

Inventaris Wob-verzoek W21-04										
9004		wordt verstrekt				weigeringsgronden				
nr.	document	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, d.d. 12 november 2019				x		x		x	
2	NTS	x								
3	Projectvoorstel				x		x		x	
4	Bijlage				x		x		x	
5	Bevestigingsbrief inzake behandeling van aanvraag				x		x		x	
6	Ontvangstbevestiging en factuur, d.d. 14 november 2019				x		x		x	
7	Interne e-mail inzake ontvangst van een nieuwe aanvraag, d.d. 14 november 2019				x		x		x	
8	E-mail van CCD betreffende de DEC-Adviesaanvraag, d.d. 14 november 2019				x		x		x	
9	E-mail van CCD aan vergunninghouder betreffende bevestiging van DEC-Adviesaanvraag, d.d. 14 november 2019				x		x		x	
10	Begeleidende e-mail van CCD aan vergunninghouder betreffende de ontvangstbevestiging van de aanvraag, d.d. 14 november 2019				x		x		x	
11	Interne e-mail inzake dossiernummer, d.d. 14 november 2019				x		x		x	
12	E-mail van DEC betreffende ontvangst van verzoek van CCD omtrent DEC-Adviesaanvraag, d.d. 14 november 2019				x		x		x	



## Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

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

### 1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Heeft u een deelnemernummer van de NVWA?  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*

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

10.2.g

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

Naam instelling of organisatie  
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde

10.2.g

10.2.e

KvK-nummer  
Straat en huisnummer  
Postbus  
Postcode en plaats

10.2.g

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

IBAN  
Tenaamstelling van het rekeningnummer

- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.

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

10.2.e

 Dhr. Mw.

Unithoofd

Alternatives

10.2.e

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

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

 Dhr. Mw.

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.

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

10.2.e

X Dhr.  Mw.

Adjunct-directeur

Animal Science

10.2.e

- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?

Ja > Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag  
 Nee

## 2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?

Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3

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

Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2

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

Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3

- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?

Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier.

Nee > Ga verder met vraag 3

- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?

Nee > Ga verder met vraag 3

Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

## 3 Over uw project

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

Startdatum 01 - 01 - 2020

Einddatum 01 - 01 - 2025

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie

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

Ontwikkeling van nieuwe adjuvantia, met minder of geen bijwerkingen, om auto-immuunziektes van het brein te modelleren in de resus makaak

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

Naam DEC DEC-10.2.g

Postadres Postbus 10.2.g

E-mailadres dec@10.2.g

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning Lege € 1350  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
*Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*  
 Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- bijlage 1, beschrijving dierproeven en bijlage 2, beschrijving MiMyc (+ 2 Sup. Figs)

## 6 Ondertekening

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

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

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

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

Naam

10.2.e

Functie

Adjunct Directeur

Plaats

10.2.g

Datum

12 - 11 - 2019

10.2.e

Handtekening

10.2.e



## Format

### Niet-technische samenvatting

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

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | Ontwikkeling van nieuwe adjuvantia, met minder of geen bijwerkingen, om auto-immuunziektes van het brein te modelleren in de resus makaak
- 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Verfijning, diermodel, ongerief, mild, auto-immuun ziektes

## 2 Categorie van het project

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

## 3 Projectbeschrijving

- 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)
- Auto-immuunziektes vormen een scala aan vaak chronische aandoeningen waarbij onderdelen van het eigen lichaam het doelwit vormen van het immuunsysteem. Bekende voorbeelden van auto-immuunziektes zijn diabetes type I, reumatoïde artritis, lupus en multipele sclerose (MS).
- Wanneer in dieren auto-immuun ziektes opgewekt worden, zijn zeer sterke hulpstoffen (*adjuvantia*) zoals bijvoorbeeld Compleet Freund's adjuvant (CFA) noodzakelijk om de tolerantie voor lichaamseigen doelwitantigen te doorbreken. Een belangrijk nadeel van CFA is dat het gebruik ervan gepaard kan gaan met ernstige bijwerkingen, zoals onderhuidse ontstekingsreacties. Deze bijwerkingen tasten het welzijn van de dieren aan en zijn mogelijk te voorkomen.

Dit project richt zich op het testen van nieuwe milde adjuvantia, met weinig of geen bijwerkingen, om zo onnodig lijden van de dieren te verminderen.

