
- Zika

In addition, any disease identified using the R&D Blueprints decision instrument for new diseases.

Chikungunya virus was discussed during the meeting and a number of experts stressed the risks it poses. Along with a number of other pathogens, there was agreement that Chikungunya Virus continues to warrant further research and development.

Other pathogens were considered during the review and a wide range of additional relevant research and development initiatives encouraged. In particular, participants noted the importance of cross-cutting research and development which would help to address a range of different pathogens or diseases at the same time.

The meeting also stressed the importance of continuing research and development on diseases other than those on the priority list. Further research and development is needed on a wide range of diseases. Where there are already substantive efforts to develop

¹ The order of diseases on this list does not denote any ranking of priority.



relevant medical measures any necessary further actions for such diseases could usefully be coordinated through the disease-specific initiatives (such as existing major disease control initiatives, extensive R&D pipelines, funding streams, or established regulatory pathways for improved interventions).

The value of a One Health approach was recognized, as well as the importance of working more closely with animal health to identify priority diseases and develop relevant countermeasures. The meeting also noted that whilst anti-microbial resistance is an issue being dealt with by thematic initiatives at the international level, specific diseases with resistance might be considered for prioritization in the future.

Feedback from the meeting on the methodology used and opportunities for further strengthening this process will be fed into its next review to be conducted within two years.



Annex B: The 2017 Prioritization Committee

Dr. Celia ALPUCHE
Prof. Lucille BLUMBERG
Dr. David BRETT-MAJOR
Dr. Miles CAROLL
Dr. Inger DAMON
Dr. Peter DASZAK
Dr. Xavier DE LAMBALLERIE
Dr. Mourya DEVENDRA
Prof. Christian DROSTEN
Dr. Delia ENRIA
Prof. Sahr GEVAO
Prof. Stephan GUENTHER
Prof. Peter HORBY
Prof. Roger HEWSON
Dr. Nadia KHELEF
Prof. Gary KOBINGER
Dr. Linda LAMBERT
Dr. Dieudonne NKOGHE
Dr. George WARIMWE
Dr. Mark WOOLHOUSE
Dr. YOUNGMEE Jee
Dr. Stefano Messori
Dr. Cathy ROTH
Dr Heinz FELDMANN

Observers

Dr. Hinta Meijerink
Dr. Ben MCCORMICK
Dr. Stacey KNOBLER

3.2 Purpose

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

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

The aim of this research project is:

- to test the immunogenicity, efficacy, and absence of pathogenicity of novel RVFV vaccines that are developed for use in humans in the marmoset model for human RVFV infection

The institute has extensive and long-standing expertise in conducting studies using nonhuman primates. Since 2012, researchers at the institute have been working on mosquito-transmitted virus infections in macaques and marmosets, like West Nile virus, Zika virus, and dengue virus. The institute has the appropriate facilities and experience to work with pathogenic viruses at DM-III and ML-III biosafety conditions. In addition, they have the appropriate virological and immunological assays for assessment of the efficacy against RVFV, and to determine absence of pathogenicity. The experience with mosquito-borne viruses guarantees that these animal studies will be adequately performed.

3.3 Relevance

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

As RVFV is a zoonotic virus, outbreaks of RVF in animals often coincide with human infections and fatalities. In 1993, for instance, southern Egypt suffered an outbreak in which 600–1500 human infections were reported (2). Since 2000, severe forms of human RVF have been reported in Saudi-Arabia and Yemen in 2000 (1603 reported cases/208 deaths), and in various African countries between 2003 and 2016 (3038 reported cases/749 deaths) (4).

In past outbreaks of RVF, mosquito-borne transmissions to humans were associated with mosquito species that normally do not feed on humans. However, during the major outbreak in Egypt 1977-78, mosquitoes that mostly feed on humans (*Culex pipiens*) were associated with transmission, and in this outbreak ~ 200,000 people were infected (7). Since anthropophilic mosquitoes (mosquitoes that prefer to feed on humans) such as *Culex pipiens*, but also *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, can efficiently transmit RVFV, it is very well conceivable that in future outbreaks, RVFV can be directly transmitted between humans through these mosquito species. There are several examples of which transmission via the mosquito from human to human was not (sufficiently) recognized (Zika virus, Chikungunya, West Nile). The spread of exotic viruses directly from human-to-human is therefore often underestimated, which has become painfully clear due to the recent outbreak of Zika virus.

International health authorities have recognized this potential threat to human health. **The WHO has put RVFV on the 2017 list of 13 priority pathogens based on the following prioritizing criteria (3):**

- **Human transmission**
 - Humans can become infected with RVFV through contact with blood, body fluids, or tissues of RVFV-infected animals, mainly livestock. Humans can also be infected with RVFV from bites of infected mosquitoes and, from other biting insects that have the virus on their mouthparts. Spread from person to person has not been documented.
- **Medical countermeasures**
 - No vaccines are currently available for human RVF vaccination, and no effective treatments for RVF exist
- **Severity or case fatality rate**
 - One to three percent of infected humans develop serious RVF disease. The case fatality rate within that group of patients can be as high as 50%
- **The human/animal interface**
 - RVF is a zoonotic disease and is transmitted by multiple insect species.
- **The public health context of the affected area**
 - Because the symptoms of Rift Valley fever are variable and non-specific, clinical diagnosis is often difficult, especially early in the course of the disease. Additionally, RVF is difficult to distinguish from other viral hemorrhagic fevers as well as many other diseases that cause fever, including malaria, shigellosis, typhoid fever, and yellow fever. Definitive diagnosis of RVF requires testing in reference laboratories, and involves hazardous samples that must be handled with extreme care. Such laboratories are not widely found in the Sub-Saharan Africa where RVF is endemic.

- **Potential societal impacts**
 - Outbreaks of RVF have a dramatic impact on producers and livestock industries, affecting public and animal health, food security and the livelihood of the pastoralist communities. RVF also has an impact on international trade and other agro-industries. The risk of introducing RVF into disease-free countries (Europe) via the importation of an infected animal, infected travelers, or mosquitos is real, and can cause serious human health problems. Additionally, the consequent restriction of access to export markets may induce dramatic economic consequences for national and local economies (5).
- **Evolutionary potential**
 - Since its discovery in the 1930-ies, RVFV has expanded its geographic range with increasing human disease, caused by several viral lineages. The evolution of RVFV through mutation and re-assortment and the accumulation of these changes over several decades may have changed the disease epidemiology, increasing its geographic distribution and severity in human populations (6).

For agents on this list there is an urgent need for research and development of vaccines and antiviral treatments. For the listed pathogens, the WHO also recognized the value of a One Health approach, i.e. the concept that recognizes that the health of people is connected to the health of animals and the environment. The WHO stresses the importance of working more closely with animal health to identify priority diseases and develop relevant countermeasures. The World Organization for Animal Health (OIE) also endorses the One Health concept (1), and specifically mentions RVF as one of the diseases of animal origin that can be transmitted to humans, and poses a worldwide risk to human health.

The goal of the research described in this project is to evaluate the efficacy of such 'One Health RVFV vaccines' that are developed to protect both animals and humans against RVFV infections.

The project fits within the above presented WHO strategy, and the proposal will contribute significantly to the One Health approach put forward by WHO and OIE.

References

1. OIE: One Health (<http://www.oie.int/en/for-the-media/onehealth>)
2. Samy, A. M., Peterson, A. T., & Hall, M. (2017). Phylogeography of Rift Valley Fever Virus in Africa and the Arabian Peninsula. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(1), e0005226.
3. WHO. (2017a). Methodology for Prioritizing Severe Emerging Diseases for Research and Development. (<http://www.who.int/blueprint/priority-diseases/RDBlueprint-PrioritizationTool.pdf>).
4. WHO. (2017b). Rift Valley fever Factsheet (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs207/en/>).
5. Peyre, M. *et al.* (2014). A Systematic Scoping Study of the Socio-Economic Impact of Rift Valley Fever: Research Gaps and Needs. *Zoonoses and Public Health*, 62(5), 309–325.
6. Baba, M., Masiga, D. K., Sang, R., & Villinger, J. (2016). Has Rift Valley fever virus evolved with increasing severity in human populations in East Africa? *Emerging Microbes and Infections*, 5(6), e58–10.
7. Kortekaas, J. (2014). One Health approach to Rift Valley fever vaccine development. *Antiviral Research*, 106(C), 24–32.

3.4 Research strategy

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

In this project, we will assess **the immunogenicity, protective capacity and absence of pathogenicity of novel RVFV One Health-based vaccines** using the marmoset vaccination-challenge model for human RVF.

The evaluation of the protective capacity of a vaccine against RVFV infection requires that the virus inoculum stock is first tested for its infectivity in marmosets prior to the vaccine efficacy testing. Virus infection can be performed by inoculating the animals via various routes; e.g. intradermal, subcutaneous, intravenous, or as an aerosol to the respiratory tract, using different doses, and/or by infection using RVFV virus-infected mosquitoes. Then, the onset of viremia, its duration, and the

total virus production in blood are determined. In parallel with the infectivity determination, the disease development and disease symptoms found after experimental infection of marmosets with wild-type RVFV will be documented. A disease symptoms scoring list will be developed that will provide a reference framework for the pathogenicity analysis of, in particular, live-attenuated virus (LAV) vaccines. Absence or presence of residual pathogenicity of LAV-based RVFV vaccines will be assessed by immunizing the animals, followed by analysis of blood samples for presence/absence of vaccine virus, and the monitoring of disease symptoms.

Vaccine efficacy of novel vaccines will be monitored by immunization of the animals, followed by experimental infection of the animals with RVFV. During the immunization, the development of vaccine-induced immune responses will be measured. After infection, the presence/absence of viremia will be monitored as indicator of vaccine efficacy. Tissue samples will be collected and analyzed for absence or presence of vaccine-induced pathology.

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

1. Experimental infection of common marmosets with RVFV
2. Pathogenicity testing in marmosets of novel RVFV vaccines
3. Immunogenicity and efficacy evaluation of novel RVFV vaccines that are developed for use in humans using the marmoset vaccination-challenge model

Ad.1. The evaluation of the efficacy of a vaccine to protect against infection requires that the challenge inoculum is tested for its infectivity in marmosets, and that the course of viremia, in the nonhuman primate species used, is documented prior to efficacy testing. This is described in Appendix 1. Also, the infection study will be used to develop a disease symptoms scoring list that will provide a reference framework for the pathogenicity analysis of, in particular, live-attenuated virus (LAV) vaccines.

Ad.2. To evaluate the absence of residual pathogenicity of novel RVFV vaccines, particularly those based on LAV, the animals will be monitored for adverse effects of the vaccine after administration (Appendix 2).

Ad.3. For vaccine immunogenicity and efficacy testing, marmosets will be immunized, and monitored for the development of adaptive immune responses. Next, when adequate immune responses are induced, the vaccine efficacy against infection will be tested by experimental infection with RVFV. A group of non-vaccinated animals will be included as infection controls. (Appendix 2)

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

The infection studies of common marmosets with wild-type RVFV (Appendix 1) have a dual purpose. In order to properly address the protective capacity of novel RVFV vaccines developed for use in humans it is essential to have a well-characterized viral inoculum, as absence or reduction of virus replication after experimental vaccination is the main read-out parameter for vaccine efficacy (Appendix 2).

To evaluate the absence of residual pathogenicity in LAV-based vaccines, the experimental infection of common marmosets will be used to generate a list of clinical symptoms and changes in virological parameters related to RVF of marmosets. The absence of clinical symptoms in animals vaccinated with the LAV-based RVFV vaccines will be an important read-out parameter on which to conclude that vaccines lack residual pathogenicity (1).

RVFV vaccines that can be used to protect humans against Rift Valley fever are not yet available. Because RVFV is an important zoonotic disease, infecting both wild and domesticated ruminants, and humans, novel vaccines will be developed within the concept of One Health, and should thus be efficacious in host animals as well as in humans. Within this project we will investigate the protective efficacy and absence of pathogenicity of the vaccines in the marmoset model for human RVF. Importantly, such vaccines will only be tested in the marmoset model, if they have been shown safe

and effective in animal models for RVF in livestock, like sheep that are the most susceptible target animals of RVFV. At the end of the immunization phase, the decision will be made whether to proceed with the experimental infection of the animals with the viral inoculum. This go-no go assessment will be based on vaccine-induced immune responses and the absence of adverse effect of the novel vaccines.

1. WHO. (2003). *Meeting Report WHO informal consultation on characterization and quality aspect of vaccines based on live viral vectors* (pp. 1–27).

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Infection of common marmosets with RVFV
2	Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Appendix

Description animal procedures

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

1 General

information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 50200
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|---|
| 1 | Infection of common marmosets with RVFV |

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

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

In order to evaluate the immunogenicity, absence of pathogenicity, and the efficacy of RVF vaccines that are developed for use in humans, it is necessary to have a well-defined RVFV infection model that best mimics human RVF disease. Virus stocks need to be thoroughly characterized for their viral kinetic profile in marmosets before they can be applied in RVFV vaccine evaluation studies. Also, for the determination of residual pathogenicity, it is necessary to have a comprehensive list of the clinical symptoms caused by RVFV infection in marmosets, in order to assess if any deviations in the clinical picture, general behavior etc., detected in vaccinated animals, are caused by the vaccine or vaccine virus.

In general, the study set-up is as follows: a group of animals will be infected and monitored for clinical symptoms, body temperature, body weight, changes in blood parameters and chemistry, and general behavior. Blood samples will be collected at regular time points to determine if the animals have become infected and developed viremia. Before infection, a telemetric device will be implanted in the abdominal cavity of the animals that enables the continuous monitoring of body temperature and activity.

The primary outcome parameter is:

1. Viremia: start of virus replication, peak virus load, total virus production

Secondary outcome parameters are:

1. Presence/absence of disease symptoms, including changes in body temperature
2. Changes in hematological and chemistry values

3. Changes in activity
4. Pathological changes

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

At least four weeks before infection, a telemetric device will be implanted in the abdominal cavity of the animals that will allow continuous monitoring of body temperature and activity. Then, the animals will be infected by intravenous, intradermal, or subcutaneous inoculation, or may be infected via aerosol. Experimental infection using different numbers of RVFV-infected mosquitoes may also be explored as a natural way of human RVFV infection. At the same time, blood is collected for a zero-value determination. The animals will be monitored daily during the study period for general behavior, appetite, faeces, etc., and at each time-point when the animals are sedated, the body weights will be measured. After infection of the animals, blood will be collected at regular time points for a period of maximally 42 days to monitor the progress of the virus infection and to control for changes in clinical chemistry and hematology parameters.

At the end of the study, the animals will be humanely euthanized and necropsy will be performed for the collection of tissue samples for histopathological and virological tests. The latter will be done to investigate tissue and organ distribution of the virus, to identify potential viral reservoirs, and to perform (histo)-pathological analyses.

The details of each study, regarding the route of infection, dose used, etc., will be submitted for approval to the AWB.

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

Presently, limited literature data are available regarding infection of marmosets with RVFV (1,2). Therefore, initially, the group size is based on experience in other mosquito-borne flavivirus infection models, and on the literature data. The expectation is that with this number of animals (section B) an adequate assessment can be made regarding the reproducibility of infection, and on the variation in viremia. Also, the number of animals used will allow us to set up a clinical scoring list that can be used in the vaccine efficacy studies. On the basis of the data from the experimental infections, a power calculation can be made about the number of animals needed for subsequent virus titration studies, as well as the vaccine efficacy studies.

B. The animals

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

The experiments will be performed with common marmosets (*Callithrix jacchus*), $n = 24$. All marmosets are purpose bred at the institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier in compliance with EU legislation. Both adult male and female animals will be used.

The use of non-human primates (NHP), like common marmosets, for the RVFV vaccine studies is essential:

the evaluation of new vaccines for use in humans requires a test animal model that can be easily infected with RVFV, that shows an infection rate of 100%, and that has an immune system that is comparable to that of humans.

Residual pathogenicity has been observed in current, commercially available live-attenuated virus (LAV) vaccines intended for veterinary use. In order to evaluate the absence of residual pathogenicity of vaccines or vaccine viruses for humans, an animal model is needed that is highly sensitive to RVFV infection, and that faithfully mimics the development of viremia seen in infected humans, and that, all infected animals, shows clinical symptoms and pathology similar to severe disease symptoms seen in human RVF. Several nonhuman primate species are currently available to study various aspects of RVF disease. Macaques show clear clinical symptoms in only 20% of infected animals and are therefore less suited for the evaluation of residual pathogenicity in novel RVFV vaccines for use in humans.

In contrast, AGM and common marmosets do show signs of severe RVF disease in 100% of infected

animals. AGM are not available at the institute, and marmosets have the additional benefit that they are highly susceptible to infection with low dose of virus. In addition, the use of macaques would necessitate larger numbers of animals to obtain statistical significance, and the amount of discomfort caused by RVF in individual animals showing signs of disease will not significantly differ between macaques and marmosets.

Of all NHP infection models used in RVFV research, common marmosets best combine high sensitivity for infection, which is necessary for vaccine efficacy testing, and high sensitivity towards development of RVF disease symptoms, which is an essential requirement for the evaluation of absence of residual pathogenicity (1-4).

Based on these features, marmosets are the nonhuman primate species that is selected for this research project.

Assuming 4 animals per virus inoculum, and two doses tested via a particular route of administration, including a follow-up study in 4 animals, 12 animals per inoculum will be needed. We calculate that during the project two different inocula will be evaluated. Thus, over the study period of 5 years, in total 24 animals are the maximum needed for setting up the RVFV infection model, to determine the infectivity of new virus stocks, and to set up a clinical scoring list that can be used in the vaccine efficacy studies.