- |     |   |  |
|-----|---|--|
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang? | Primair doel is de ontwikkeling van een nieuw, mild adjuvant om daarmee het EAE model in de resus makaak te verfijnen en het lijden van de dieren te verminderen. De bijwerkingen die het nu nog gebruikte adjuvant (CFA) in de resus makaak veroorzaakt zijn ernstig. |
| 3.3 | Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?  | Maximaal 50 resus makaken voor de gehele looptijd van het project. Het onderzoek is gefaseerd opgebouwd.   |
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?                                     | Sufheid en misselijkheid als gevolg van de narcose. Ziekteverschijnselen behorend bij het diermodel, bijvoorbeeld het verlies van neurologische functies.  |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?   | Het cumulatieve ongerief wordt ingeschat als matig.  |
| 3.6 | Wat is de bestemming van de dieren na afloop?   | Alle dieren worden bij het bereiken van het humane eindpunt of aan het einde van het experiment geëuthanaseerd. Om onderzoek te kunnen doen naar de pathologie in het CZS en de immuunresponsen in de lymfoïde organen is dit noodzakelijk.                            |

## 4 Drie V's

- |     |  |  |
|-----|--|--|
| 4.1 | <b>Vervanging</b><br>Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden. | Nieuwe therapieën kunnen niet direct in de mens worden getest, omdat dit te veel risico's met zich mee brengt, zoals onverwachte bijwerkingen of het verergeren van de ziekte. In het geval van ontstekingen van het brein (zoals bij MS) wordt dit veroorzaakt door complexe interacties tussen het centrale zenuwstelsel en het gehele afweersysteem en zeer waarschijnlijk ook door omgevingsinvloeden en levensstijlen. Bestaande proefdiervrije alternatieven kunnen deze interacties -nog- niet nabootsen. |
| 4.2 | <b>Vermindering</b><br>Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.   | Door literatuuronderzoek, internationale samenwerking, berekening van het aantal benodigde dieren per groep op basis van eerdere resultaten uit soortgelijke experimenten, weglaten van positieve controle groepen (en gebruik van historische controles), waar mogelijk combinatie van doel-/vraagstellingen met gedeeld gebruik van negatieve controle groepen.  |
| 4.3 | <b>Verfijning</b>  | De belangrijkste doelstelling van dit project is verfijning. De noodzaak tot vervanging van CFA is het grootst in de resus makaak, gezien de heftigheid  |

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

van de bijwerkingen. Ontwikkeling van een bijwerkingsvrij of bijwerkingsarm, maar toch potent, adjuvant zou op termijn ook in modellen voor auto-immuunziekten in andere diersoorten (zoals in marmosets, ratten, muizen en cavia's) tot verfijning kunnen leiden alhoewel daarvoor eerst proeven in de betreffende diersoorten nodig zullen zijn.

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

Training van dieren, sedatie en/of narcose, dagelijkse observatie, euthanasie op basis van humane eindpuntcriteria.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Andere opmerkingen



## Format Projectvoorstel dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 10.2.g
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in. Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

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

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



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

### **Auto-immuunziektes**

Auto-immuunziektes vormen een scala aan, vaak chronische, aandoeningen waarbij onderdelen van het eigen lichaam het doelwit vormen van het immuunsysteem. Bekende voorbeelden van auto-immuunziektes zijn coeliakie, diabetes type I, reumatoïde artritis, myasthenia gravis, systemische lupus erythematoses, multipale sclerose (MS) en acute gedissemineerde encephalomyelitis (ADEM). Ondanks dat de afgelopen eeuw tot een sterk toegenomen medische controle over infectieziekten heeft geleid, zijn veel auto-immuunziektes nog maar beperkt behandelbaar en neemt de frequentie van dit soort aandoeningen in met name eerste wereld landen toe. Om deze ziektes beter te leren begrijpen, alsmede om therapeutica in preklinische fases te kunnen testen, zijn goede diermodellen nog steeds onontbeerlijk.

### **MS en ADEM**

MS is een zeer ernstige chronische aandoening die de zenuwbanen in het centrale zenuwstelsel (CZS) aantast. De ziekte treft vooral jong volwassenen met een incidentie van 1 op 1000. MS is daarmee na trauma de belangrijkste neurologische ziekte in jong volwassenen. Er zijn circa 17.000 MS patiënten in Nederland en de jaarlijkse kosten voor behandeling en zorg bedragen tussen de 9.000 en 45.000 EUR per patiënt, afhankelijk van de behandeling [1].