1. Hartman, A. L., Powell, D. S., Bethel, L. M., Caroline, A. L., Schmid, R. J., Oury, T., & Reed, D. S. (2014). Aerosolized Rift Valley Fever Virus Causes Fatal Encephalitis in African Green Monkeys and Common Marmosets. *Journal of Virology*, 88(4), 2235–2245.
2. Smith, D. R., Bird, B. H., Lewis, B., Johnston, S. C., McCarthy, S., Keeney, A., et al. (2012). Development of a Novel Non-human Primate Model for Rift Valley Fever. *Journal of Virology*, 86(4), 2109–2120.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 112(C), 59–79.
4. Wonderlich, E. R., Caroline, A. L., McMillen, C. M., Walters, A. W., Reed, D. S., Barratt-Boyes, S. M., & Hartman, A. L. (2018). Peripheral Blood Biomarkers of Disease Outcome in a Monkey Model of Rift Valley Fever Encephalitis. *Journal of Virology*, 92(3), e01662–17.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

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

X No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

Several animal species, primarily rodents and nonhuman primates have been used to study RVFV virus infection of humans. Of these different species, NHPs are the preferred species, because their immune system most closely resembles that of humans. This is important, both for vaccine efficacy evaluation as well as for the infection of the host with RVFV, since these are both strongly affected by the reaction of the innate and adaptive immune system of the host. The proper evaluation of novel vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here. In addition, the species of choice in these studies, the common marmoset, most faithfully mimics human RVF in viremia, but also shows RVF clinical symptoms and pathology as are also seen in severe human RVF.

Reduction

Limited data are available for RVFV infection in marmosets, and the results of the proposed infection studies will provide the parameters for group-size calculations for subsequent studies. Based on the extensive experience with other viral infection models within the institute where this research will be performed, plus the limited data available from literature, it is expected that four animals per inoculum dose will be sufficient. The animals will also be closely monitored for clinical signs of RVF in order to set up a clinical scoring list for future vaccine efficacy studies. Therefore, no additional animals will be needed for the preparation of the clinical scoring list. On the basis of the outcome of the first study the number of animals needed in follow up experiments can be calculated and less animals may be needed. Only the minimum number of animals needed will be used.

Refinement

The use of telemetric devices to measure body temperature and activity makes it possible to real-time monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action at the earliest time-point if any of these parameters is influenced by the RVFV infection, even before detected by visual inspection. Thus, adequate action can be taken before an animal reaches its humane endpoint. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. The use of a smaller, novel telemetric device (Anipill 0.1C, DSI™; 17mm x 8 mm; 1.7 grams) than that has been used in previous marmoset studies will cause less discomfort to the animals. The animals are trained to cooperate as much as possible with invasive biotechnical actions, such as giving anesthesia or virus infection. All observations will be documented and added to the clinical scoring form which will be set up as part of the experimental infection studies. A highly sensitive real-time PCR will allow a very accurate determination of the virus load in small blood volumes collected from infected marmosets. Marmosets will be trained to stand on a scale themselves, making it possible to determine changes in body weight without anesthesia. The body weight will then be determined twice a day.

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

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

During the studies animals will be observed daily by qualified animal caretakers, and changes in body temperature and activity are monitored continuously using telemetry. Should changes occur in the latter parameters, or in behavior, appetite or stool, they will be documented, and a veterinarian will be informed. Then, if necessary, measures will be taken.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. The institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behavior, appetite and stool are part of this database. This database facilitates early recognition of minor

changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relieve the pain, if necessary.

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

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

For the placement of the telemetric device in the abdomen, the animals will be anesthetized. Subsequently they will receive analgesics for as long as necessary. In previous studies, it was observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature recording device, but have recovered very well within 1 week after the operation.

During the infection phase, the animals will be continuously monitored. Monitoring will be done by observation of the animals by the animal caretakers. As disease may develop rapidly, observation will be done minimally 3 times per day. Also, continuous telemetric monitoring of the changes in body temperature, as well as activity, will allow the early detection of signs of disease. Initially, monitoring of disease symptoms will be based on a clinical scoring list derived from published data. Listed are changes in body temperature (> 5%), changes in body weight (>20%), changes in activity and behavior, as well as changes in appearance (fur) due to dehydration and anorexia. Data obtained from the first infection studies may allow us to expand the scoring list for future use. This will then be communicated with the AWB. In case of symptoms caused by RVFV infection, this can result in distress. To avoid serious discomfort, the animals will then be euthanized.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Discomfort because of insertion of the telemetric device.
2. Stress because of recovery from sedation
3. Discomfort due to RVF disease symptoms

Explain why these effects may emerge.

1. The surgery needed for insertion of telemetric device will cause pain and some local inflammation
2. Animals will be repeatedly sedated for virus infection and blood sampling. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation and hypothermia and disorientation
3. RVFV infection of marmosets can cause disease symptoms

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

1. Surgery will be done under anesthesia and after surgery analgesics will be applied
2. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough
3. After infection, the animals are visually monitored minimally three times per day by animal caretakers, and are continuously monitored for changes in body temperature and activity using telemetry. If an animal shows clinical symptoms suggestive for RVF disease like changes in body temperature in combination with abnormal hematology parameters or behavior, the animals will be euthanized.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Animals are monitored daily by animal caretakers, and are continuously monitored for body temperature, and activity using a telemetric device. A clinical scorings list will be developed and used to assess if an animal shows clinical symptoms suggestive of RVF disease, like changes in body temperature in combination with abnormal biochemical parameters, or abnormal behavior. In such a case, the animals will be euthanized at the earliest time-point in order to avoid unnecessary suffering. Blood biochemical parameters that are influenced by RVFV in common marmosets, include levels of alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT) and blood urea nitrogen (BUN), indicators for liver function and kidney function, respectively. Animals may also show neurological signs, like instability and seizures, or show signs of anorexia and dehydration.

A minimal clinical scoring list based on published data will be used to assess RVF in the marmosets. The list includes decreased activity, changes in body temperature and body weight, and changes in blood hematological and biochemistry parameters. In case an animal shows an increase in ALP or ALT levels of > 200%, a loss of body weight of > 20%, or a change in body temperature of > 5%, this will be seen as indicator of severe RVF in marmosets. Then, a veterinarian will be consulted in order to assess if the animal has reached a humane end-point. If this is the case, the animal will be humanely euthanized at an earliest time point.

Indicate the likely incidence.

100%

K. Classification of severity of procedures

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

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

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

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

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

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

Yes

Description animal procedures

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

1 General

information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 50200
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|---|
| 2 | Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets |

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

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

We will use a general study protocol for the evaluation of RVFV vaccines in common marmosets. Before the start of the study a telemetric device is surgically placed in the abdominal cavity that will enable the continuous monitoring of body temperature and activity. Subsequently, the animals are immunized and monitored for 1) the development of vaccine-induced immune responses, and 2) possible adverse effects on behavior and health. All the vaccines that will be evaluated in this project have first been successfully evaluated for safety and efficacy in highly-sensitive target animals, like sheep. Therefore, they are expected to give no, or only very limited adverse effects in marmosets. In addition to the telemetric monitoring of body temperature and activity, the animals will be observed daily for changes in general behavior by animal caretakers, and at each sedation the animals will be visually inspected and the site of immunization will be checked for local reactions. Blood will be drawn to measure clinical chemistry and hematology parameters. Blood collection will be done before, between and after immunizations to measure induction of systemic immune responses. Depending on the specific objective of the vaccine analysis, the immunization may be followed by experimental infection with RVFV in order to evaluate the protective capacity of a vaccine. Then, a group of non-vaccinated animals will be included as infection controls. The infection will be performed as described in Appendix 1. If the primary objective of the study is to investigate absence of pathogenicity, or to evaluate immunogenicity, animals will not be experimentally-infected with RVFV.

The primary outcome parameters for vaccine evaluation are:

- Immunogenicity: induction of adaptive immune responses.
- Efficacy: capacity to protect against viral challenge will be established in terms of absence or

reduction of virus replication.

- Absence of clinical symptoms, absence of adverse effects of the vaccine on general behavior, absence of local reactions and changes in blood parameters.

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

A telemetric device is surgically placed in the abdominal cavity at least 4 weeks before the first immunization takes place. This time frame is necessary for full recovery of the animals from the surgery and to allow adequate body temperature and activity recording during a two to three-week period to establish normal values before immunizations start. Animals will receive one or more immunizations, with 2-6 weeks intervals, although occasionally a longer time frame may be needed between immunizations, when studies in rodent models or natural animal hosts, like sheep or goats, indicate the necessity for longer time-intervals. Immunizations will be done by various routes, like intradermal, intramuscular, subcutaneous, or intravenous injection.

At regular time intervals after every immunization, blood is collected for analysis. If live-attenuated viral vaccines are used, virus replication will also be analyzed as part of the evaluation. The total amount of blood will be less than 1% of the body weight per month and less than 0,7% of body weight per bleeding. This amount can only be exceeded if the specific study requirements leave no other options, specific permission is obtained from the AWB and the veterinarian is in agreement based on the health status of the animal. Immune responses measurable after the final immunization will be critical for the decision to continue with viral challenge. If these responses are inadequate then the study will be stopped and animals may be re-used in other non-RVfV virus-related experiments, if allowed. In case of a vaccine immunogenicity study with no efficacy evaluation, animals will be euthanized at this time-point, in order to investigate for possible vaccine-induced pathologies, and, in case of live-attenuated vaccines, for residual vaccine virus in tissues and organs.

Experimental challenge of the animals will be done as described in Appendix 1. Clinical symptoms will be monitored daily during the infection phase. The continuous monitoring of body temperature and activity by using telemetric devices will allow us to quickly respond to early indications of RVfV symptoms. Blood is taken to monitor changes in clinical chemistry and hematology parameters, leukocyte subsets and cytokine production. At the same time points the body weight is recorded. The animals will be monitored for a period of maximally 4 weeks for vaccine efficacy. Then, they are humanely euthanized and a full necropsy is performed in order to evaluate pathology and the detection of residual challenge virus. In case an animal should reach the humane endpoint during the study, it will be immediately humanely euthanized and a full necropsy will be performed. Also, tissues will be collected to determine virus replication in the different organs.

The details of each study, regarding the interval between the immunizations, the number and time points of sampling, the specific criteria to proceed with a viral challenge, the time interval between the last immunization and viral challenge will depend on the actual type of vaccine that is being tested and this will be submitted to the AWB.

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

The number of animals per group will be based on statistical power analysis appropriate for the primary outcome measure. There are two primary outcome measures:

1. vaccine immunogenicity defined as cellular or humoral immune responses, and
2. vaccine efficacy, with the fraction infected or a reduction in virus load as primary outcome measures.

Vaccine immunogenicity calculations take into account the number of animals required to detect

significant induction of immune responses compared to unvaccinated controls. The minimal detectable alternative is 1.8 and 1.3 x standard deviations for 6 and 10 animals (based on $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$ [power = 80%], Student t distribution), respectively.

For vaccine efficacy, calculations are performed to establish the number of animals required to detect vaccine efficacy, defined as: 1. a reduction in the number of infected animals (vaccine efficacy > 85% or 60% for 6 and 10 animals, respectively, analyzed by 2 x 2 contingency tables and Fisher's exact test), and 2. a reduction in serum virus load in the vaccine groups versus the challenge control group (log virus load is approximately normally distributed, statistical comparisons will be done by Student t-test). Like for the immunogenicity testing, the minimal detectable alternative is 1.8 and 1.3 x standard deviations for 6 and 10 animals (based on $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$ [power = 80%], Student t distribution), respectively.

Only the minimum number of animals per group needed, will be used. When historical data are available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1), usually fewer animals can be used in the non-vaccinated challenge control group than in the vaccine groups. For each individual study, the power analysis will be communicated with the AWB.

B. The animals

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

The experiments will be performed with common marmosets (*Callithrix jacchus*), maximally n = 110. All marmosets are purpose bred at the institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier in compliance with EU legislation. Both mature male and female animals can be used.

For **veterinary RVFV vaccine efficacy** and safety evaluation, **sheep are the preferred animal model** as they are most sensitive for RVFV infection. **Nonhuman primates (NHP) are the preferred species for the efficacy evaluation of novel human vaccines** because NHPs have an immune system and physiology that are highly similar to that of humans. In addition, absence of residual pathogenicity of human vaccines is also preferably studied in NHP. NHP show disease symptoms of RVF similar to those found in humans, while ruminants show disease symptoms, like neonatal mortality and increased incidence of abortions and fetal malformations, that are not found in humans.

Historically, rhesus macaques have been used to evaluate potential RVFV vaccines and therapeutics, but recently, a new model for RVF has been described in common marmosets. This model overcomes some of the limitations of the macaque model, as marmosets are more susceptible to low dose challenge with RVFV than rhesus macaques and experience higher rates of morbidity, mortality, and viremia and marked aberrations in hematological and chemistry values. Depending on the route of exposure, these animals exhibit acute-onset hepatitis, delayed-onset encephalitis, and hemorrhagic disease, which are dominant features of human RVF (1,2,3,5).

In the guidelines for nonclinical evaluation of vaccines (4), the WHO states that a product should be characterized in a species sensitive to the biological effects of the vaccine being studied. Ideally, the species chosen should be sensitive to the pathogenic organism, and the animal species used should develop an immune response to the vaccine antigen. Based on the above, the common marmoset is chosen as the animal species for the studies.

The number of animals requested for RVFV vaccine efficacy evaluation is based on the assumption that each study will contain two vaccine groups and 1 control group, with up to 10 animals per group. The group size will be determined per experiment, based on power calculations specific for the experiment. Variation in virus replication between animals has to be such that in a vaccine evaluation study significant protection against infection can be obtained with a limited number of animals per group. For a one dose challenge, usually n=6 per group suffices to reach statistical significance. Probably fewer animals may be needed in the non-vaccinated challenge control groups if results from infection studies (Appendix 1) are used.

In all, we anticipate performing a maximum of 3 studies over a 5-year period. Starting from maximally 10 animals per group with a maximum of 2 different vaccine candidates (or different combinations of routes of vaccination) + 1 control group per study (= 2 experimental groups + 1 control group, at n=10/group, with 3 studies, results in a maximum of 90 animals). Additionally, we anticipate to perform 2 vaccine immunogenicity studies over the study period. Archived data from non-infected marmosets will be used as negative control data. Maximally $2 \times 10 = 20$ animals will be used for immunogenicity analyses.

Over the study period of 5 years, in total 110 animals are needed for performing RVFV vaccine evaluation studies.

1. Hartman, A. L., Powell, D. S., Bethel, L. M., Caroline, A. L., Schmid, R. J., Oury, T., & Reed, D. S. (2014). Aerosolized Rift Valley Fever Virus Causes Fatal Encephalitis in African Green Monkeys and Common Marmosets. *Journal of Virology*, *88*(4), 2235–2245.
2. Smith, D. R., Bird, B. H., Lewis, B., Johnston, S. C., McCarthy, S., Keeney, A., et al. (2012). Development of a Novel Non-human Primate Model for Rift Valley Fever. *Journal of Virology*, *86*(4), 2109–2120.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Antiviral Research. *Antiviral Research*, *112*(C), 59–79.
4. WHO. (2005). *Annex 1 WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines* (Vol. 927, pp. 32–63). WHO Technical Report Series.
5. Wonderlich, E. R., Caroline, A. L., McMillen, C. M., Walters, A. W., Reed, D. S., Barratt-Boyes, S. M., & Hartman, A. L. (2018). Peripheral Blood Biomarkers of Disease Outcome in a Monkey Model of Rift Valley Fever Encephalitis. *Journal of Virology*, *92*(3), e01662–17.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

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

X No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

Nonhuman primates have been used to evaluate RVF vaccines, because NHPs have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine efficacy evaluation, as well as for the interaction of the host with RVFV, since these are affected both by the physiology and by the reaction of the innate and adaptive immune system. The proper evaluation of novel vaccines requires adequate infection models in NHP,

which is the purpose of the studies proposed here. Ideally, the species chosen should be sensitive to the pathogenic organism, and the animal species used should develop an immune response to the vaccine antigen. The species of choice in the proposed studies, the common marmoset, not only faithfully mimics human RVF in viremia, but also shows RVF clinical symptoms and pathology as are also seen in severe human RVF. Based on the above, the common marmoset is chosen as the animal species for our studies.

Reduction

The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant level of protection or reduction in virus load in the circulation between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Data will become available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1). When using these data usually fewer animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups. Furthermore, we aim to evaluate multiple vaccine candidates in a single experiment, so that a single challenge control group can be used.

Refinement

The animals are trained to cooperate as much as possible with the invasive biotechnical handlings, such as receiving a sedation or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood are reduced to a minimum. A highly sensitive real-time PCR will allow a very accurate determination of the virus load in small blood volumes collected from infected marmosets.

The use of telemetric devices to measure body temperature and activity makes it possible to real-time monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action at the earliest time-point if any of these parameters is influenced by the RVFV infection, even before detected by visual inspection. Thus, adequate action can be taken before an animal reaches its humane endpoint. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. The use of a smaller, novel telemetric device (Anipill 0.1C, DSI™; 17mm x 8 mm; 1.7 grams) than that has been used in previous marmoset studies will cause less discomfort to the animals. The use of a clinical scorings list, in combination with the use of temperature/activity telemetric devices makes it possible to continuously monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action as soon as possible if any of these parameters is influenced by the RVFV vaccination, even before detected by visual inspection. Marmosets will be trained to stand on a scale themselves, making it possible to determine changes in body weight without anesthesia. The body weight will then be determined twice a day.

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

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

All experimental procedures will be performed under sedation. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. Animals are trained to cooperate as much as possible with the invasive biotechnical handlings, such as receiving a sedation or virus infection. Each time an animal is sedated for blood collection or immunization, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. The institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behavior, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relief the pain, if necessary.

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

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable

Accommodation and care**F. Accommodation and care**

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

X No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

X No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints**H. Pain and pain relief**

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

For the placement of the telemetric device in the abdomen, the animals will be anesthetized. Then, they will receive analgesics for as long as necessary. In previous studies, it was observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature recording device, but have recovered very well within 1 week after the operation.

During the infection phase, the animals will be continuously monitored. Monitoring will be done by observation of the animals by the animal caretakers. As disease may develop rapidly, observation will be done minimally 3 times per day. Also, continuous telemetric monitoring of the changes in

body temperature, as well as activity, will allow the early detection of signs of disease. Monitoring of disease symptoms will be based on a clinical scoring list developed as described in Appendix 2. Listed symptoms include changes in body temperature (> 5%), changes in body weight (>20%), changes in activity and behavior, as well as changes in appearance (fur) due to dehydration and anorexia. In case of symptoms caused by RVFV infection, this can result in distress. To avoid serious discomfort, the animals will then be euthanized.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Discomfort because of insertion of the telemetric device.
2. Discomfort due to administration of vaccines and virus
3. Stress, loss of appetite because of recovery from sedation
4. Discomfort due to RVF disease symptoms

Explain why these effects may emerge.

1. The surgery needed for insertion of the telemetric device will cause pain and some local inflammation
2. Administrations can cause local irritation
3. Animals will be repeatedly sedated for virus infection, immunizations, and blood sampling. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation
4. RVFV infection of marmosets can cause disease symptoms

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

1. Surgery will be done under anesthesia and after surgery analgesics will be applied.
2. If local irritation occurs the severity will be minor. Therefore, no extra actions are needed.
3. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
4. After infection, the animals are visually monitored minimally three times per day by animal caretakers, and are continuously monitored for changes in body temperature and activity using telemetry. If an animal shows clinical symptoms suggestive for RVF disease like changes in body temperature in combination with abnormal hematology parameters or behavior, the animal will be euthanized.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Animals are monitored daily by animal caretakers, and are continuously monitored for body temperature, and changes in activity using a telemetric device. If an animal shows clinical symptoms suggestive for RVF disease, like changes in body temperature in combination with abnormal hematology parameters or abnormal behavior, the animals will be euthanized. Blood biochemical parameters that are influenced by RVFV in common marmosets, include levels of alkaline phosphatase and blood urea nitrogen, that are indicators for liver function and kidney function, respectively. Animals may also show neurological signs, like instability and seizures, or show signs of anorexia and dehydration. The use of a clinical scorings list (Appendix 1), will facilitate the early detection of disease symptoms and avoid unnecessary suffering of the animals. Thus, animals can be humanely euthanized at an early time-point of RVF, prior to severe disease symptoms.

Indicate the likely incidence.

100% of infected animals



> 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
AVD5020020174224
Bijlagen
2

Datum 14 februari 2018
Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e ,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 12 februari 2018. Het gaat om uw project "Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD5020020174224. 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:

14 februari 2018

Aanvraagnummer:

AVD5020020174224

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
14 februari 2018
Aanvraagnummer:
AVD5020020174224

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 50200
Naam instelling of organisatie: Biomedical Primate Research Centre
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: 10.2.e
Straat en huisnummer: Lange Kleiweg 161
Postbus: 3306
Postcode en plaats: 2288 GJ RIJSWIJK

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:
14 februari 2018
Aanvraagnummer:
AVD5020020174224

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

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 april 2018
Geplande einddatum: 31 maart 2023
Titel project: Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets
Titel niet-technische samenvatting: Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley Fever virus vaccins in penseelapen
Naam DEC: 10.2.g
Postadres DEC: 10.2.g
E-mailadres DEC: 10.2.e

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 1.537,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting

Ondertekening

Naam: 10.2.e
Functie: 10.2.g
Plaats: Rijswijk
Datum: 12 februari 2018



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

AVD5020020174224

Bijlagen

2

Datum 14 februari 2018

Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 14 februari 2018

Vervaldatum: 16 maart 2018

Factuurnummer: 184224

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD5020020174224	€ 1.537,00

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

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: AVD502000020174224
2. Titel van het project: Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets.
3. Titel van de NTS: Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley Fever Virus vaccins in penseelapen
4. Type aanvraag:
 - nieuwe aanvraag projectvergunning
 - wijziging van vergunning met nummer
5. Contactgegevens DEC:
 - naam 10.2.g
 - telefoonnummer contactpersoon: 10.2.e
 - e-mailadres contactpersoon: 10.2.e
6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - ontvangen door DEC: 14-02-2018
 - aanvraag compleet: 14-02-2018
 - in vergadering besproken: 15-02-2018
 - anderszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van / tot
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - aanpassing aanvraag
 - advies aan CCD
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 CCD.

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
 - Datum 15-02-2018
 - Plaats: Rijswijk
 - Aantal aanwezige DEC-leden: zes
 - Aanwezige (namens) aanvrager: De verantwoordelijk onderzoeker.
 - Gestelde vraag / vragen: Gevraagd is de noodzaak voor het gebruik van niet-humane primaten te verklaren en de keuze voor de apensoort
 - Verstrek(e) antwoord(en): De aanvrager heeft duidelijk gemaakt dat de ontwikkeling van een vaccin voor mensen hoge prioriteit heeft en dat daarvoor het testen in NHP en specifiek in penseelaapjes essentieel en noodzakelijk is. Met name werden in het gesprek de volgende punten verduidelijkt: 1) indien makaken in plaats van penseelapen voor deze experimenten ingezet zouden worden dan zouden meer dieren nodig zijn, aangezien maar in 20% van de geïnfecteerde makaken ziekteverschijnselen optreden; 2) voor infectie van makaken is een 1000 tot 10000 hogere dosis van het virus nodig. Daardoor kan de aanwezigheid van restpathogeniciteit van de te testen vaccins in makaken niet in afdoende mate worden vastgesteld. Deze gegevens staan in principe wel in de aanvraag maar kwamen in het gesprek duidelijker naar voren.
 - Het horen van de aanvrager heeft niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
9. Correspondentie met de aanvrager
 - Datum: xxxxx
 - Gestelde vraag/vragen:
 - Datum antwoord: xxx
 - Verstrek(e) antwoord(en):
 - De antwoorden hebben niet geleid tot aanpassing van de aanvraag
10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)
 - 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 statistische analyse, de immunologie, virologie, vaccin onderzoek, 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 vaccin onderzoek in niet-humane primaten.
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.
Een van de DEC leden was betrokken bij de aanvraag. Deze persoon heeft zich teruggetrokken van de vergadering bij de bespreking van de aanvraag en overigens geen aandeel gehad in de afweging en advisering.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft. Het voorgestelde onderzoek bestaat uit drie fasen, te weten 1) het opzetten van een infectie model met Rift Valley Fever Virus (RVFV) in penseelapen, 2) het testen van RVFV vaccins (met name vaccins gebaseerd op verzwakt virus) op pathogene effecten, 3) het testen van RVFV vaccins op immunogeniciteit en effectiviteit tegen experimentele infectie met RVFV. Momenteel zijn er geen goedgekeurde vaccins tegen RVFV beschikbaar voor gebruik in de mens. Er zijn drie RVFV vaccins beschikbaar voor gebruik in dieren; één geïnactiveerd virus vaccin met als belangrijke beperking dat herhaalde toediening is vereist voor een succesvolle bescherming, en twee live attenuated virus vaccins, die niet gebruikt kunnen worden in zwangere dieren vanwege kans op inductie van abortus. Uit de resultaten van een fase 2 klinische trial bleek dat het geteste verzwakt levend vaccin immunogeen en veilig was in 19 vrijwilligers. Hierbij is het van belang om op te merken dat hetzelfde vaccin abortus kan induceren in schapen in vroege stadia van de dracht. Daarom zijn er grote zorgen over eventuele "restpathogeniciteit".
Het voorgestelde onderzoek behelst het testen van bestaande en nieuw te ontwikkelen vaccins op nadelige effecten, immunogeniciteit en beschermende werking tegen RVFV infectie in penseelapen. Het uiteindelijke doel is het verkrijgen van een veilig en effectief vaccin tegen RVFV voor gebruik in de mens, en eventueel in vee. Vaccins die getest zullen worden in dit model kunnen niet in een andere diersoort worden getest omdat die modellen niet voorspellend zijn voor met name de beschermende werking en het optreden van mogelijk nadelige effecten bij toepassing van de vaccins in de mens. De subdoelen sluiten logisch aan bij dit hoofddoel. Er zijn duidelijke go/no go criteria geformuleerd voor de voorgestelde dierexperimenten. Het is duidelijk welke handelingen de individuele dieren zullen ondergaan. De uitkomsten uit dit experiment zijn helder en meetbaar. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en voor zover mogelijk statistisch onderbouwd. De humane eindpunten zijn strak gedefinieerd.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Wet Natuurbescherming). Er is, zover de DEC kan overzien, geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelelstellingen 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 wordt onderzocht of nieuwe kandidaat vaccins of reeds bestaande RVFV vaccins, die momenteel alleen zijn toegestaan voor gebruik in dieren, een goede immuunrespons kunnen opwekken die bescherming geeft tegen experimentele infectie met RVFV. Daarenboven wordt vastgesteld of de vaccins geen onverwachte nadelige effecten vertonen. Dit wordt onderzocht in penseelapen aangezien deze dieren gevoelig zijn voor RVFV en ziekteverschijnselen vertonen die vergelijkbaar zijn met ernstige RVF in mensen. Hierdoor zullen ook alle eventuele pathogene eigenschappen van de vaccins goed gedetecteerd kunnen worden. Bovendien vertoont het immuunsysteem van niet-humane primaten belangrijke overeenkomsten met dat van de mens, waardoor de uitkomsten van de voorgestelde dierproeven een goed beeld geven van de immunogeniciteit en het beschermend vermogen tegen RVFV infectie in de mens.

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 bestaande alleen voor gebruik in dieren toegestane vaccins alsmede nieuwe kandidaat vaccins tegen RVFV infectie in penseelapen op immunogeniciteit, effectiviteit en afwezigheid van pathogene eigenschappen. RVFV veroorzaakt infecties voornamelijk bij vee en wilde dieren, maar kan ook op de mens worden overgedragen. Hoewel bij de mens de ziekte over het algemeen mild is, verloopt de ziekte ernstig bij 1 tot 3% van de geïnfecteerde personen, waarvan 20 tot 50% overlijdt. Momenteel is er geen vaccin beschikbaar voor gebruik in de mens. Het uiteindelijke doel is het beschikbaar komen van een vaccin dat zowel mensen als dieren kan beschermen tegen RVF. Dergelijke vaccins zijn zeer gewenst, mede vanwege de gereede kans op een bredere verspreiding van het virus door geïnfecteerde muskieten.

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 nieuwe vaccins tegen RVFV zijn te beschermen personen en vee, de proefdieren en het onderzoeksveld.

Het belang voor de samenleving is dat het aantal dodelijke slachtoffers en ziekte veroorzaakt door RVFV aanzienlijk wordt teruggedrongen. Betrouwbare vaccins zijn daarvoor essentieel. Met het beschikbaar komen van effectieve en veilige vaccins voor toediening in vee zullen RVFV uitbraken voorkomen kunnen worden, waardoor de economische en maatschappelijke schade sterk wordt teruggedrongen. Natuurlijk leidt effectieve vaccinatie van het vee tot minder risico voor infectie bij de mens. Indien hetzelfde vaccin in mensen kan worden toegepast zal dit RVF verspreiding in menselijke populaties verder beperken, vooral tijdens uitbraken van de ziekte in de veestapel.

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

Het onderzoeksveld krijgt nieuwe informatie die wordt gedeeld d.m.v. publicatie(s).

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 onderzoeksgroep heeft jarenlange ervaring met het uitvoeren van vaccin onderzoek in niet-humane primaten en de aandacht voor toepassing van vermindering en verfijning bij de dierproeven. Alhoewel nog niet eerder infectie experimenten met RVFV zijn gedaan binnen het instituut is er uitgebreide ervaring en kennis met diverse virale infectieziekten, zoals West Nile virus, Zika virus, dengue virus, in penseelapen. De faciliteiten en ervaring om met RVF virussen te werken zijn zowel op DMIII als MLIII niveau aanwezig.
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 gekozen aanpak

bestaat uit 1) het opzetten van een RVFV infectiemodel in penseelapen, 2) het testen van RVFV vaccins (met name vaccins gebaseerd op verzwakt virus) op pathogene effecten, 3) het testen van RVFV vaccins op immunogeniciteit en effectiviteit tegen experimentele infectie met RVFV. Daarnaast wordt onderzocht of nieuwe (verzwakte virus) vaccins pathogeen zijn. De voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters zijn logisch en helder gekozen en sluiten aan bij de aangegeven doelstellingen en 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)

Het experiment wordt uitgevoerd met niet-humane primaten, namelijk penseelapen (*Callithrix jacchus*). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de gevoeligheid voor RVFV infectie en het ontstaan van klinische symptomen en pathologie die vergelijkbaar zijn met ernstige ziekte bij de mens. Hierdoor kan het optreden van pathogene effecten van met name de reeds beschikbare live attenuated vaccines in voldoende mate vastgesteld worden. De nauwe overeenkomsten met het immuunsysteem van de mens garandeert een goede extrapoleerbaarheid van vaccin geïnduceerde immuun responsen. Ook kunnen onverwachte bijwerkingen beter aan het licht komen omdat RVFV infectie in penseelapen een ziektebeloop vertoont vergelijkbaar met ernstige ziekte in de mens.

Voor alle studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt, mits de voorafgaande experimenten niet interfereren met de huidige proefuitkomsten. 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 op basis van ervaring met voorgaande vaccin studies en het toepassen van humane eindpunten correct als matig ingeschat. Het ongerief zal worden veroorzaakt door de chirurgische ingreep die nodig is om een recorder voor telemetrie te plaatsen, de vaccinaties en de klinische symptomen ten gevolge van RVFV infectie. Door implementatie van humane eindpunten op basis van klinische symptomen, bepaald door middel van observatie en telemetrie, gewichtsverlies en veranderingen

in biochemische bloed parameters zal ernstig ongerief worden vermeden. De dieren die gebruikt zullen worden voor de experimenten zijn speciaal gefokt om experimenten te ondergaan 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 het plaatsen van een recorder in de buikholte, het vaccineren van de dieren en door de infectie met RVFV. Aan het einde van het experiment worden de dieren geëthanaseerd om de aanwezigheid van virus in inwendige organen vast te stellen en de mogelijke weefselschade te kunnen bestuderen.
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. Humane eindpunten zijn gebaseerd op observatie van veranderingen in temperatuur en activiteit die continu worden bepaald via telemetrie en klinische symptomen, gewichtsverlies en klinisch chemische waarden. Observaties tijdens de eerste RVFV infectie experimenten, beschreven in bijlage 1, zullen worden gebruikt voor het verbeteren van de klinische scoringslijst. Naar de mening van de DEC zijn de humane eindpunten zorgvuldig beschreven en is de inschatting van 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 waarin de effectiviteit van vaccins kan worden getest, daarom is gebruik van proefdieren noodzakelijk. De immunogeniciteit, effectiviteit en eventuele bijwerkingen van RVFV vaccins worden onderzocht in penseelapen omdat deze dieren gevoelig zijn voor RVFV en ziekteverschijnselen vertonen die vergelijkbaar zijn met ernstige RVF bij de mens. Hierdoor is het waarschijnlijk dat alle pathogene eigenschappen van vaccins die gebaseerd zijn op verzwakt virus goed gedetecteerd kunnen worden. Bovenal vertoont het immuunsysteem van de penseelaap belangrijke overeenkomsten met dat van de mens, waardoor de uitkomsten van de voorgestelde dierproeven een goede indicatie geven over immunogeniciteit en bescherming tegen RVFV infectie in de mens. Resus apen zijn ook te infecteren met RVFV, maar alleen door toediening van een hoge dosis virus. De dieren vertonen virus in het bloed, koorts en leukopenie. Slechts 20% van de dieren ontwikkeld klinische symptomen. Om bescherming tegen de ziekte in resusapen aan te tonen zou derhalve aanzienlijk meer dieren vergen dat wanneer de studie in penseelapen wordt uitgevoerd. Bovendien kunnen de ziekteverschijnselen ten gevolge van RVF vaccinatie en restpathogeniteit van vaccins gebaseerd op verzwakt virus beter in penseel apen worden vastgesteld dan in resus apen. Voorafgaand aan de evaluatie in penseelapen zullen de kandidaat vaccins getest worden in landbouwhuisdieren. Afwezigheid van pathologie in deze dieren is echter niet een afdoende waarborg voor veiligheid in de mens.
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. Het aantal dieren dat nodig is voor de studies voor het opzetten van het infectie model (bijlage 1) is op basis van in de literatuur beschreven studies gekozen en tot een minimum beperkt. Het aantal benodigde dieren voor de vaccin evaluatie (bijlage 2) wordt bepaald met behulp van powerberekeningen op basis van de gegevens verkregen uit het opzetten van het infectie model. Doordat meerdere kandidaat vaccins binnen een dierexperiment worden getest zal het aantal controlegroepen beperkt worden. Door gebruik van gegevens uit infectie experimenten verricht onder bijlage 1 kan in bijlage 2 het aantal dieren in de controlegroep worden verminderd. Voorafgaand aan de evaluatie in penseelapen zullen de kandidaat vaccins getest worden in landbouwhuisdieren. Hierdoor zullen alleen de veelbelovende kandidaten in penseelapen getest worden.

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe. De uitvoering is verfijnd door gebruik te maken van sociaal gehuisveste dieren die goed aan mensen gewend zijn, dieren zijn bovendien getraind om mee te werken aan bepaalde diertechnische handelingen, waardoor ze minder stress ervaren. Bijvoorbeeld dieren worden getraind om op een weegschaal te gaan staan. Door het intensief monitoren en het frequent wegen van de dieren kunnen de belangrijke uitkomstparameters en de humane eindpunt parameters betrouwbaar en zonder extra ongerief worden bepaald. Sedatie en pijnbestrijding zullen worden toegepast wanneer geïndiceerd.
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, geef ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd. De dieren zullen worden gedood aan het eind van de studie. Dit is nodig om aanwezigheid van virussen in inwendige organen te bepalen en om mogelijke schade aan de organen vast te stellen. Daarnaast worden dieren ge-euthanaseerd wanneer humane eindpuntcriteria worden bereikt, dit om verder ongerief te voorkomen. 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 vaccins tegen RVFV die bedoeld zijn voor toepassing in de mens het ongerief dat penseelapen wordt aangedaan?
2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale

en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende.