De meest voorkomende symptomen zijn ernstige vermoeidheid, tijdelijke blindheid, verminderde mobiliteit, spierzwakte, incontinentie, stijfheid, en onhandigheid en slepen van de benen (meestal asymmetrisch). Uiteindelijk kan de ziekte leiden tot gedeeltelijke of gehele verlamming van de ledematen. Naast motorische problemen ontstaan er ook problemen met geheugen en concentratie, de zogeheten cognitieve problemen [2, 3]. Patiënten met gevorderde MS hebben een sterk verminderde kwaliteit van leven, moeten al snel stoppen met werken en alhoewel MS in het algemeen niet dodelijk is, kunnen MS patiënten wel eerder overlijden als gevolg van infecties, zoals een longontsteking. In ongeveer 80% van de gevallen begint de ziekte met een relapsing-remitting (RR-MS) beloop waarbij episodes met neurologische klachten (relapses) alterneren met gedeeltelijk of zelfs geheel herstel (remissies). Rond de leeftijd van 40 jaar neemt de ziekte meestal een progressief beloop (secundair progressieve MS, SP-MS) en vindt er nauwelijks herstel meer plaats. In een minderheid van de patiënten openbaart de ziekte zich vanaf het begin als progressief (primair progressieve MS, PP-MS). Wat er precies gebeurt bij de overgang van RR naar SP-MS, of welke factoren daar een rol bij spelen is nog onbekend en is een belangrijk onderwerp van onderzoek.

Op dit moment zijn er 14 therapieën officieel goedgekeurd voor het behandelen van RR-MS. Dit zijn biologicals als interferon (IFN)-beta en fingolimod en antilichamen die leiden tot B-cel depletie (zoals rituxumab) of die de migratie van lymfocyten naar de hersenen blokkeren (zoals natalizumab). Deze therapieën richten zich op het remmen van de ontstekingsactiviteit van het perifere immuunsysteem, en zijn ook bewezen effectief in de diermodellen voor MS. Het ziektebeloop kan met deze aanpak sterk worden geremd, maar de patiënt kan niet worden genezen aangezien de myeline-laag en de zenuwcellen onherstelbaar beschadigd zijn. De huidige therapieën werken in een deel van de patiënten met RR-MS [7] en hebben geen of nauwelijks effect in de progressieve fase van MS. Tevens kunnen er ernstige bijwerkingen ontstaan, zoals reactivatie van virussen en autoimmuun-reacties gericht tegen bijvoorbeeld de schildklier, die langdurige behandeling in de weg staan. Daarom zullen ook de komende jaren nieuwe therapieën tegen MS ontwikkeld en getest moeten worden. Voor de progressieve vormen van MS (SP-MS en PP-MS) is er pas één medicijn beschikbaar [8]. Dit komt omdat de pathogene mechanismes die tijdens progressieve MS belangrijk zijn nog onbekend zijn en een goed diermodel nog ontbreekt.

ADEM is een monofasische ontsteking van de hersenen die voorkomt bij kinderen [17, 20]. Kenmerkend voor deze ziekte is het acuut ontstaan van neurologische uitvalsverschijnselen veroorzaakt door ontstekingen op meerdere plaatsen in de hersenen. Deze ontstekingen ontstaan door een reactie van het afweersysteem tegen lichaamseigen antigenen zoals myeline. ADEM is dan ook geassocieerd met anti-myeline oligodendrocyte glycoproteïne (MOG) antilichamen [21]. Net als bij MS, is de precieze oorzaak van ADEM onbekend, maar de ziekte ontstaat vaak na een infectie en heel soms na een vaccinatie. ADEM

en MS zijn verwante aandoeningen die soms samengevoegd worden onder de noemer acquired demyelinating syndrome, waaronder bijvoorbeeld ook optische neuritis valt.