De waarden die voor de samenleving in het geding zijn, zijn gelegen in het ontwikkelen van vaccins tegen RVPV die voldoende veilig en effectief zijn om te kunnen worden toegepast in de mens. Er zijn reeds klinische testen uitgevoerd met bepaalde veterinaire vaccins, de uitkomsten daarvan waren veelbelovend, maar dit vaccin veroorzaakte abortussen in drachtige schapen. Naar verwachting leidt het beschermen van de mens door veilige en effectieve vaccinaties tot vermindering van het aantal ziektegevallen en doden als gevolg van infectie met RVPV. Daarnaast zullen verbeterde vaccins ook toegepast kunnen worden bij het vaccineren van met name landbouwhuisdieren in gebieden waar RVPV in belangrijke mate voorkomt, hetgeen ook weer kan bijdragen in verlaging van de incidentie in mensen, maar ook in de populatie van 'wilde dieren' waardoor het virus-reservoir verkleind wordt. De voordelen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten, minder verlies van landbouwhuisdieren), maatschappelijk, als bevorderlijk voor de gezondheid en welzijn van mensen en dieren. Gezien de risico's voor mens en dier en het risico van verdere verspreiding van de ziekte heeft de WHO RVPV geplaatst op de lijst van 13 "priority pathogens". Het belang voor mens en dier kan als aanzienlijk worden aangemerkt. De voorgestelde studie werkt vanuit het WHO 'One Health' uitgangspunt, de erkenning van de relatie tussen gezondheid van mens en dier.

Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze zullen hierdoor ziek worden en enige pijn ondervinden door chirurgische ingrepen, bloedafnames en injecties. De dieren ondervinden hiervan matig nadeel.

De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in welke eigenschappen van een vaccin bijdragen aan mogelijk pathogene effecten of bijdragen aan bescherming tegen RVPV infectie. Daarmee is dit onderzoek informatief en van belang.

Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot de ontwikkeling van nieuwe vaccins die gebruikt kunnen worden voor grootschalige bestrijding van RVPV infectie in mens en dier. Het verwachte ongerief voor de proefdieren 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.

RVPV kan bij landbouwhuisdieren en ook bij dieren in het wild grote schade aanrichten, ongeveer 20% van de besmette dieren overlijdt en infectie met het virus veroorzaakt abortussen bij drachtige dieren. Het virus is lastig te bestrijden in de wilde populatie, waardoor veestapels besmet kunnen worden. Door contact met besmette (wilde en gedomesticeerde) dieren en zeer waarschijnlijk ook

via besmette muggen kunnen mensen in nabijheid van besmet vee ziek worden. Een deel van de geïnfecteerde mensen (1-3%) ontwikkelt ernstige ziekte, waaraan men kan komen te overlijden. Om hoeveel gevallen het precies gaat is nog niet helemaal duidelijk wegens gebrek aan goede diagnostiek, wel lijkt de ziekte de laatste jaren vaker voor te komen en ernstiger te verlopen dan voorheen. Daarom is met name in de risicogebieden het beschikbaar komen van een effectief vaccin tegen RVFV voor gebruik in de mens een hoge prioriteit. Mede gezien de hoge kans op verdere verspreiding is RVFV door de WHO aangemerkt als "priority disease".

Hoewel er een vaccin is dat al in mensen is getest, zijn er zorgen over de zgn. 'restpathogeniciteit' en daarom willen de onderzoekers penseelapen infecteren met verzwakte virussen die mogelijk als vaccin gaan dienen. Penseelapen zijn zeer gevoelig voor infectie met RVFV en vertonen een ziektebeeld dat erg overeenkomt met ernstige ziekteverschijnselen in de mens. Mocht een vaccin nog enige mate van pathogeniciteit hebben dan zal dat zeer waarschijnlijk in penseelapen aan te tonen zijn.

De expertise voor het verrichten van deze experimenten is beschikbaar binnen de instelling en bij de betrokken onderzoekers. De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar vaccins tegen verschillende virussen. De vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten is ruimschoots aanwezig. De gekozen strategie voor de RVFV infectie en vaccin evaluatie studies, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit eerdere vaccin studies. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor RVFV infectie, het vergelijkbare verloop van de infectie en pathogenese en de zeer grote fysiologische en anatomische overeenkomsten met de mens. De dieren zijn specifiek gefokt voor gebruik in onderzoek en worden sociaal gehuisvest. De 3V-principes worden gehonoreerd door hergebruik van dieren, en training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen en frequent wegen. Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven.

De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De te onderzoeken vaccins zijn van te voren getest in landbouwhuisdieren op werkzaamheid en veiligheid. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling is het noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat vaccins te onderzoeken in een diermodel dat grote overeenkomsten vertoont met de mens. De effecten van de kandidaat vaccins kunnen in dit diermodel goed worden onderzocht en ook kunnen nadelige effecten aan het licht komen. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

E. Advies

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

- ✓ De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
 - ✓ Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.

Voor de uitvoering van dit project is tevens ministeriële ontheffing vereist

Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden, te weten...

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

De vaststelling dat het project niet vergunningplichtig is om de volgende redenen:...

De volgende doorslaggevende ethische bezwaren:...

De volgende tekortkomingen in de aanvraag:...

2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificieer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus. De belanghebbende die lid is van de DEC was niet betrokken bij het overleg, bij het horen van de aanvrager en heeft geen aandeel gehad in de totstandkoming van dit advies.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project. Een drietal dilemma's kwam naar voren tijdens de beoordeling van deze aanvraag. Het eerste betreft de noodzaak om vaccins tegen RVF vaccins in niet-humane primaten te onderzoeken. Immers, door het effectief vaccineren van de veestapel loopt de humane populatie aanzienlijk minder risico om besmet te raken met RVFV. De onderzoeker is gevraagd om uitleg te geven en verklaarde dat niet alleen gedomesticeerde maar ook wilde dieren bronnen van besmettingen zijn. Bovendien is het lastig om alle dieren in de veestapels in rural area's te vaccineren. Het aantal uitbraken van RVF is aan het toenemen en veel mensen lopen risico op infectie/ziekte. Het is daarom noodzakelijk om een vaccin te ontwikkelen dat snel ingezet kan worden bij uitbraken van de ziekte. Het tweede dilemma betrof de keuze voor de penseelaap. Ook resusapen zijn gevoelig voor infectie met het virus en kunnen detecteerbare viremie ontwikkelen, maar vertonen veel minder vaak ernstige ziekteverschijnselen. De onderzoeker betoogde desgevraagd dat resultaten van experimenten, waarin dieren – zoals resusapen die beperkt gevoelig zijn RVFV - met verzwakt virus zijn gevaccineerd, onterecht de indruk kunnen wekken dat het vaccin veilig is voor mensen. De resusaap is weliswaar een goed model voor onderzoek naar de immunogeniteit en effectiviteit van het vaccin, maar niet om de eventuele nadelige effecten goed in kaart te brengen. Tenslotte hebben het gegeven dat er aanzienlijk meer resusapen nodig zouden zijn dan penseel apen, dat de resus aap wellicht een specifiek model is (vanwege de hoge hoeveelheid virus die nodig voor infectie en de afwezigheid van klinische symptomen in de meeste dieren) en waar ook nog eens de betrouwbaarheid van de restpathogeniciteit in het geding is, een belangrijke rol gespeeld bij de keuze van de penseelapen. De African Green Monkey (*Chlorocebus aethiops*) is even gevoelig voor RVFV als de penseelaap. Aangezien de aanvragers geen ervaring hebben met deze apensoort is terecht gekozen voor penseelapen. Het laatste dilemma is de vraag of de doelgroep waarvoor dit vaccin ontwikkeld wordt wel toegang krijgt tot het vaccin. Het is echter niet aan deze DEC om daar een oordeel over te geven. Alle andere dilemma's zijn hierboven besproken tijdens de ethische afweging.



Format

Niet-technische samenvatting

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

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley Fever virus vaccins in penseelapen
1.2 Looptijd van het project	1 april 2018 – 31 maart 2023 (5 jaar)
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Rift Valley Fever virus, vaccin, marmoset, pathogeniciteit, werkzaamheid

2 Categorie van het project

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

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Rift Valley fever (RVF) is een infectieziekte die wordt veroorzaakt door het Rift Valley fever virus (RVFV). RVF is een ernstige ziekte bij vee die ook op mens kan worden overgedragen (zoönose). RVF bij mensen kenmerkt zich meestal door "griepachtige" ziekteverschijnselen, maar 1-3% van de geïnfecteerden ontwikkelt ernstige ziekte waaraan tot 50% van deze mensen overlijdt. RVF komt momenteel voornamelijk voor in Afrika, maar gevreesd wordt dat RVFV Europa zal binnenkomen via geïnfecteerde muggen, of via geïnfecteerde dieren of mensen. De Wereldgezondheidsorganisatie is groot pleitbezorger voor de ontwikkeling van een zgn. 'One Health vaccin', een vaccin dat kan worden gebruikt om zowel mensen als dieren te beschermen tegen RVFV infectie. In dit project zullen we de beschermende werking van dit type vaccins testen in vaccinatie-infectie experimenten in penseelapen.
3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	Op het ogenblik zijn er nog geen RVFV vaccins beschikbaar voor gebruik in de mens. In dit project zullen wij nieuwe vaccins, bestemd voor gebruik in de mens en dier, testen op hun vermogen om penseelapen te beschermen tegen infectie met RVF. Wij verwachten dat dit onderzoek zal bijdragen aan de ontwikkeling van een toekomstig 'One Health' vaccin tegen RVF, dat kan worden gebruikt om nieuwe epidemieën bij mens en dier te voorkomen.
3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Maximaal 134 penseelapen
3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve	De dieren ondervinden ongerief door biotechnische handelingen, en het plaatsen van een meetinstrument in de buikholte. Daarnaast kunnen de dieren ziek worden door de virusinfectie.

gevolgen voor het
welzijn van de
proefdieren?

3.5 Hoe worden de
dierproeven in het
project ingedeeld naar
de verwachte ernst?

Door toepassing van een humaan eindpunt wordt de welzijnsaantasting beperkt tot matig.

3.6 Wat is de bestemming
van de dieren na afloop?

De dieren worden aan het einde van het experiment geëuthanaseerd.



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):

4 Drie V's

4.1 **Vervanging**

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Het is nog niet mogelijk om de beschermende werking van vaccins zonder gebruik van proefdieren te bepalen. Het afweersysteem is dermate ingewikkeld dat de beschermende werking van een vaccin tegen RVFV infectie nog niet in het laboratorium kan worden nagebootst. Vanwege hun grote immunologische overeenkomsten met de mens zijn apen het meest geschikt als proefdiermodel voor dit vaccinonderzoek. Dit maakt een optimale vertaling van bevindingen naar de mens mogelijk.

4.2 **Vermindering**

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

Alleen vaccinkandidaten die eerst in vee op veiligheid en werkzaamheid zijn getest zullen in apen worden getest op hun werkzaamheid. Het aantal benodigde dieren wordt per experiment bepaald aan de hand van statistische analyses. Waar mogelijk zullen meerdere vaccins tegelijk getest worden, waardoor maar één controlegroep nodig is. Er wordt gebruik gemaakt van een twee-fase benadering: als het vaccin geen immunoreactie opwekt, of als het nadelige invloed heeft op de gezondheid van de dieren, zal niet worden overgegaan op het infecteren met RVFV

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.

Penseelapen zijn zeer gevoelig voor RVFV-infectie, en het infectieverloop is in hoge mate vergelijkbaar met ernstige ziekte bij de mens. In deze apensoort is de kans het grootst dat eventuele nadelige effecten van de vaccins kunnen worden opgespoord. Omdat hun afweersysteem grote gelijkenis vertoont met dat van de mens, kan een gedegen voorspelling worden gedaan wat betreft werkzaamheid bij de mens.

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

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

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen

Form

Project proposal

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

1 General information

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

2 Categories

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

3 General description of the project

3.1 Background

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

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

Rift Valley fever virus (RVFV) is a mosquito-borne virus and the causative agent of Rift Valley fever (RVF). RVFV belongs to the Order Bunyvirales (genus Phlebovirus, family Phenuiviridae). Its genome is composed of 3 negative-sense RNA segments, referred to as large (L), medium (M), and small (S). The L segment encodes for the viral RNA polymerase (L protein). The M segment encodes the structural glycoproteins Gn and Gc, the non-structural protein NSm, and a large 78-kDa glycoprotein (LGp). The small segment encodes for the nucleocapsid protein (N), and the interferon antagonist

NSs, which is a major determinant of virulence (6).

RVFV is a zoonotic disease affecting wild and domesticated ruminants, and humans. In ruminants and humans, RVFV causes markedly different disease syndromes, reflecting the differences in immune system and physiology between the target species.

In ruminants, the disease is characterized by neonatal mortality and an increased incidence of abortions and fetal malformations. Sheep are the animal species that are most susceptible to severe disease. Infection of adult sheep usually results in about 20% mortality, but the mortality rate in newborns can reach 100%. An important feature of RVF outbreaks are the so-called "abortion storms" in which almost all pregnant ewes abort. Clinical symptoms in other ruminants (goats, cattle) are usually less severe, although abortions and death also occurs in herds of these animals. The most important clinical symptoms in adult animals are **fever, drop in milk production, respiratory disease, diarrhea and anorexia.**

RVFV is able to cause disease in humans and can have serious consequences. Humans can be infected via mosquito bites, but human cases can also be attributed to contact with tissues and blood during slaughtering of RVFV-infected animals, or to handling of aborted fetuses. **Human infection usually manifests as a transient, flu-like febrile illness with symptoms including fever, severe headaches, muscle pains, nausea and general weakness. A common additional complication is temporary or permanent blindness as a result from retinal damage. A minority of patients (1-3%), develop severe RVF disease, exhibiting early symptoms of acute hepatitis with associated jaundice, renal failure, encephalitis, and hemorrhagic complications. The fatality rate in this group can be as high as 50% (2,6,16). In contrast to the disease in ruminants, abortions are not a common RVFV disease symptom in humans.**

RVFV is endemic to Africa, the Arabian Peninsula, and several islands located off the coast of Southern Africa, including Madagascar. The largest epidemics generally occur in East-Africa (8,13). **Eradication of RVFV is difficult because the virus circulates between wild- and domesticated ruminants,** and is transmitted by several common species of mosquitos, including *Aedes* and *Culex* mosquito species (9). Animal movements, legal or illegal, strongly contribute to viral spread, and there is serious concern among both veterinary authorities and human health authorities that the virus via these routes will reach other geographic regions, including Europe, where vectors are abundantly present (3).

Experimental infection of the common European mosquito *Culex pipiens* (in Dutch the 'gewone steekmug'), but also the invasive *Aedes albopictus* ('Tijgermug') confirmed their competence to transmit RVFV (1). Thus, there is an increasing urgency that effective and safe RVFV vaccines become available to prevent or control potential future outbreaks worldwide, in both animals and humans.

Rift Valley Fever virus vaccines and vaccine development

At present, there are three licensed RVFV vaccines **only for use in animals.** One inactivated-virus vaccine, and two vaccines based on live-attenuated viruses (LAV), are currently being used in Africa to vaccinate livestock. The inactivated-virus vaccine can be applied safely during all life-stages, including pregnancy, but requires repeated vaccinations for optimal efficacy, which makes it unsuitable for controlling outbreak situations. One LAV-vaccine is based on the RVFV Smithburn strain, which contains attenuating mutations across its genome, and another live-attenuated vaccine is based on the Clone 13 RVFV virus, which lacks 70% of the NSs gene (the most important virulence factor of the virus). Although both vaccines are very effective, and are being used to control RVF outbreaks, both cannot be used safely in pregnant animals, due to residual pathogenicity and their potential to induce abortions (5). During an outbreak of RVF, it is logistically impossible to vaccinate all RVFV-susceptible animals in a very short time-period, and thereby also fully protect humans against RVFV infection. In this context, it is important to realize that not only farm animals play a role in the transmission, but also wild animals such as deer, buffalos, and possibly also rodents are reservoirs for RVFV.

The zoonotic RVFV is recognized as an important pathogen, both by the world organization for animal health (OIE), as well as the World Health Organization (WHO).

Importantly, RVF is one of the diseases that are prioritized by the WHO on their R&D blueprint (15). The WHO R&D Blueprint focuses on severe emerging diseases with potential to generate a public health emergency, and for which insufficient, or no preventive (vaccines) and curative solutions (antiviral compounds) exist (See Executive Summary attached to this paragraph).

In addition, zoonotic infections, like RVF, are likely candidates for a One Health approach to disease control:

- 1 **'One Health** recognizes that the health of people is connected to the health of animals and the environment. The goal of One Health is to encourage the collaborative efforts of multiple disciplines-working locally, nationally, and globally-to achieve the **best health for people, animals, and our environment'** (<https://www.cdc.gov/onehealth/index.html>)

Future 'One Health-based' RVFV vaccines should be able to protect both animals as well as humans against infection. The vaccines that will be evaluated in this project are developed in the framework of partnerships between veterinary industry and (inter)national health organizations, or publicly-funded research collaborations. The nature of the vaccines can vary from protein-based vaccines, DNA/RNA vaccines, to novel live-attenuated vaccines.

Inherent to the broad spectrum of protection, vaccine efficacy of One Health-based vaccines need to be evaluated both in models that represent disease in livestock animals, and in animal models that best mimic human infection.

Nonhuman primate models for RVFV vaccine development

For the veterinary use of such RVF vaccines, vaccine efficacy is commonly evaluated in ruminant models for natural RVFV infection, like sheep, goats and cattle (12). However, for the efficacy evaluation of novel RVF vaccines intended for use in humans, **non-human primates (NHP) are the preferred species because they are the species that most closely reproduces disease symptoms observed in humans and have an immune system that is comparable to that of humans.**

Several nonhuman primate infection models have been evaluated to assess the human RVFV vaccines (12). Rhesus macaques (*Macaca mulatta*) and cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) can be infected with RVFV and develop viremia after experimental infection, but the disease pattern observed in these animals differs from that in humans with severe disease. In addition, disease is only seen in a minority (20%) of the infected macaques (7,10,11,12,14). Therefore, **the macaque infection model is not considered an optimal RVFV disease model (17).**

More recently, African green monkeys (AGM; *Chlorocebus aethiops*), and common marmosets (*Callithrix jacchus*) were used to develop an animal model for human RVF (4,14). In both species, 100% of the animals became infected and developed fever with a biphasic pattern that is also found in humans. They also developed clinical illness with clear signs of encephalitis.