ADEM is een aandoening die spontaan kan verbeteren, maar wanneer dit niet gebeurt richt de interventie zich op een tijdelijke algehele suppressie van het perifere immuunsysteem. Een deel van de kinderen die met ADEM gediagnosticeerd zijn ontwikkelt uiteindelijk MS. Hoewel het duidelijk is dat beide aandoeningen veel overeenkomsten hebben, is b.v. nog onduidelijk waarom ADEM zich vaak wel spontaan oplost en MS niet en waarom niet alle gevallen van ADEM uiteindelijk MS ontwikkelen.

#### **Waarom onderzoek in de niet-humane primate?**

MS en ADEM zijn aandoeningen die veroorzaakt worden door complexe interacties tussen het CZS en het gehele afweersysteem. Ook de geneesmiddelen grijpen in op deze interacties. Met de huidige stand van proefdiervrije alternatieven is het helaas –nog– niet mogelijk om buiten het levende dier kennis te vergaren over deze interacties of om het effect van geneesmiddelen te bestuderen. Wanneer mogelijk zullen altijd proefdiervrije alternatieven ingezet worden en zullen kandidaat-geneesmiddelen bv. eerst of alleen in knaagdieren getest worden. Er zijn echter situaties waarin niet-humane primaten (NHP) ingezet moeten worden. Nieuwe geneesmiddelen kunnen met de huidige technologieën steeds specifiek voor de mens worden gemaakt, waardoor ze in knaagdieren hun aangrijpingspunt niet meer herkennen en in apen wel. Ook kan het zijn dat het pathologisch proces dat onderzocht wordt of waarop de therapie aangrijpt, in knaagdieren biologisch verschilt van primaten of niet aanwezig is.

#### **Diermodellen en adjuvantia**

Er zijn verschillende modellen voor auto-immuun geïnduceerde, neuroinflammatoire aandoeningen (zoals MS en ADEM) opgezet in twee apensoorten die ingezet worden om fundamentele vragen te adresseren en om kandidaat geneesmiddelen te testen. Grofweg kan gesteld worden dat er een model is dat geschikt is om de chronische inflammatie fase tijdens MS na te bootsen in de marmoset (*Callithrix jacchus*), en een model in de resus makaak (*Macaca mulatta*) dat gepaard gaat met een zich vrij acuut ontwikkelende inflammatie van het brein, en dat daarmee meer lijkt op de acute inflammatie fase tijdens MS of op ADEM.

Cruciaal bij het ontwikkelen van relevante diermodellen voor menselijke auto-immuunziekten is dat de natuurlijke tolerantie van het immuunsysteem voor lichaamseigen producten doorbroken moet worden. Vaak worden om dit te bewerkstelligen hulpstoffen (*adjuvantia*) gebruikt. Deze adjuvantia worden ook in vaccins gebruikt en helpen om het immuunsysteem tegen het gewenste antigeen te laten reageren. In een vaccin is het doelwit antigeen vaak een lichaamsvreemd micro-organisme en volstaat een relatief mild adjuvant om het immuunsysteem op gang te helpen. Wanneer in diermodellen auto-immuunziekten opgewekt worden, zijn sterkere adjuvantia zoals bijvoorbeeld Compleet Freund's Adjuvant (CFA) noodzakelijk om de tolerantie te doorbreken. Een belangrijk nadeel van een adjuvant als CFA is dat het gebruik ervan gepaard kan gaan met de ontwikkeling van serieuze bijwerkingen, zoals onderhuidse granuloma's. Deze adjuvant-gerelateerde bijwerkingen verhogen het ongerief dat de dieren ondervinden, en zijn mogelijkterwijls te voorkomen. In zowel de marmoset als in de resus makaak werd oorspronkelijk CFA als adjuvant gebruikt.

In de marmoset is er de afgelopen twee decennia veel werk verricht om het model te verfijnen door middel van het gebruik van andere antigenen alsmede door te immuniseren in het zeer milde Incomplete Freund's Adjuvant (IFA). Dit heeft geleid tot een verfijnd model, dat helaas ook kwetsbaar is gebleken voor minimale veranderingen zoals veranderingen in het dieet [39]. De robuustheid van het model om met voldoende statistische betrouwbaarheid preklinisch onderzoek te doen is hiermee enigszins onder druk komen te staan.