Additionally, marmosets were more susceptible to infection at lower doses than AGM (4,14). Equally, marmosets showed higher morbidity, mortality, and viremia, and displayed marked aberrations in hematological and chemistry values. These animals exhibited acute-onset hepatitis, delayed-onset encephalitis, and hemorrhagic disease, which are dominant features of severe human RVF (14). Together with an immune system and physiology that are highly similar to that of humans, this makes **marmosets the most optimal animal model to study human-like pathogenicity and immunology and development of human RVF vaccines. In addition, this makes marmosets the best model to study absence of residual pathogenicity of human vaccines.**

Other highly susceptible animal species, like sheep, show a disease pattern, like neonatal mortality and increased incidence of abortions and fetal malformations, that is much unlike that seen in humans, while macaques show disease symptoms in a minority of animal.

In sum, the common marmoset is chosen as the best animal model in this project because it represents a NHP model that is most sensitive to RVFV infection, that best mimics the severe manifestations of human RVF, and that can be utilized for the evaluation of potential therapeutics and vaccines.

References:

1. Brustolin, M., Talavera, S., Nunez, A., Santamaria, C., Rivas, R., Pujol, N., et al. (2017). Rift Valley fever virus and European mosquitoes: vector competence of *Culex pipiens* and *Stegomyia albopicta* (= *Aedes albopictus*). *Medical and Veterinary Entomology*, 356, 1422.
2. CDC. (2013). *Rift Valley Fever (RVF)* (<https://www.cdc.gov/vhf/rvf/RVF-FactSheet.pdf>).
3. Chevalier, V. (2013). Relevance of Rift Valley fever to public health in the European Union. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(8), 705-708.
4. Hartman, A. L., Powell, D. S., Bethel, L. M., Caroline, A. L., Schmid, R. J., Oury, T., & Reed, D. S. (2014). Aerosolized Rift Valley Fever Virus Causes Fatal Encephalitis in African Green mMonkeys and Common Marmosets. *Journal of Virology*, 88(4), 2235–2245.
5. Makoschey, B., van Kilsdonk, E., Hubers, W. R., Vrijenhoek, M. P., Smit, M., Wichgers Schreur, P. J., et al. (2016). Rift Valley Fever Vaccine Virus Clone 13 Is Able to Cross the Ovine Placental Barrier Associated with Foetal Infections, Malformations, and Stillbirths. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(3), e0004550.
6. Mansfield, K. L., Banyard, A. C., McElhinney, L., Johnson, N., Horton, D. L., Hernández-Triana, L. M., & Fooks, A. R. (2015). Rift Valley fever virus: A review of diagnosis and vaccination, and implications for emergence in Europe. *Vaccine*, 33(42), 5520–5531.
7. Morrill, J. C., Jennings, G. B., Johnson, A. J., Cosgriff, T. M., Gibbs, P. H., & Peters, C. J. (1990). Pathogenesis of Rift Valley fever in rhesus monkeys: role of interferon response. *Archives of Virology*, 110(3-4), 195–212.
8. Nanyingi, M. O., Munyua, P., Kiama, S. G., Muchemi, G. M., Thumbi, S. M., Bitek, A. O., et al. (2015). A systematic review of Rift Valley Fever epidemiology 1931–2014. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5, 28024.
9. Pepin, M., Bouloy, M., Bird, B. H., Kemp, A., & Paweska, J. (2010). Rift Valley fever virus (Bunyaviridae: Phlebovirus): an update on pathogenesis, molecular epidemiology, vectors, diagnostics and prevention. *Veterinary Research*, 41(6), 61.
10. Peters, C.J., Jones, D., Trotter, R., Donaldson, J., White, J., Stephen, E., and Slone, T.W. (1988). Experimental Rift Valley fever in rhesus macaques. *Archives of Virology*, 99(1-2), 31-44.
11. Peters, C.J., & Linthicum, K.J. (1994). Rift Valley fever, p125–138. In: Beran, G.W., Steele, J.H (ed), Handbook of zoonoses, section B. Viral, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL
12. Ross, T. M., Bhardwaj, N., Bissel, S. J., Hartman, A. L., & Smith, D. R. (2012). Animal models of Rift Valley fever virus infection. *Virus Research*, 163, 417-423.
13. Samy, A. M., Peterson, A. T., & Hall, M. (2017). Phylogeography of Rift Valley Fever Virus in Africa and the Arabian Peninsula. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(1), e0005226.
14. Smith, D. R., Bird, B. H., Lewis, B., Johnston, S. C., McCarthy, S., Keeney, A., et al. (2012). Development of a Novel Non-human Primate Model for Rift Valley Fever. *Journal of Virology*, 86(4), 2109–2120.
15. WHO, P. (2017). WHO Research and Development Blueprint (<http://www.who.int/blueprint/what/research-development/2017-Prioritization-Long->

Report.pdf?ua=1).

16. WHO. (2017). Rift Valley Fever Factsheet (www.who.int/mediacentre/factsheets/fs207/en/).
17. Wonderlich, E. R., Caroline, A. L., McMillen, C. M., Walters, A. W., Reed, D. S., Barratt-Boyes, S. M., & Hartman, A. L. (2018). Peripheral Blood Biomarkers of Disease Outcome in a Monkey Model of Rift Valley Fever Encephalitis . *Journal of Virology*, 92(3), e01662–17.



Executive summary

On 24-25 January 2017, the World Health Organization held an informal consultation in Geneva, Switzerland, to review the list of priority diseases for the WHO R&D Blueprint. The R&D Blueprint focuses on severe emerging diseases with potential to generate a public health emergency, and for which insufficient or no preventive and curative solutions exist. The original list of diseases that most readily meet these criteria and for which additional research and development is urgently required was agreed at an [international consultation](#) held in November 2015.

The January 2017 meeting brought together virologists, bacteriologists, vaccinologists, public and animal health professionals as well as infectious disease clinicians to review the list of priority diseases. These experts made use of a tailored prioritization methodology developed by WHO and validated at an informal consultation in [November 2016](#). The methodology uses the Delphi technique, questionnaires, multi-criteria decision analysis, and expert review to identify relevant diseases.

The 2017 annual review determined there was an urgent need for research and development for:¹

- Arenaviral hemorrhagic fevers (including Lassa Fever)
- Crimean Congo Haemorrhagic Fever (CCHF)
- Filoviral diseases (including Ebola and Marburg)
- Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)
- Other highly pathogenic coronaviral diseases (such as Severe Acute Respiratory Syndrome, (SARS))
- Nipah and related henipaviral diseases
- [Rift Valley Fever \(RVF\)](#)
- Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS)
- Zika

In addition, any disease identified using the R&D Blueprints decision instrument for new diseases.

Chikungunya virus was discussed during the meeting and a number of experts stressed the risks it poses. Along with a number of other pathogens, there was agreement that Chikungunya Virus continues to warrant further research and development.

Other pathogens were considered during the review and a wide range of additional relevant research and development initiatives encouraged. In particular, participants noted the importance of cross-cutting research and development which would help to address a range of different pathogens or diseases at the same time.

The meeting also stressed the importance of continuing research and development on diseases other than those on the priority list. Further research and development is needed on a wide range of diseases. Where there are already substantive efforts to develop

¹ The order of diseases on this list does not denote any ranking of priority.



relevant medical measures any necessary further actions for such diseases could usefully be coordinated through the disease-specific initiatives (such as existing major disease control initiatives, extensive R&D pipelines, funding streams, or established regulatory pathways for improved interventions).

The value of a One Health approach was recognized, as well as the importance of working more closely with animal health to identify priority diseases and develop relevant countermeasures. The meeting also noted that whilst anti-microbial resistance is an issue being dealt with by thematic initiatives at the international level, specific diseases with resistance might be considered for prioritization in the future.

Feedback from the meeting on the methodology used and opportunities for further strengthening this process will be fed into its next review to be conducted within two years.



Annex B: The 2017 Prioritization Committee

Dr. Celia ALPUCHE
Prof. Lucille BLUMBERG
Dr. David BRETT-MAJOR
Dr. Miles CAROLL
Dr. Inger DAMON
Dr. Peter DASZAK
Dr. Xavier DE LAMBALLERIE
Dr. Mourya DEVENDRA
Prof. Christian DROSTEN
Dr. Delia ENRIA
Prof. Sahr GEVAO
Prof. Stephan GUENTHER
Prof. Peter HORBY
Prof. Roger HEWSON
Dr. Nadia KHELEF
Prof. Gary KOBINGER
Dr. Linda LAMBERT
Dr. Dieudonne NKOGHE
Dr. George WARIMWE
Dr. Mark WOOLHOUSE
Dr. YOUNGMEE Jee
Dr. Stefano Messori
Dr. Cathy ROTH
Dr. Heinz FELDMANN

Observers

Dr. Hinta Meijerink
Dr. Ben MCCORMICK
Dr. Stacey KNOBLER

3.2 Purpose

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

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

The aim of this research project is:

- to test the immunogenicity, efficacy, and absence of pathogenicity of novel RVFV vaccines that are developed for use in humans in the marmoset model for human RVFV infection

The institute has extensive and long-standing expertise in conducting studies using nonhuman primates. Since 2012, researchers at the institute have been working on mosquito-transmitted virus infections in macaques and marmosets, like West Nile virus, Zika virus, and dengue virus. The institute has the appropriate facilities and experience to work with pathogenic viruses at DM-III and ML-III biosafety conditions. In addition, they have the appropriate virological and immunological assays for assessment of the efficacy against RVFV, and to determine absence of pathogenicity. The experience with mosquito-borne viruses guarantees that these animal studies will be adequately performed.

3.3 Relevance

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

As RVFV is a zoonotic virus, outbreaks of RVF in animals often coincide with human infections and fatalities. In 1993, for instance, southern Egypt suffered an outbreak in which 600–1500 human infections were reported (2). Since 2000, severe forms of human RVF have been reported in Saudi-Arabia and Yemen in 2000 (1603 reported cases/208 deaths), and in various African countries between 2003 and 2016 (3038 reported cases/749 deaths) (4).

In past outbreaks of RVF, mosquito-borne transmissions to humans were associated with mosquito species that normally do not feed on humans. However, during the major outbreak in Egypt 1977-78, mosquitoes that mostly feed on humans (*Culex pipiens*) were associated with transmission, and in this outbreak ~ 200,000 people were infected (7). Since anthropophilic mosquitoes (mosquitoes that prefer to feed on humans) such as *Culex pipiens*, but also *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, can efficiently transmit RVFV, it is very well conceivable that in future outbreaks, RVFV can be directly transmitted between humans through these mosquito species. There are several examples of which transmission via the mosquito from human to human was not (sufficiently) recognized (Zika virus, Chikungunya, West Nile). The spread of exotic viruses directly from human-to-human is therefore often underestimated, which has become painfully clear due to the recent outbreak of Zika virus.

International health authorities have recognized this potential threat to human health. **The WHO has put RVFV on the 2017 list of 13 priority pathogens based on the following prioritizing criteria (3):**

- **Human transmission**
 - Humans can become infected with RVFV through contact with blood, body fluids, or tissues of RVFV-infected animals, mainly livestock. Humans can also be infected with RVFV from bites of infected mosquitoes and, from other biting insects that have the virus on their mouthparts. Spread from person to person has not been documented.
- **Medical countermeasures**
 - No vaccines are currently available for human RVF vaccination, and no effective treatments for RVF exist
- **Severity or case fatality rate**
 - One to three percent of infected humans develop serious RVF disease. The case fatality rate within that group of patients can be as high as 50%
- **The human/animal interface**
 - RVF is a zoonotic disease and is transmitted by multiple insect species.
- **The public health context of the affected area**
 - Because the symptoms of Rift Valley fever are variable and non-specific, clinical diagnosis is often difficult, especially early in the course of the disease. Additionally, RVF is difficult to distinguish from other viral hemorrhagic fevers as well as many other diseases that cause fever, including malaria, shigellosis, typhoid fever, and yellow fever. Definitive diagnosis of RVF requires testing in reference laboratories, and involves hazardous samples that must be handled with extreme care. Such laboratories are not widely found in the Sub-Saharan Africa where RVF is endemic.

- **Potential societal impacts**
 - Outbreaks of RVF have a dramatic impact on producers and livestock industries, affecting public and animal health, food security and the livelihood of the pastoralist communities. RVF also has an impact on international trade and other agro-industries. The risk of introducing RVF into disease-free countries (Europe) via the importation of an infected animal, infected travelers, or mosquitos is real, and can cause serious human health problems. Additionally, the consequent restriction of access to export markets may induce dramatic economic consequences for national and local economies (5).
- **Evolutionary potential**
 - Since its discovery in the 1930-ies, RVFV has expanded its geographic range with increasing human disease, caused by several viral lineages. The evolution of RVFV through mutation and re-assortment and the accumulation of these changes over several decades may have changed the disease epidemiology, increasing its geographic distribution and severity in human populations (6).

For agents on this list there is an urgent need for research and development of vaccines and antiviral treatments. For the listed pathogens, the WHO also recognized the value of a One Health approach, i.e. the concept that recognizes that the health of people is connected to the health of animals and the environment. The WHO stresses the importance of working more closely with animal health to identify priority diseases and develop relevant countermeasures. The World Organization for Animal Health (OIE) also endorses the One Health concept (1), and specifically mentions RVF as one of the diseases of animal origin that can be transmitted to humans, and poses a worldwide risk to human health.

The goal of the research described in this project is to evaluate the efficacy of such 'One Health RVFV vaccines' that are developed to protect both animals and humans against RVFV infections.

The project fits within the above presented WHO strategy, and the proposal will contribute significantly to the One Health approach put forward by WHO and OIE.

References

1. OIE: One Health (<http://www.oie.int/en/for-the-media/onehealth>)
2. Samy, A. M., Peterson, A. T., & Hall, M. (2017). Phylogeography of Rift Valley Fever Virus in Africa and the Arabian Peninsula. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(1), e0005226.
3. WHO. (2017a). Methodology for Prioritizing Severe Emerging Diseases for Research and Development. (<http://www.who.int/blueprint/priority-diseases/RDBlueprint-PrioritizationTool.pdf>).
4. WHO. (2017b). Rift Valley fever Factsheet (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs207/en/>).
5. Peyre, M. *et al.* (2014). A Systematic Scoping Study of the Socio-Economic Impact of Rift Valley Fever: Research Gaps and Needs. *Zoonoses and Public Health*, 62(5), 309–325.
6. Baba, M., Masiga, D. K., Sang, R., & Villinger, J. (2016). Has Rift Valley fever virus evolved with increasing severity in human populations in East Africa? *Emerging Microbes and Infections*, 5(6), e58–10.
7. Kortekaas, J. (2014). One Health approach to Rift Valley fever vaccine development. *Antiviral Research*, 106(C), 24–32.

3.4 Research strategy

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

In this project, we will assess **the immunogenicity, protective capacity and absence of pathogenicity of novel RVFV One Health-based vaccines** using the marmoset vaccination-challenge model for human RVF.

The evaluation of the protective capacity of a vaccine against RVFV infection requires that the virus inoculum stock is first tested for its infectivity in marmosets prior to the vaccine efficacy testing. Virus infection can be performed by inoculating the animals via various routes; e.g. intradermal, subcutaneous, intravenous, or as an aerosol to the respiratory tract, using different doses, and/or by infection using RVFV virus-infected mosquitoes. Then, the onset of viremia, its duration, and the

total virus production in blood are determined. In parallel with the infectivity determination, the disease development and disease symptoms found after experimental infection of marmosets with wild-type RVFV will be documented. A disease symptoms scoring list will be developed that will provide a reference framework for the pathogenicity analysis of, in particular, live-attenuated virus (LAV) vaccines. Absence or presence of residual pathogenicity of LAV-based RVFV vaccines will be assessed by immunizing the animals, followed by analysis of blood samples for presence/absence of vaccine virus, and the monitoring of disease symptoms.

Vaccine efficacy of novel vaccines will be monitored by immunization of the animals, followed by experimental infection of the animals with RVFV. During the immunization, the development of vaccine-induced immune responses will be measured. After infection, the presence/absence of viremia will be monitored as indicator of vaccine efficacy. Tissue samples will be collected and analyzed for absence or presence of vaccine-induced pathology.

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

1. Experimental infection of common marmosets with RVFV
2. Pathogenicity testing in marmosets of novel RVFV vaccines
3. Immunogenicity and efficacy evaluation of novel RVFV vaccines that are developed for use in humans using the marmoset vaccination-challenge model

Ad.1. The evaluation of the efficacy of a vaccine to protect against infection requires that the challenge inoculum is tested for its infectivity in marmosets, and that the course of viremia, in the nonhuman primate species used, is documented prior to efficacy testing. This is described in Appendix 1. Also, the infection study will be used to develop a disease symptoms scoring list that will provide a reference framework for the pathogenicity analysis of, in particular, live-attenuated virus (LAV) vaccines.

Ad.2. To evaluate the absence of residual pathogenicity of novel RVFV vaccines, particularly those based on LAV, the animals will be monitored for adverse effects of the vaccine after administration (Appendix 2).

Ad.3. For vaccine immunogenicity and efficacy testing, marmosets will be immunized, and monitored for the development of adaptive immune responses. Next, when adequate immune responses are induced, the vaccine efficacy against infection will be tested by experimental infection with RVFV. A group of non-vaccinated animals will be included as infection controls. (Appendix 2)

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

The infection studies of common marmosets with wild-type RVFV (Appendix 1) have a dual purpose. In order to properly address the protective capacity of novel RVFV vaccines developed for use in humans it is essential to have a well-characterized viral inoculum, as absence or reduction of virus replication after experimental vaccination is the main read-out parameter for vaccine efficacy (Appendix 2).