In de resus makaak is er nog geen alternatief voor het gebruik van CFA, maar is het model wel robuust met een hoge incidentie. Pogingen om een adjuvant-vrij model in de resus makaak te ontwikkelen zijn tot nu toe vruchteloos gebleken, en ook het gebruik van andere antigenen heeft nog niet geleid tot een terugdringing van het ongerief. De in de resus makaak optredende bijwerkingen ten gevolge van het gebruik van CFA zijn relatief ernstig in vergelijking met andere diersoorten, en er is er dus een sterke behoefte aan een mild, bijwerkingsarm adjuvant. Alhoewel niet het doel van dit projectvoorstel, zou een mild adjuvant mogelijkterwijls de neuroinflammatie fase minder acuut laten verlopen, waardoor het model

dan ook ingezet zou kunnen worden om de meer chronische aspecten van MS te leren begrijpen en eventueel te remmen.

Binnen het instituut is de afgelopen jaren gewerkt aan adjuvant ontwikkeling met als doel om adjuvantia te maken die weinig of geen bijwerkingen geven maar die toch een sterk stimulerend effect op het immuunsysteem sorteren. Eén van deze adjuvantia, genaamd MiMyc, is ondertussen uitvoerig getest op de afwezigheid van bijwerkingen en op de aanwezigheid van immuunstimulerende effecten in de resus makaak (zie onder), en is een veelbelovende kandidaat om CFA te vervangen en daarmee het ongerief voor de dieren te verminderen. Dit projectvoorstel vormt daarmee het sluitstuk in een langlopende inspanning om CFA in het EAE model in de resus makaak te vervangen.

### **Het experimenteel auto-immuun encephalitis (EAE) model in meer detail**

Eén van de best gekarakteriseerde diermodellen voor auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie is EAE. Het model is ontwikkeld in ratten, muizen en NHP [9, 10]. Het EAE model in de muis heeft in belangrijke mate bijgedragen aan de huidige inzichten in de ziekte mechanismes van MS en er zijn diverse therapieën in ontwikkeld die gebruikt worden voor de behandeling van RR-MS. Een voorbeeld daarvan is het monoclonale antilichaam natalizumab, dat de entree van immuuncellen in het CNS blokkeert. Er is echter ook een lange lijst van aanvankelijk veelbelovende kandidaat geneesmiddelen die de vertaling van de muis naar de mens niet hebben overleefd vanwege onverwachte toxiciteit of afwezigheid van werkzaamheid. Het wordt in toenemende mate duidelijk dat het EAE model in de muis zeker bruikbaar is voor fundamenteel onderzoek aan bepaalde facetten van MS, met name de rol van ontstekingscellen, maar dat het door de afwezigheid van immunologische mechanismes die werkzaam zijn in de chronische fase van MS niet optimaal bruikbaar is voor geneesmiddelontwikkeling. In bepaalde belangrijke opzichten verschilt het EAE model in de muis van MS. De laesies bevinden zich b.v. alleen in het ruggenmerg, terwijl in MS vooral ook de hersenen zijn aangetast. Tevens lijken deze laesies qua complexiteit niet goed op de laesies in MS patiënten en lijkt oxidatieve stress afwezig te zijn [11]. Ook zijn er verschillen betreffende de immuun mechanismen die tijdens het ziektebeloop belangrijk zijn: in het EAE model in de muis spelen voornamelijk de CD4+ T-helper cellen een rol, terwijl in MS CD8+ killer T cellen zeker ook betrokken zijn.

EAE modellen in NHP lijken in immunologisch en pathologisch opzicht meer op de mens. Het EAE model in de marmoset heeft zich in de afgelopen twintig jaar ontwikkeld tot een zeer bruikbaar preklinisch model voor MS [12, 13, 14-16]. Het diermodel deelt een aantal eigenschappen met progressieve MS, namelijk het chronische ziekteverloop en de ontwikkeling van laesies in de grijze stof, en kan voor beantwoording van onderzoeksvragen of geneesmiddelontwikkeling ingezet worden.