To evaluate the absence of residual pathogenicity in LAV-based vaccines, the experimental infection of common marmosets will be used to generate a list of clinical symptoms and changes in virological parameters related to RVF of marmosets. The absence of clinical symptoms in animals vaccinated with the LAV-based RVFV vaccines will be an important read-out parameter on which to conclude that vaccines lack residual pathogenicity (1).

RVFV vaccines that can be used to protect humans against Rift Valley fever are not yet available. Because RVFV is an important zoonotic disease, infecting both wild and domesticated ruminants, and humans, novel vaccines will be developed within the concept of One Health, and should thus be efficacious in host animals as well as in humans. Within this project we will investigate the protective efficacy and absence of pathogenicity of the vaccines in the marmoset model for human RVF. Importantly, such vaccines will only be tested in the marmoset model, if they have been shown safe

and effective in animal models for RVF in livestock, like sheep that are the most susceptible target animals of RVFV. At the end of the immunization phase, the decision will be made whether to proceed with the experimental infection of the animals with the viral inoculum. This go-no go assessment will be based on vaccine-induced immune responses and the absence of adverse effect of the novel vaccines.

1. WHO. (2003). *Meeting Report WHO informal consultation on characterization and quality aspect of vaccines based on live viral vectors* (pp. 1–27).

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

Serial number	Type of animal procedure
1	Infection of common marmosets with RVFV
2	Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Appendix

Description animal procedures

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

1 General

information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 50200
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|---|
| 1 | Infection of common marmosets with RVFV |

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

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

In order to evaluate the immunogenicity, absence of pathogenicity, and the efficacy of RVF vaccines that are developed for use in humans, it is necessary to have a well-defined RVFV infection model that best mimics human RVF disease. Virus stocks need to be thoroughly characterized for their viral kinetic profile in marmosets before they can be applied in RVFV vaccine evaluation studies. Also, for the determination of residual pathogenicity, it is necessary to have a comprehensive list of the clinical symptoms caused by RVFV infection in marmosets, in order to assess if any deviations in the clinical picture, general behavior etc., detected in vaccinated animals, are caused by the vaccine or vaccine virus.

In general, the study set-up is as follows: a group of animals will be infected and monitored for clinical symptoms, body temperature, body weight, changes in blood parameters and chemistry, and general behavior. Blood samples will be collected at regular time points to determine if the animals have become infected and developed viremia. Before infection, a telemetric device will be implanted in the abdominal cavity of the animals that enables the continuous monitoring of body temperature and activity.

The primary outcome parameter is:

1. Viremia: start of virus replication, peak virus load, total virus production

Secondary outcome parameters are:

1. Presence/absence of disease symptoms, including changes in body temperature
2. Changes in hematological and chemistry values

3. Changes in activity
4. Pathological changes

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

At least four weeks before infection, a telemetric device will be implanted in the abdominal cavity of the animals that will allow continuous monitoring of body temperature and activity. Then, the animals will be infected by intravenous, intradermal, or subcutaneous inoculation, or may be infected via aerosol. Experimental infection using different numbers of RVFV-infected mosquitoes may also be explored as a natural way of human RVFV infection. At the same time, blood is collected for a zero-value determination. The animals will be monitored daily during the study period for general behavior, appetite, faeces, etc., and at each time-point when the animals are sedated, the body weights will be measured. After infection of the animals, blood will be collected at regular time points for a period of maximally 42 days to monitor the progress of the virus infection and to control for changes in clinical chemistry and hematology parameters.

At the end of the study, the animals will be humanely euthanized and necropsy will be performed for the collection of tissue samples for histopathological and virological tests. The latter will be done to investigate tissue and organ distribution of the virus, to identify potential viral reservoirs, and to perform (histo)-pathological analyses.

The details of each study, regarding the route of infection, dose used, etc., will be submitted for approval to the AWB.

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

Presently, limited literature data are available regarding infection of marmosets with RVFV (1,2). Therefore, initially, the group size is based on experience in other mosquito-borne flavivirus infection models, and on the literature data. The expectation is that with this number of animals (section B) an adequate assessment can be made regarding the reproducibility of infection, and on the variation in viremia. Also, the number of animals used will allow us to set up a clinical scoring list that can be used in the vaccine efficacy studies. On the basis of the data from the experimental infections, a power calculation can be made about the number of animals needed for subsequent virus titration studies, as well as the vaccine efficacy studies.

B. The animals

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

The experiments will be performed with common marmosets (*Callithrix jacchus*), $n = 24$. All marmosets are purpose bred at the institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier in compliance with EU legislation. Both adult male and female animals will be used.

The use of non-human primates (NHP), like common marmosets, for the RVFV vaccine studies is essential:

the evaluation of new vaccines for use in humans requires a test animal model that can be easily infected with RVFV, that shows an infection rate of 100%, and that has an immune system that is comparable to that of humans.

Residual pathogenicity has been observed in current, commercially available live-attenuated virus (LAV) vaccines intended for veterinary use. In order to evaluate the absence of residual pathogenicity of vaccines or vaccine viruses for humans, an animal model is needed that is highly sensitive to RVFV infection, and that faithfully mimics the development of viremia seen in infected humans, and that, all infected animals, shows clinical symptoms and pathology similar to severe disease symptoms seen in human RVF. Several nonhuman primate species are currently available to study various aspects of RVF disease. Macaques show clear clinical symptoms in only 20% of infected animals and are therefore less suited for the evaluation of residual pathogenicity in novel RVFV vaccines for use in humans.

In contrast, AGM and common marmosets do show signs of severe RVF disease in 100% of infected

animals. AGM are not available at the institute, and marmosets have the additional benefit that they are highly susceptible to infection with low dose of virus. In addition, the use of macaques would necessitate larger numbers of animals to obtain statistical significance, and the amount of discomfort caused by RVF in individual animals showing signs of disease will not significantly differ between macaques and marmosets.

Of all NHP infection models used in RVFV research, common marmosets best combine high sensitivity for infection, which is necessary for vaccine efficacy testing, and high sensitivity towards development of RVF disease symptoms, which is an essential requirement for the evaluation of absence of residual pathogenicity (1-4).

Based on these features, marmosets are the nonhuman primate species that is selected for this research project.

Assuming 4 animals per virus inoculum, and two doses tested via a particular route of administration, including a follow-up study in 4 animals, 12 animals per inoculum will be needed. We calculate that during the project two different inocula will be evaluated. Thus, over the study period of 5 years, in total 24 animals are the maximum needed for setting up the RVFV infection model, to determine the infectivity of new virus stocks, and to set up a clinical scoring list that can be used in the vaccine efficacy studies.

1. Hartman, A. L., Powell, D. S., Bethel, L. M., Caroline, A. L., Schmid, R. J., Oury, T., & Reed, D. S. (2014). Aerosolized Rift Valley Fever Virus Causes Fatal Encephalitis in African Green Monkeys and Common Marmosets. *Journal of Virology*, 88(4), 2235–2245.
2. Smith, D. R., Bird, B. H., Lewis, B., Johnston, S. C., McCarthy, S., Keeney, A., et al. (2012). Development of a Novel Non-human Primate Model for Rift Valley Fever. *Journal of Virology*, 86(4), 2109–2120.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Animal models of viral hemorrhagic fever. *Antiviral Research*, 112(C), 59–79.
4. Wonderlich, E. R., Caroline, A. L., McMillen, C. M., Walters, A. W., Reed, D. S., Barratt-Boyes, S. M., & Hartman, A. L. (2018). Peripheral Blood Biomarkers of Disease Outcome in a Monkey Model of Rift Valley Fever Encephalitis. *Journal of Virology*, 92(3), e01662–17.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

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

X No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

Several animal species, primarily rodents and nonhuman primates have been used to study RVFV virus infection of humans. Of these different species, NHPs are the preferred species, because their immune system most closely resembles that of humans. This is important, both for vaccine efficacy evaluation as well as for the infection of the host with RVFV, since these are both strongly affected by the reaction of the innate and adaptive immune system of the host. The proper evaluation of novel vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here. In addition, the species of choice in these studies, the common marmoset, most faithfully mimics human RVF in viremia, but also shows RVF clinical symptoms and pathology as are also seen in severe human RVF.

Reduction

Limited data are available for RVFV infection in marmosets, and the results of the proposed infection studies will provide the parameters for group-size calculations for subsequent studies. Based on the extensive experience with other viral infection models within the institute where this research will be performed, plus the limited data available from literature, it is expected that four animals per inoculum dose will be sufficient. The animals will also be closely monitored for clinical signs of RVF in order to set up a clinical scoring list for future vaccine efficacy studies. Therefore, no additional animals will be needed for the preparation of the clinical scoring list. On the basis of the outcome of the first study the number of animals needed in follow up experiments can be calculated and less animals may be needed. Only the minimum number of animals needed will be used.

Refinement

The use of telemetric devices to measure body temperature and activity makes it possible to real-time monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action at the earliest time-point if any of these parameters is influenced by the RVFV infection, even before detected by visual inspection. Thus, adequate action can be taken before an animal reaches its humane endpoint. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. The use of a smaller, novel telemetric device (Anipill 0.1C, DSI™; 17mm x 8 mm; 1.7 grams) than that has been used in previous marmoset studies will cause less discomfort to the animals. The animals are trained to cooperate as much as possible with invasive biotechnical actions, such as giving anesthesia or virus infection. All observations will be documented and added to the clinical scoring form which will be set up as part of the experimental infection studies. A highly sensitive real-time PCR will allow a very accurate determination of the virus load in small blood volumes collected from infected marmosets. Marmosets will be trained to stand on a scale themselves, making it possible to determine changes in body weight without anesthesia. The body weight will then be determined twice a day.

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

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

During the studies animals will be observed daily by qualified animal caretakers, and changes in body temperature and activity are monitored continuously using telemetry. Should changes occur in the latter parameters, or in behavior, appetite or stool, they will be documented, and a veterinarian will be informed. Then, if necessary, measures will be taken.

All experimental procedures will be performed under sedation. Each time an animal is sedated, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. The institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behavior, appetite and stool are part of this database. This database facilitates early recognition of minor

changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relieve the pain, if necessary.

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

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable

Accommodation and care

F. Accommodation and care

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints

H. Pain and pain relief

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

For the placement of the telemetric device in the abdomen, the animals will be anesthetized. Subsequently they will receive analgesics for as long as necessary. In previous studies, it was observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature recording device, but have recovered very well within 1 week after the operation.

During the infection phase, the animals will be continuously monitored. Monitoring will be done by observation of the animals by the animal caretakers. As disease may develop rapidly, observation will be done minimally 3 times per day. Also, continuous telemetric monitoring of the changes in body temperature, as well as activity, will allow the early detection of signs of disease. Initially, monitoring of disease symptoms will be based on a clinical scoring list derived from published data. Listed are changes in body temperature (> 5%), changes in body weight (>20%), changes in activity and behavior, as well as changes in appearance (fur) due to dehydration and anorexia. Data obtained from the first infection studies may allow us to expand the scoring list for future use. This will then be communicated with the AWB. In case of symptoms caused by RVFV infection, this can result in distress. To avoid serious discomfort, the animals will then be euthanized.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Discomfort because of insertion of the telemetric device.
2. Stress because of recovery from sedation
3. Discomfort due to RVF disease symptoms

Explain why these effects may emerge.

1. The surgery needed for insertion of telemetric device will cause pain and some local inflammation
2. Animals will be repeatedly sedated for virus infection and blood sampling. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation and hypothermia and disorientation
3. RVFV infection of marmosets can cause disease symptoms

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

1. Surgery will be done under anesthesia and after surgery analgesics will be applied
2. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough
3. After infection, the animals are visually monitored minimally three times per day by animal caretakers, and are continuously monitored for changes in body temperature and activity using telemetry. If an animal shows clinical symptoms suggestive for RVF disease like changes in body temperature in combination with abnormal hematology parameters or behavior, the animals will be euthanized.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Animals are monitored daily by animal caretakers, and are continuously monitored for body temperature, and activity using a telemetric device. A clinical scorings list will be developed and used to assess if an animal shows clinical symptoms suggestive of RVF disease, like changes in body temperature in combination with abnormal biochemical parameters, or abnormal behavior. In such a case, the animals will be euthanized at the earliest time-point in order to avoid unnecessary suffering. Blood biochemical parameters that are influenced by RVFV in common marmosets, include levels of alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT) and blood urea nitrogen (BUN), indicators for liver function and kidney function, respectively. Animals may also show neurological signs, like instability and seizures, or show signs of anorexia and dehydration.

A minimal clinical scoring list based on published data will be used to assess RVF in the marmosets. The list includes decreased activity, changes in body temperature and body weight, and changes in blood hematological and biochemistry parameters. In case an animal shows an increase in ALP or ALT levels of > 200%, a loss of body weight of > 20%, or a change in body temperature of > 5%, this will be seen as indicator of severe RVF in marmosets. Then, a veterinarian will be consulted in order to assess if the animal has reached a humane end-point. If this is the case, the animal will be humanely euthanized at an earliest time point.

Indicate the likely incidence.

100%

K. Classification of severity of procedures

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

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

End of experiment

L. Method of killing

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

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

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

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

Yes

Description animal procedures

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

1 General

information

- 1.1 Provide the approval number of the 'Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority'. 50200
- 1.2 Provide the name of the licenced establishment. Biomedical Primate Research Centre
- 1.3 List the serial number and type of animal procedure.
- | Serial number | Type of animal procedure |
|---------------|---|
| 2 | Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets |

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

2 Description of animal procedures

A. Experimental approach and primary outcome parameters

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

We will use a general study protocol for the evaluation of RVFV vaccines in common marmosets. Before the start of the study a telemetric device is surgically placed in the abdominal cavity that will enable the continuous monitoring of body temperature and activity. Subsequently, the animals are immunized and monitored for 1) the development of vaccine-induced immune responses, and 2) possible adverse effects on behavior and health. All the vaccines that will be evaluated in this project have first been successfully evaluated for safety and efficacy in highly-sensitive target animals, like sheep. Therefore, they are expected to give no, or only very limited adverse effects in marmosets. In addition to the telemetric monitoring of body temperature and activity, the animals will be observed daily for changes in general behavior by animal caretakers, and at each sedation the animals will be visually inspected and the site of immunization will be checked for local reactions. Blood will be drawn to measure clinical chemistry and hematology parameters. Blood collection will be done before, between and after immunizations to measure induction of systemic immune responses. Depending on the specific objective of the vaccine analysis, the immunization may be followed by experimental infection with RVFV in order to evaluate the protective capacity of a vaccine. Then, a group of non-vaccinated animals will be included as infection controls. The infection will be performed as described in Appendix 1. If the primary objective of the study is to investigate absence of pathogenicity, or to evaluate immunogenicity, animals will not be experimentally-infected with RVFV.

The primary outcome parameters for vaccine evaluation are:

- Immunogenicity: induction of adaptive immune responses.
- Efficacy: capacity to protect against viral challenge will be established in terms of absence or

reduction of virus replication.

- Absence of clinical symptoms, absence of adverse effects of the vaccine on general behavior, absence of local reactions and changes in blood parameters.

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

A telemetric device is surgically placed in the abdominal cavity at least 4 weeks before the first immunization takes place. This time frame is necessary for full recovery of the animals from the surgery and to allow adequate body temperature and activity recording during a two to three-week period to establish normal values before immunizations start. Animals will receive one or more immunizations, with 2-6 weeks intervals, although occasionally a longer time frame may be needed between immunizations, when studies in rodent models or natural animal hosts, like sheep or goats, indicate the necessity for longer time-intervals. Immunizations will be done by various routes, like intradermal, intramuscular, subcutaneous, or intravenous injection.

At regular time intervals after every immunization, blood is collected for analysis. If live-attenuated viral vaccines are used, virus replication will also be analyzed as part of the evaluation. The total amount of blood will be less than 1% of the body weight per month and less than 0,7% of body weight per bleeding. This amount can only be exceeded if the specific study requirements leave no other options, specific permission is obtained from the AWB and the veterinarian is in agreement based on the health status of the animal. Immune responses measurable after the final immunization will be critical for the decision to continue with viral challenge. If these responses are inadequate then the study will be stopped and animals may be re-used in other non-RVFPV virus-related experiments, if allowed. In case of a vaccine immunogenicity study with no efficacy evaluation, animals will be euthanized at this time-point, in order to investigate for possible vaccine-induced pathologies, and, in case of live-attenuated vaccines, for residual vaccine virus in tissues and organs.

Experimental challenge of the animals will be done as described in Appendix 1. Clinical symptoms will be monitored daily during the infection phase. The continuous monitoring of body temperature and activity by using telemetric devices will allow us to quickly respond to early indications of RVFPV symptoms. Blood is taken to monitor changes in clinical chemistry and hematology parameters, leukocyte subsets and cytokine production. At the same time points the body weight is recorded. The animals will be monitored for a period of maximally 4 weeks for vaccine efficacy. Then, they are humanely euthanized and a full necropsy is performed in order to evaluate pathology and the detection of residual challenge virus. In case an animal should reach the humane endpoint during the study, it will be immediately humanely euthanized and a full necropsy will be performed. Also, tissues will be collected to determine virus replication in the different organs.

The details of each study, regarding the interval between the immunizations, the number and time points of sampling, the specific criteria to proceed with a viral challenge, the time interval between the last immunization and viral challenge will depend on the actual type of vaccine that is being tested and this will be submitted to the AWB.

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

The number of animals per group will be based on statistical power analysis appropriate for the primary outcome measure. There are two primary outcome measures:

1. vaccine immunogenicity defined as cellular or humoral immune responses, and
2. vaccine efficacy, with the fraction infected or a reduction in virus load as primary outcome measures.

Vaccine immunogenicity calculations take into account the number of animals required to detect

significant induction of immune responses compared to unvaccinated controls. The minimal detectable alternative is 1.8 and 1.3 x standard deviations for 6 and 10 animals (based on $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$ [power = 80%], Student t distribution), respectively.

For vaccine efficacy, calculations are performed to establish the number of animals required to detect vaccine efficacy, defined as: 1. a reduction in the number of infected animals (vaccine efficacy > 85% or 60% for 6 and 10 animals, respectively, analyzed by 2 x 2 contingency tables and Fisher's exact test), and 2. a reduction in serum virus load in the vaccine groups versus the challenge control group (log virus load is approximately normally distributed, statistical comparisons will be done by Student t-test). Like for the immunogenicity testing, the minimal detectable alternative is 1.8 and 1.3 x standard deviations for 6 and 10 animals (based on $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$ [power = 80%], Student t distribution), respectively.

Only the minimum number of animals per group needed, will be used. When historical data are available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1), usually fewer animals can be used in the non-vaccinated challenge control group than in the vaccine groups. For each individual study, the power analysis will be communicated with the AWB.

B. The animals

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

The experiments will be performed with common marmosets (*Callithrix jacchus*), maximally n = 110. All marmosets are purpose bred at the institute, or incidentally they will be obtained from a certified supplier in compliance with EU legislation. Both mature male and female animals can be used.

For **veterinary RVFV vaccine efficacy** and safety evaluation, **sheep are the preferred animal model** as they are most sensitive for RVFV infection. **Nonhuman primates (NHP) are the preferred species for the efficacy evaluation of novel human vaccines** because NHPs have an immune system and physiology that are highly similar to that of humans. In addition, absence of residual pathogenicity of human vaccines is also preferably studied in NHP. NHP show disease symptoms of RVF similar to those found in humans, while ruminants show disease symptoms, like neonatal mortality and increased incidence of abortions and fetal malformations, that are not found in humans.

Historically, rhesus macaques have been used to evaluate potential RVFV vaccines and therapeutics, but recently, a new model for RVF has been described in common marmosets. This model overcomes some of the limitations of the macaque model, as marmosets are more susceptible to low dose challenge with RVFV than rhesus macaques and experience higher rates of morbidity, mortality, and viremia and marked aberrations in hematological and chemistry values. Depending on the route of exposure, these animals exhibit acute-onset hepatitis, delayed-onset encephalitis, and hemorrhagic disease, which are dominant features of human RVF (1,2,3,5).

In the guidelines for nonclinical evaluation of vaccines (4), the WHO states that a product should be characterized in a species sensitive to the biological effects of the vaccine being studied. Ideally, the species chosen should be sensitive to the pathogenic organism, and the animal species used should develop an immune response to the vaccine antigen. Based on the above, the common marmoset is chosen as the animal species for the studies.

The number of animals requested for RVFV vaccine efficacy evaluation is based on the assumption that each study will contain two vaccine groups and 1 control group, with up to 10 animals per group. The group size will be determined per experiment, based on power calculations specific for the experiment. Variation in virus replication between animals has to be such that in a vaccine evaluation study significant protection against infection can be obtained with a limited number of animals per group. For a one dose challenge, usually n=6 per group suffices to reach statistical significance. Probably fewer animals may be needed in the non-vaccinated challenge control groups if results from infection studies (Appendix 1) are used.

In all, we anticipate performing a maximum of 3 studies over a 5-year period. Starting from maximally 10 animals per group with a maximum of 2 different vaccine candidates (or different combinations of routes of vaccination) + 1 control group per study (= 2 experimental groups + 1 control group, at n=10/group, with 3 studies, results in a maximum of 90 animals). Additionally, we anticipate to perform 2 vaccine immunogenicity studies over the study period. Archived data from non-infected marmosets will be used as negative control data. Maximally $2 \times 10 = 20$ animals will be used for immunogenicity analyses.

Over the study period of 5 years, in total 110 animals are needed for performing RVFV vaccine evaluation studies.

1. Hartman, A. L., Powell, D. S., Bethel, L. M., Caroline, A. L., Schmid, R. J., Oury, T., & Reed, D. S. (2014). Aerosolized Rift Valley Fever Virus Causes Fatal Encephalitis in African Green Monkeys and Common Marmosets. *Journal of Virology*, 88(4), 2235–2245.
2. Smith, D. R., Bird, B. H., Lewis, B., Johnston, S. C., McCarthy, S., Keeney, A., et al. (2012). Development of a Novel Non-human Primate Model for Rift Valley Fever. *Journal of Virology*, 86(4), 2109–2120.
3. Smith, D. R., Holbrook, M. R., & Gowen, B. B. (2014). Antiviral Research. *Antiviral Research*, 112(C), 59–79.
4. WHO. (2005). *Annex 1 WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines* (Vol. 927, pp. 32–63). WHO Technical Report Series.
5. Wonderlich, E. R., Caroline, A. L., McMillen, C. M., Walters, A. W., Reed, D. S., Barratt-Boyes, S. M., & Hartman, A. L. (2018). Peripheral Blood Biomarkers of Disease Outcome in a Monkey Model of Rift Valley Fever Encephalitis. *Journal of Virology*, 92(3), e01662–17.

C. Re-use

Will the animals be re-used?

No, continue with question D.

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

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

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

X No

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

D. Replacement, reduction, refinement

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

Replacement

Nonhuman primates have been used to evaluate RVF vaccines, because NHPs have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine efficacy evaluation, as well as for the interaction of the host with RVFV, since these are affected both by the physiology and by the reaction of the innate and adaptive immune system. The proper evaluation of novel vaccines requires adequate infection models in NHP,

which is the purpose of the studies proposed here. Ideally, the species chosen should be sensitive to the pathogenic organism, and the animal species used should develop an immune response to the vaccine antigen. The species of choice in the proposed studies, the common marmoset, not only faithfully mimics human RVF in viremia, but also shows RVF clinical symptoms and pathology as are also seen in severe human RVF. Based on the above, the common marmoset is chosen as the animal species for our studies.

Reduction

The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant level of protection or reduction in virus load in the circulation between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Data will become available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1). When using these data usually fewer animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups. Furthermore, we aim to evaluate multiple vaccine candidates in a single experiment, so that a single challenge control group can be used.

Refinement

The animals are trained to cooperate as much as possible with the invasive biotechnical handlings, such as receiving a sedation or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood are reduced to a minimum. A highly sensitive real-time PCR will allow a very accurate determination of the virus load in small blood volumes collected from infected marmosets.

The use of telemetric devices to measure body temperature and activity makes it possible to real-time monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action at the earliest time-point if any of these parameters is influenced by the RVFV infection, even before detected by visual inspection. Thus, adequate action can be taken before an animal reaches its humane endpoint. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. The use of a smaller, novel telemetric device (Anipill 0.1C, DSI™; 17mm x 8 mm; 1.7 grams) than that has been used in previous marmoset studies will cause less discomfort to the animals. The use of a clinical scorings list, in combination with the use of temperature/activity telemetric devices makes it possible to continuously monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action as soon as possible if any of these parameters is influenced by the RVFV vaccination, even before detected by visual inspection. Marmosets will be trained to stand on a scale themselves, making it possible to determine changes in body weight without anesthesia. The body weight will then be determined twice a day.

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

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

All experimental procedures will be performed under sedation. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. Animals are trained to cooperate as much as possible with the invasive biotechnical handlings, such as receiving a sedation or virus infection. Each time an animal is sedated for blood collection or immunization, the animal will be weighed, and the animal will be closely examined. The institute uses a customized database that documents all individual animals in the institute. General observations like behavior, appetite and stool are part of this database. This database thus facilitates early recognition of minor changes in these general parameters. During the study, care will be taken to avoid pain. In case an animal suffers from pain, a veterinarian will be informed, and the animal will receive analgesics to relief the pain, if necessary.

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

Repetition and duplication

E. Repetition

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

Not applicable

Accommodation and care**F. Accommodation and care**

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

No

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

G. Location where the animals procedures are performed

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

No > Continue with question H.

Yes > Describe this establishment.

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

Classification of discomfort/humane endpoints**H. Pain and pain relief**

Will the animals experience pain during or after the procedures?

No > Continue with question I.

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

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

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

For the placement of the telemetric device in the abdomen, the animals will be anesthetized. Then, they will receive analgesics for as long as necessary. In previous studies, it was observed that animals can experience some fever during the first days after insertion of the temperature recording device, but have recovered very well within 1 week after the operation.

During the infection phase, the animals will be continuously monitored. Monitoring will be done by observation of the animals by the animal caretakers. As disease may develop rapidly, observation will be done minimally 3 times per day. Also, continuous telemetric monitoring of the changes in

body temperature, as well as activity, will allow the early detection of signs of disease. Monitoring of disease symptoms will be based on a clinical scoring list developed as described in Appendix 2. Listed symptoms include changes in body temperature (> 5%), changes in body weight (>20%), changes in activity and behavior, as well as changes in appearance (fur) due to dehydration and anorexia. In case of symptoms caused by RVFV infection, this can result in distress. To avoid serious discomfort, the animals will then be euthanized.

I. Other aspects compromising the welfare of the animals

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

1. Discomfort because of insertion of the telemetric device.
2. Discomfort due to administration of vaccines and virus
3. Stress, loss of appetite because of recovery from sedation
4. Discomfort due to RVF disease symptoms

Explain why these effects may emerge.

1. The surgery needed for insertion of the telemetric device will cause pain and some local inflammation
2. Administrations can cause local irritation
3. Animals will be repeatedly sedated for virus infection, immunizations, and blood sampling. Nausea can sometimes be observed during recovery from the sedation
4. RVFV infection of marmosets can cause disease symptoms

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

1. Surgery will be done under anesthesia and after surgery analgesics will be applied.
2. If local irritation occurs the severity will be minor. Therefore, no extra actions are needed.
3. Recovery of the animals is monitored and the veterinarian will intervene if animals do not recover fast enough.
4. After infection, the animals are visually monitored minimally three times per day by animal caretakers, and are continuously monitored for changes in body temperature and activity using telemetry. If an animal shows clinical symptoms suggestive for RVF disease like changes in body temperature in combination with abnormal hematology parameters or behavior, the animal will be euthanized.

J. Humane endpoints

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

No > Continue with question K.

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

Animals are monitored daily by animal caretakers, and are continuously monitored for body temperature, and changes in activity using a telemetric device. If an animal shows clinical symptoms suggestive for RVF disease, like changes in body temperature in combination with abnormal hematology parameters or abnormal behavior, the animals will be euthanized. Blood biochemical parameters that are influenced by RVFV in common marmosets, include levels of alkaline phosphatase and blood urea nitrogen, that are indicators for liver function and kidney function, respectively. Animals may also show neurological signs, like instability and seizures, or show signs of anorexia and dehydration. The use of a clinical scorings list (Appendix 1), will facilitate the early detection of disease symptoms and avoid unnecessary suffering of the animals. Thus, animals can be humanely euthanized at an early time-point of RVF, prior to severe disease symptoms.

Indicate the likely incidence.

100% of infected animals

K. Classification of severity of procedures

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

The cumulative amount of discomfort is estimated as moderate. This is mainly caused by the implantation of the telemetric device and development of disease due to infection

End of experiment**L. Method of killing**

Will the animals be killed during or after the procedures?

No

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

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

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

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

Yes



Advies aan CCD

Datum 19 maart 2018
Betreft Advies Secretariaat over Aanvraag projectvergunning Dierproeven AVD20174224

Instelling: Biomedical Primate Research Centre
Onderzoeker: 10.2.e
Project: Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets
Aanvraagnummer: AVD20174224
Betreft: Nieuwe aanvraag
Categorieën: Translationeel of toegepast onderzoek

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

Proces	Er zijn geen vragen gesteld aan de DEC en aan de aanvrager.			
Naam proef	Diersoort	Stam	Aantal dieren	Herkomst
3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)		24	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten
3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets				
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)		110	Dieren die voor onderzoek gefokt zijn Niet menselijke primaten

Gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren

- 3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV / Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.
- 3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets / Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus): Er worden zowel mannelijke als vrouwelijke dieren gebruikt.

Locatie uitvoering experimenten	- Alle proeven vinden plaats in een instelling van een vergunninghouder. - Er zijn geen problemen bekend met de vergunninghouder.
Maatschappij	11.1 

2 DEC advies

DEC-advies	<p>Het DEC advies is volledig en kan als grondslag dienen voor het besluit.</p> <p>Citaat C1: Uit de resultaten van een fase 2 klinische trial bleek dat het geteste verzwakt levend vaccin immunogeen en veilig was in 19 vrijwilligers. Hierbij is het van belang om op te merken dat hetzelfde vaccin abortus kan induceren in schapen in vroege stadia van de dracht. Daarom zijn er grote zorgen over eventuele "restpathogeniciteit".</p> <p>Citaat C9: Het experiment wordt uitgevoerd met niet-humane primaten, namelijk penseelapen (<i>Callithrix jacchus</i>). De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op de gevoeligheid voor RVFV infectie en het ontstaan van klinische symptomen en pathologie die vergelijkbaar zijn met ernstige ziekte bij de mens. Hierdoor kan het optreden van pathogene effecten van met name de reeds beschikbare live attenuated vaccines in voldoende mate vastgesteld worden. De nauwe overeenkomsten met het immuunsysteem van de mens garandeert een goede extrapoleerbaarheid van vaccin geïnduceerde immuun responsen. Ook kunnen onverwachte bijwerkingen beter aan het licht komen omdat RVFV infectie in penseelapen een ziektebeloop vertoont vergelijkbaar met ernstige ziekte in de mens. Voor alle studies kunnen in principe dieren gebruikt worden die al eerder in een andere studie zijn gebruikt, mits de voorafgaande experimenten niet interfereren met de huidige proefuitkomsten. Hergebruik zal plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in de Wet op de Dierproeven.</p> <p>Citaat C14: Er is geen in vitro model waarin de effectiviteit van vaccins kan worden getest, daarom is gebruik van proefdieren noodzakelijk. De immunogeniciteit, effectiviteit en eventuele bijwerkingen van RVFV vaccins worden onderzocht in penseelapen omdat deze dieren gevoelig zijn voor RVFV en ziekteverschijnselen vertonen die vergelijkbaar zijn met ernstige RVF bij de mens. Hierdoor is het waarschijnlijk dat alle pathogene eigenschappen van vaccins die gebaseerd zijn op verzwakt virus goed gedetecteerd kunnen worden. Bovenal vertoont het immuunsysteem van de penseelaap belangrijke overeenkomsten met dat van de mens, waardoor de uitkomsten van de voorgestelde dierproeven een goede indicatie geven over immunogeniciteit en bescherming tegen RVFV infectie in de mens. Resus apen zijn ook te infecteren met RVFV,</p>
-------------------	--

maar alleen door toediening van een hoge dosis virus. De dieren vertonen virus in het bloed, koorts en leukopenie. Slechts 20% van de dieren ontwikkeld klinische symptomen. Om bescherming tegen de ziekte in resusapen aan te tonen zou derhalve aanzienlijk meer dieren vergen dat wanneer de studie in penseelapen wordt uitgevoerd. Bovendien kunnen de ziekteverschijnselen ten gevolge van RVF vaccinatie en restpathogeniteit van vaccins gebaseerd op verzwakt virus beter in penseel apen worden vastgesteld dan in resus apen. Voorafgaand aan de evaluatie in penseelapen zullen de kandidaat vaccins getest worden in landbouwhuisdieren. Afwezigheid van pathologie in deze dieren is echter niet een afdoende waarborg voor veiligheid in de mens.

Ethische afweging van de DEC:

Citaat: Rechtvaardigt het testen van vaccins tegen RVFV die bedoeld zijn voor toepassing in de mens het ongerief dat penseelapen wordt aangedaan?

De waarden die voor de samenleving in het geding zijn, zijn gelegen in het ontwikkelen van vaccins tegen RVFV die voldoende veilig en effectief zijn om te kunnen worden toegepast in de mens. Er zijn reeds klinische testen uitgevoerd met bepaalde veterinaire vaccins, de uitkomsten daarvan waren veelbelovend, maar dit vaccin veroorzaakte abortussen in drachtige schapen. Naar verwachting leidt het beschermen van de mens door veilige en effectieve vaccinaties tot vermindering van het aantal ziektegevallen en doden als gevolg van infectie met RVFV. Daarnaast zullen verbeterde vaccins ook toegepast kunnen worden bij het vaccineren van met name landbouwhuisdieren in gebieden waar RVFV in belangrijke mate voorkomt, hetgeen ook weer kan bijdragen in verlagings van de incidentie in mensen, maar ook in de populatie van 'wilde dieren' waardoor het virus-reservoir verkleind wordt. De voordelen zijn zowel economisch (minder ziekte, minder zorgkosten, minder verlies van landbouwhuisdieren), maatschappelijk, als bevorderlijk voor de gezondheid en welzijn van mensen en dieren. Gezien de risico's voor mens en dier en het risico van verdere verspreiding van de ziekte heeft de WHO RVFV geplaatst op de lijst van 13 "priority pathogens". Het belang voor mens en dier kan als aanzienlijk worden aangemerkt. De voorgestelde studie werkt vanuit het WHO 'One Health' uitgangspunt, de erkenning van de relatie tussen gezondheid van mens en dier. Voor de proefdieren zijn integriteit, welzijn en de autonomie in het geding, door de dieren handelingen met een wetenschappelijk doel te laten ondergaan. Ze zullen hierdoor ziek worden en enige pijn ondervinden door chirurgische ingrepen, bloedafnames en injecties. De dieren ondervinden hiervan matig nadeel. De waarden voor het onderzoeksveld zijn toenemend wetenschappelijk inzicht in welke eigenschappen van een

vaccin bijdragen aan mogelijk pathogene effecten of bijdragen aan bescherming tegen RVFV infectie. Daarmee is dit onderzoek informatief en van belang. Indien de doelstellingen bereikt worden, zal dit werk leiden tot de ontwikkeling van nieuwe vaccins die gebruikt kunnen worden voor grootschalige bestrijding van RVFV infectie in mens en dier. Het verwachte ongerief voor de proefdieren valt daardoor moreel te verantwoorden.