Het EAE model in de resus makaak heeft met de marmoset gemeen dat de pathologie in de hersenen plaats vindt en dat deze in bepaalde aspecten gelijkend aan is aan die in MS. Tevens zijn de resus makaken ook outbred en blootgesteld aan virussen zoals bij de marmoset het geval is en kunnen ze gebruikt worden voor multi-compartimentale immuunprofielering. Het EAE model in de resus makaak wordt gebruikt als preklinisch model voor MS, waarbij het vooral bruikbaar is om de acute inflammatie fase te modelleren. Natalizumab, een medicijn dat goedgekeurd is voor gebruik in RR-MS en de acute inflammatie fase blokkeert, blokkeert dan ook de ontwikkeling van EAE in de resus makaak [22], en nieuwe therapieën voor MS worden ook in dit model getest [23]. In de resus makaak is het ziekteverloop echter acuter en gaat het vergezeld van ernstigere pathologie in de hersenen dan in de marmoset, waardoor het model in deze aspecten meer lijkt op ADEM. Naast preklinische studies die zich richten op de acute fase van MS of ADEM, wordt het diermodel ook gebruikt om fundamentele vragen te beantwoorden die zich richten op de processen die bepalend zijn bij de overgang van acute naar chronische neuroinflammatie.

Het EAE model in de resus makaak wordt nog altijd geïnduceerd met CFA, is erg robuust en heeft een zeer hoge incidentie. Voor de inductie kan gebruikt gemaakt worden van twee antigenen, recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (rhMOG), of een peptide daarvan, MOG34-56 [17, 18]. Er is in resus apen nog geen alternatief voor CFA. Immunisatie met rhMOG in IFA leidde b.v. tot EAE in slechts twee van de vijf resus makaken [19], en immunisatie met MOG34-56 in IFA van vijf resus

makaken leidde helemaal niet tot klinische effecten (niet gepubliceerd). Deze incidenties zijn te laag voor gebruik in preklinische of fundamentele studies.

Voor preklinische vraagstellingen die betrekking hebben op de chronische inflammatie fase van MS, is de marmoset het model van keuze. Voor preklinische vraagstellingen die betrekking hebben op de acute inflammatie fase van MS, hangt de keuze af van meerdere factoren. Soms is de marmoset b.v. niet geschikt omdat het medicijn niet kruisreageert met het target in marmosets of als er technische beperkingen zijn (b.v. als grote bloed of cerebrospinale vloeistof volumes nodig zijn). Ook kan het zijn dat een kortdurend model gewenst is, omdat de tijd dat een medicijn zijn werk kan doen beperkt is door vorming van neutraliserende antilichamen. Voor studies van fundamentele aard, hangt de keuze van het model af van de specifieke vraagstelling en hebben beide modellen hun eigen voor- en nadelen.