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. RVFV kan bij landbouwhuisdieren en ook bij dieren in het wild grote schade aanrichten, ongeveer 20% van de besmette dieren overlijdt en infectie met het virus veroorzaakt abortussen bij drachtige dieren. Het virus is lastig te bestrijden in de wilde populatie, waardoor veestapels besmet kunnen worden. Door contact met besmette (wilde en gedomesticeerde) dieren en zeer waarschijnlijk ook via besmette muggen kunnen mensen in nabijheid van besmet vee ziek worden. Een deel van de geïnfecteerde mensen (1-3%) ontwikkelt ernstige ziekte, waaraan men kan komen te overlijden. Om hoeveel gevallen het precies gaat is nog niet helemaal duidelijk wegens gebrek aan goede diagnostiek, wel lijkt de ziekte de laatste jaren vaker voor te komen en ernstiger te verlopen dan voorheen. Daarom is met name in de risicogebieden het beschikbaar komen van een effectief vaccin tegen RVFV voor gebruik in de mens een hoge prioriteit. Mede gezien de hoge kans op verdere verspreiding is RVFV door de WHO aangemerkt als "priority disease". Hoewel er een vaccin is dat al in mensen is getest, zijn er zorgen over de zgn. 'restpathogeniciteit' en daarom willen de onderzoekers penseelapen infecteren met verzwakte virussen die mogelijk als vaccin gaan dienen. Penseelapen zijn zeer gevoelig voor infectie met RVFV en vertonen een ziektebeeld dat erg overeenkomt met ernstige ziekteverschijnselen in de mens. Mocht een vaccin nog enige mate van pathogeniciteit hebben dan zal dat zeer waarschijnlijk in penseelapen aan te tonen zijn. De expertise voor het verrichten van deze experimenten is beschikbaar binnen de instelling en bij de betrokken onderzoekers. De kennis en kunde van de aanvragers wordt onderbouwd door eerder onderzoek naar vaccins tegen verschillende virussen. De vereiste expertise en voorzieningen voor dergelijk onderzoek met niet-humane primaten is ruimschoots aanwezig. De gekozen strategie voor de RVFV infectie en vaccin evaluatie studies, alsmede het management van dierenwelzijn, is mede gebaseerd op ervaringen uit eerdere vaccin studies. De keuze voor deze diersoort is gebaseerd op bewezen gevoeligheid voor RVFV infectie, het vergelijkbare verloop van de infectie en pathogenese en de zeer grote fysiologische en anatomische overeenkomsten met de mens. De dieren zijn specifiek

gefokt voor gebruik in onderzoek en worden sociaal gehuisvest. De 3V principes worden gehonoreerd door hergebruik van dieren, en training van dieren voor het meewerken aan biotechnische handelingen en frequent wegen. Het ongerief is maximaal matig. Humane eindpunten worden toegepast en zijn zorgvuldig beschreven. De haalbaarheid van de doelstellingen van dit project wordt als hoog ingeschat. De te onderzoeken vaccins zijn van te voren getest in landbouwhuisdieren op werkzaamheid en veiligheid. In de laatste fase van de preklinische ontwikkeling is het noodzakelijk om de effectiviteit en veiligheid van de kandidaat vaccins te onderzoeken in een diermodel dat grote overeenkomsten vertoont met de mens. De effecten van de kandidaat vaccins kunnen in dit diermodel goed worden onderzocht en ook kunnen nadelige effecten aan het licht komen. Gezien het bovenstaande is de DEC van mening dat dit project het gebruik van deze proefdieren rechtvaardigt.

De DEC heeft extern advies ingewonnen bij
- de aanvrager is om aanvullingen gevraagd
Gevraagd is de noodzaak voor het gebruik van niet-humane primaten te verklaren en de keuze voor de apensoort.

Het DEC advies is Positief

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

De volgende dilemma's zijn gesignaleerd door de DEC:
Citaat: Een drietal dilemma's kwam naar voren tijdens de beoordeling van deze aanvraag. Het eerste betreft de noodzaak om vaccins tegen RVF vaccins in niet-humane primaten te onderzoeken. Immers, door het effectief vaccineren van de veestapel loopt de humane populatie aanzienlijk minder risico om besmet te raken met RVFV. De onderzoeker is gevraagd om uitleg te geven en verklaarde dat niet alleen gedomesticeerde maar ook wilde dieren bronnen van besmettingen zijn. Bovendien is het lastig om alle dieren in de veestapels in rural area's te vaccineren. Het aantal uitbraken van RVF is aan het toenemen en veel mensen lopen risico op infectie/ziekte. Het is daarom noodzakelijk om een vaccin te ontwikkelen dat snel ingezet kan worden bij uitbraken van de ziekte. Het tweede dilemma betrof de keuze voor de penseelaap. Ook resusapen zijn gevoelig voor infectie met het virus en kunnen detecteerbare viremie ontwikkelen, maar vertonen veel minder vaak ernstige ziekteverschijnselen. De onderzoeker betoogde desgevraagd dat resultaten van experimenten, waarin dieren – zoals resusapen die

bepert gevoelig zijn RVFV - met verzwakt virus zijn gevaccineerd, onterecht de indruk kunnen wekken dat het vaccin veilig is voor mensen. De resusaap is weliswaar een goed model voor onderzoek naar de immunogeniteit en effectiviteit van het vaccin, maar niet om de eventuele nadelige effecten goed in kaart te brengen. Tenslotte hebben het gegeven dat er aanzienlijk meer resusapen nodig zouden zijn dan penseel apen, dat de resus aap wellicht een specifiek model is (vanwege de hoge hoeveelheid virus die nodig voor infectie en de afwezigheid van klinische symptomen in de meeste dieren) en waar ook nog eens de betrouwbaarheid van de restpathogeniciteit in het geding is, een belangrijke rol gespeeld bij de keuze van de penseelapen. De African Green Monkey (*Chlorocebus aethiops*) is even gevoelig voor RVFV als de penseelaap. Aangezien de aanvragers geen ervaring hebben met deze apensoort is terecht gekozen voor penseelapen. Het laatste dilemma is de vraag of de doelgroep waarvoor dit vaccin ontwikkeld wordt wel toegang krijgt tot het vaccin. Het is echter niet aan deze DEC om daar een oordeel over te geven. Alle andere dilemma's zijn hierboven besproken tijdens de ethische afweging.

3 Kwaliteit DEC advies

Kwaliteit DEC-advies	
	Er zijn DEC leden uitgesloten van de behandeling van de aanvraag vanwege onafhankelijkheid of onpartijdigheid. Een van de DEC leden was betrokken bij de aanvraag. Deze persoon heeft zich teruggetrokken van de vergadering bij de bespreking van de aanvraag en overigens geen aandeel gehad in de afweging en advisering.
	Het DEC advies is helder en navolgbaar. In het DEC advies is op heldere wijze inzicht gegeven in de vragen die aan de aanvrager zijn gesteld. Bij de beantwoording van de beoordelvragen verstrekt u een heldere onderbouwing. De ethische afweging volgt op logische wijze uit de beantwoording van de C vragen. U heeft in uw advies zeer helder dilemma's benoemd.

4 Inhoudelijke beoordeling

Doelstelling Doelstelling	Citaat: to test the immunogenicity, efficacy, and absence of pathogenicity of novel RVFV vaccines that are developed for use in humans in the marmoset model for human RVFV infection.
Wetenschappelijk en maatschappelijk belang	Citaat: As RVFV is a zoonotic virus, outbreaks of RVF in animals often coincide with human infections and fatalities. In 1993, for instance, southern Egypt suffered an outbreak in which 600–1500 human infections were reported. Since 2000, severe forms of human RVF have been reported in Saudi-Arabia and Yemen in 2000 (1603 reported cases/208 deaths), and in various African countries between 2003 and 2016 (3038 reported cases/749 deaths). In past outbreaks of RVF, mosquito-borne transmissions to humans were associated with mosquito

species that normally do not feed on humans. However, during the major outbreak in Egypt 1977-78, mosquitoes that mostly feed on humans (*Culex pipiens*) were associated with transmission, and in this outbreak ~ 200,000 people were infected. Since anthropophilic mosquitoes (mosquitoes that prefer to feed on humans) such as *Culex pipiens*, but also *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, can efficiently transmit RVFV, it is very well conceivable that in future outbreaks, RVFV can be directly transmitted between humans through these mosquito species. There are several examples of which transmission via the mosquito from human to human was not (sufficiently) recognized (Zika virus, Chikungunya, West Nile). The spread of exotic viruses directly from human-to-human is therefore often underestimated, which has become painfully clear due to the recent outbreak of Zika virus.

International health authorities have recognized this potential threat to human health. The WHO has put RVFV on the 2017 list of 13 priority pathogens based on the following prioritizing criteria:

- Human transmission
- Medical countermeasures
- Severity or case fatality rate
- The human/animal interface
- The public health context of the affected area
- Potential societal impacts
- Evolutionary potential

For agents on this list there is an urgent need for research and development of vaccines and antiviral treatments. For the listed pathogens, the WHO also recognized the value of a One Health approach, i.e. the concept that recognizes that the health of people is connected to the health of animals and the environment. The WHO stresses the importance of working more closely with animal health to identify priority diseases and develop relevant countermeasures. The World Organization for Animal Health (OIE) also endorses the One Health concept (1), and specifically mentions RVF as one of the diseases of animal origin that can be transmitted to humans, and poses a worldwide risk to human health. The goal of the research described in this project is to evaluate the efficacy of such 'One Health RVFV vaccines' that are developed to protect both animals and humans against RVFV infections.

The project fits within the above presented WHO strategy, and the proposal will contribute significantly to the One Health approach put forward by WHO and OIE.

Onderbouwing wetenschappelijk en maatschappelijk belang	11.1
---	------

<p>Wetenschappelijke kwaliteit Kwaliteit aanvrager/ onderzoeksgroep en onderzoek</p>	<p>De DEC zegt hierover: De onderzoeksgroep heeft jarenlange ervaring met het uitvoeren van vaccin onderzoek in niet-humane primaten en de aandacht voor toepassing van vermindering en verfijning bij de dierproeven. Alhoewel nog niet eerder infectie experimenten met RVFV zijn gedaan binnen het instituut is er uitgebreide ervaring en kennis met diverse virale infectieziektes, zoals West Nile virus, Zika virus, dengue virus, in penseelapen. De faciliteiten en ervaring om met RVF virussen te werken zijn zowel op DMIII als MLIII niveau aanwezig.</p>
	11.1

3V's

<p>Vervanging</p>	
	<p>3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV: Citaat: Several animal species, primarily rodents and nonhuman primates have been used to study RVFV virus infection of humans. Of these different species, NHPs are the preferred species, because their immune system most closely resembles that of humans. This is important, both for vaccine efficacy evaluation as well as for the infection of the host with RVFV, since these are both strongly affected by the reaction of the innate and adaptive immune system of the host. The proper evaluation of novel vaccines requires adequate infection models in NHP, which is the purpose of the studies proposed here. In addition, the species of choice in these studies, the common marmoset, most faithfully mimics human RVF in viremia, but also shows RFV clinical symptoms and pathology as are also seen in severe human RFV.</p>
	<p>3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets: Citaat: Nonhuman primates have been used to evaluate RVF vaccines, because NHPs have the advantage that they physiologically and immunologically most closely resemble humans. This has important implications, both for vaccine efficacy evaluation, as well as for the interaction of the host with RVFV, since these are affected both by the physiology and by the reaction of the innate and adaptive immune system. The proper evaluation of novel vaccines requires adequate infection models in NHP, 28 van 31 which is the purpose of the studies proposed here. Ideally, the species chosen should be sensitive to the pathogenic organism, and the animal species used should develop an immune response to the vaccine antigen. The species of choice in the proposed studies, the common marmoset, not only faithfully mimics human RVF in viremia, but also shows RFV clinical symptoms and pathology as are also seen in severe human RVF. Based on the above, the common marmoset is chosen as the animal species for our studies.</p>

Verminderen	
	<p>3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV: Citaat: Limited data are available for RVFV infection in marmosets, and the results of the proposed infection studies will provide the parameters for group-size calculations for subsequent studies. Based on the extensive experience with other viral infection models within the institute where this research will be performed, plus the limited data available from literature, it is expected that four animals per inoculum dose will be sufficient. The animals will also be closely monitored for clinical signs of RVF in order to set up a clinical scoring list for future vaccine efficacy studies. Therefore, no additional animals will be needed for the preparation of the clinical scoring list. On the basis of the outcome of the first study the number of animals needed in follow up experiments can be calculated and less animals may be needed. Only the minimum number of animals needed will be used.</p>
	<p>3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets: Citaat: The number of animals needed per experiment will be based on statistical power calculation for achieving statistically significant induction of immune responses and a significant level of protection or reduction in virus load in the circulation between the vaccine groups and the challenge control group. Only the minimum number of animals needed will be used. Data will become available on infection in unvaccinated animals (Appendix 1). When using these data usually fewer animals can be used in the challenge control group than in the vaccine groups. Furthermore, we aim to evaluate multiple vaccine candidates in a single experiment, so that a single challenge control group can be used.</p>

Verfijnen	
	<p>3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV: Citaat: The use of telemetric devices to measure body temperature and activity makes it possible to real-time monitor and collect data from the animals, allowing the veterinary staff to take action at the earliest time-point if any of these parameters is influenced by the RVFV infection, even before detected by visual inspection. Thus, adequate action can be taken before an animal reaches its humane endpoint. Placement of the telemetric devices will require surgery, which will be done under anesthesia. Subsequently animals will receive analgesics as long as required. The use of a smaller, novel telemetric device (Anipill 0.1C, DSI™; 17mm x 8 mm; 1.7 grams) than that has been used in previous marmoset studies will cause less discomfort to the animals. The animals are trained to cooperate as much as possible with invasive biotechnical actions, such as giving anesthesia or virus infection. All observations will be documented and added to the clinical scoring form which will be set up as part of the experimental infection studies. A highly sensitive real-time PCR will allow a very accurate determination of the virus load in small blood volumes collected from infected marmosets. Marmosets will be trained to stand on a scale themselves, making it possible to determine changes in body weight without anesthesia. The body weight will then be determined twice a day.</p>
	<p>3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets: Zie bijlage 3.4.4.1 The animals are trained to cooperate as much as possible with the invasive biotechnical handlings, such as receiving a sedation or virus infection. In consultation with our collaborators, the number of blood samplings, and the collected volumes of blood are reduced to a minimum. A highly sensitive real-time PCR will allow a very accurate determination of the virus load in small blood volumes collected from infected marmosets.</p>
Hergebruik	Er is sprake van hergebruik van dieren.
<p>3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV: Citaat: Animals that will be used in these experiments, might have been used in previous experiments. Animals that have been involved in previous RVFV studies or that have pre-existing antibodies against RVFV are not suitable. In view of the long life of the animals of this species re-use of animals will take place within the limitations described in art 1e of the Wet op de Dierproeven.</p>	
<p>3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets: Zie bijlage 3.4.4.1</p>	

Naam proef	Worden de dieren gedood?	Doden volgens richtlijn?
3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV	Ja	volgens de richtlijn.
3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets	Ja	volgens de richtlijn.

Naam proef		
3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV	HEP: 100%	ALP or ALT levels of > 200%, a loss of body weight of > 20%, or a change in body temperature of > 5%,
Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	Ongerief: 100,0% Matig	
3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets	HEP: 100% of infected animals	Zie bijlage 3.4.4.1
Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	Ongerief: 100,0% Matig	

5 Samenvatting

5.2 lid 1

Deze aanvraag betreft het opzetten van een infectie model met Rift Valley Fever Virus (RVFV), het testen van RVFV vaccins en het testen van RVFV vaccins op immunogeniciteit en effectiviteit tegen experimentele infectie met RVFV bij penseelapen.

Er sprake is van bijzondere categorieën dieren, namelijk niet-humane primaten. De DEC vindt dit voldoende onderbouwd en het Secretariaat **5.2 lid 1**

Er is sprake van hergebruik. De DEC vindt dit voldoende onderbouwd en het Secretariaat **5.2 lid 1**

Beoordeling achteraf is nodig vanwege het gebruik van niet-humane primaten.

6 Voorstel besluit incl. voorstel geldigheidsduur van de vergunning

Het Secretariaat **5.2 lid1**

Het Secretariaat adviseert **5.2 lid1**

Voorstel is om **5.2 lid1**

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 maart 2024 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
AVD5020020174224
Bijlagen
1

Datum 19 maart 2018
Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.g ,

Op 12 februari 2018 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets" met aanvraagnummer AVD5020020174224. 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 1 april 2018 tot en met 31 maart 2023.

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

Procedure

Advies dierexperimentencommissie

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie (DEC) 10.2.g . Dit advies is ontvangen op 1 maart 2018. 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.

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.

Datum:
19 maart 2018
Aanvraagnummer:
AVD5020020174224

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1 lid 1 sub d van de wet. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2024 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.

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:


19 maart 2018

Aanvraagnummer:

AVD5020020174224

Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

10.2.g



ir. J.F.M. Daemen
Wvd. 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 1 april 2018 tot en met 31 maart 2023, voor het project "Evaluation of Rift Valley Fever Virus vaccines in common marmosets" met aanvraagnummer AVD5020020174224, volgens advies van Dierexperimentencommissie 10.2.g.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Section Head Molecular Virology.

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

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, zoals ontvangen op 12 februari 2018
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen op 12 februari 2018;
 - b Bijlagen dierproeven
 - 3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV, zoals ontvangen op 12 februari 2018;
 - 3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets, zoals ontvangen op 12 februari 2018;
 - c Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 12 februari 2018;
 - d Advies van Dierexperimentencommissie zoals ontvangen op 1 maart 2018.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst
3.4.4.1 Infection of common marmosets with RVFV			
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	24	100,0% Matig
3.4.4.2 Evaluation of RVFV vaccines in common marmosets			
	Klauwaapjes (bijv. Callithrix jacchus)	110	100,0% Matig

Voorwaarden

Beoordeling achteraf

In dit project worden dierproeven toegepast waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt en wordt daarom voorzien van beoordeling achteraf. Deze beoordeling zal uiterlijk maart 2024 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:
AVD5020020174224

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:
AVD5020020174224

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:
AVD5020020174224

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

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

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

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

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

Levensloopdossier

Voor iedere hond, kat en niet-menselijke primaat moet volgens artikel 15a van de wet een levensloopdossier 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:
AVD5020020174224

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