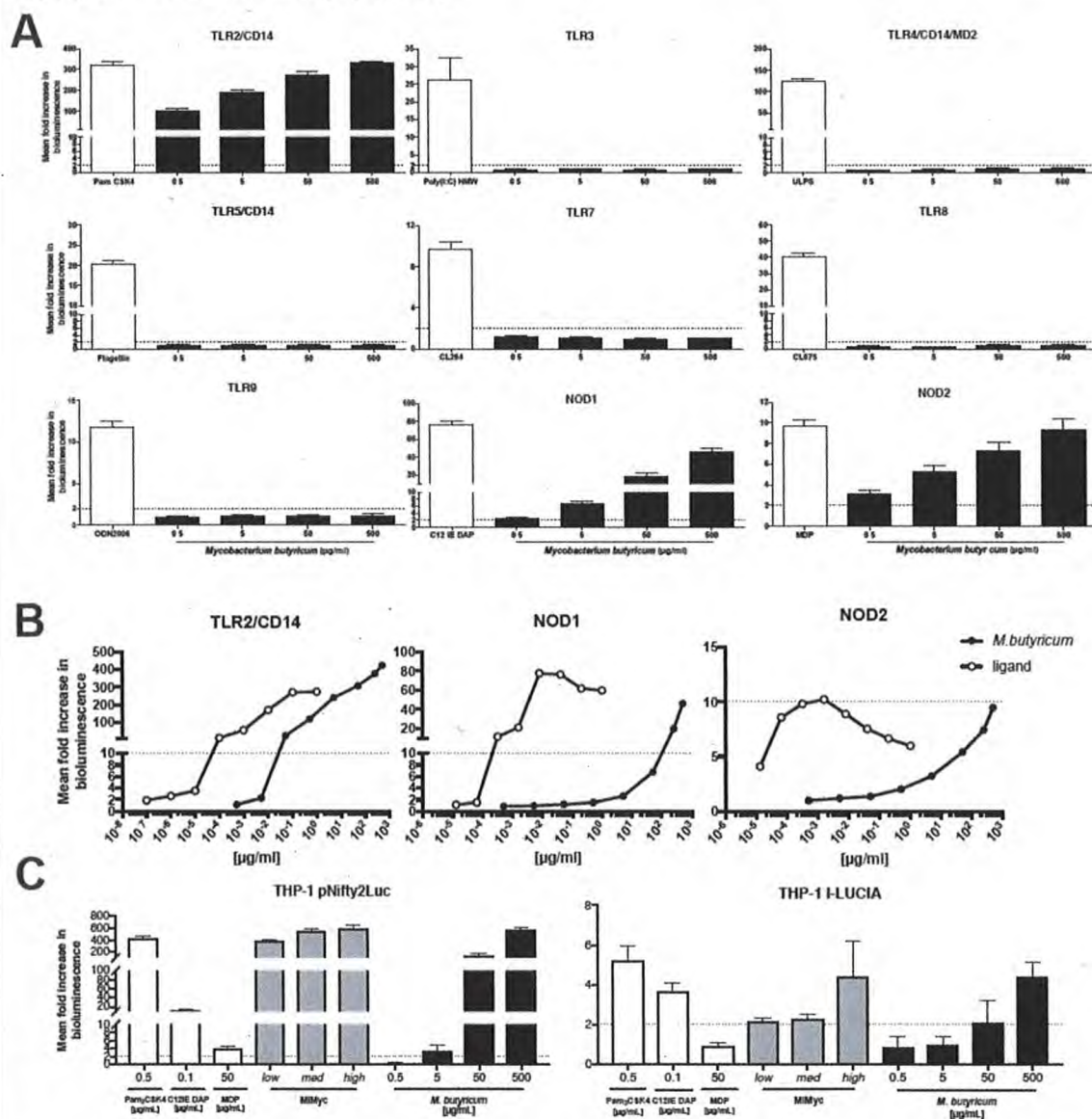
Het is helder dat er ruimte is voor optimalisatie van het EAE model in met name de resus makaak. Het gebruik van CFA voor EAE inductie beperkt zich niet tot Nederland, maar ook in labs in China, Frankrijk, Israël en de Verenigde Staten is dit nog steeds het standaardprotocol [40-44]. De noodzaak tot het gebruik van CFA in het resus model veroorzaakt veel ongerief bij de dieren en wordt zowel binnen als buiten het instituut als zeer ongewenst ervaren. Daarom is er binnen het instituut een *in vitro* onderzoeksprogramma opgezet om nieuwe, mildere adjuvantia te ontwikkelen die minder of geen bijwerkingen hebben maar toch effectief zijn. **De eerste generatie van dergelijk adjuvantia zijn nu ontwikkeld en *in vivo* in resus makaken getest op afwezigheid van bijwerkingen en aanwezigheid van adjuvantiteit (zie hieronder).** Nog onduidelijk is of de adjuverende werking ook sterk genoeg is om tolerantie tegen lichaamseigen antigenen te doorbreken. Wij hebben overwogen om dit los te toetsen met behulp van een model auto-antigeen (zoals bv. p53), maar kiezen om de volgende redenen toch voor een directere aanpak. Ten eerste zijn wij specifiek geïnteresseerd in lichaamseigen antigenen die in het CZS tot expressie komen en waarvoor mogelijk geen centrale tolerantie bestaat. Wanneer we voor een model auto-antigeen zouden kiezen dat promiscue tot expressie komt, dan is onduidelijk of daar dezelfde tolerantie restricties voor gelden, waarmee interpretatie van de uitkomst en extrapolatie naar een CZS-specifiek antigeen als MOG niet goed mogelijk is. Een evt. afwezigheid van auto-immuun responsen gaat ons dus niet verder helpen. Ten tweede ontbreekt het ons aan data die de sterkte en het type van evt. opgewekte auto-immuun responsen koppelt aan het ontwikkelen van een auto-immuun ziekte. Een evt. aanwezigheid van auto-immuunresponsen gaat ons dus ook niet verder helpen. **Dit voorstel richt zich daarom op het uitvoeren van de proof-of-principle studies om deze mildere adjuvantia te testen op functionaliteit in EAE inductie protocollen in de resus makaak.**

#### **MiMyc in meer detail**

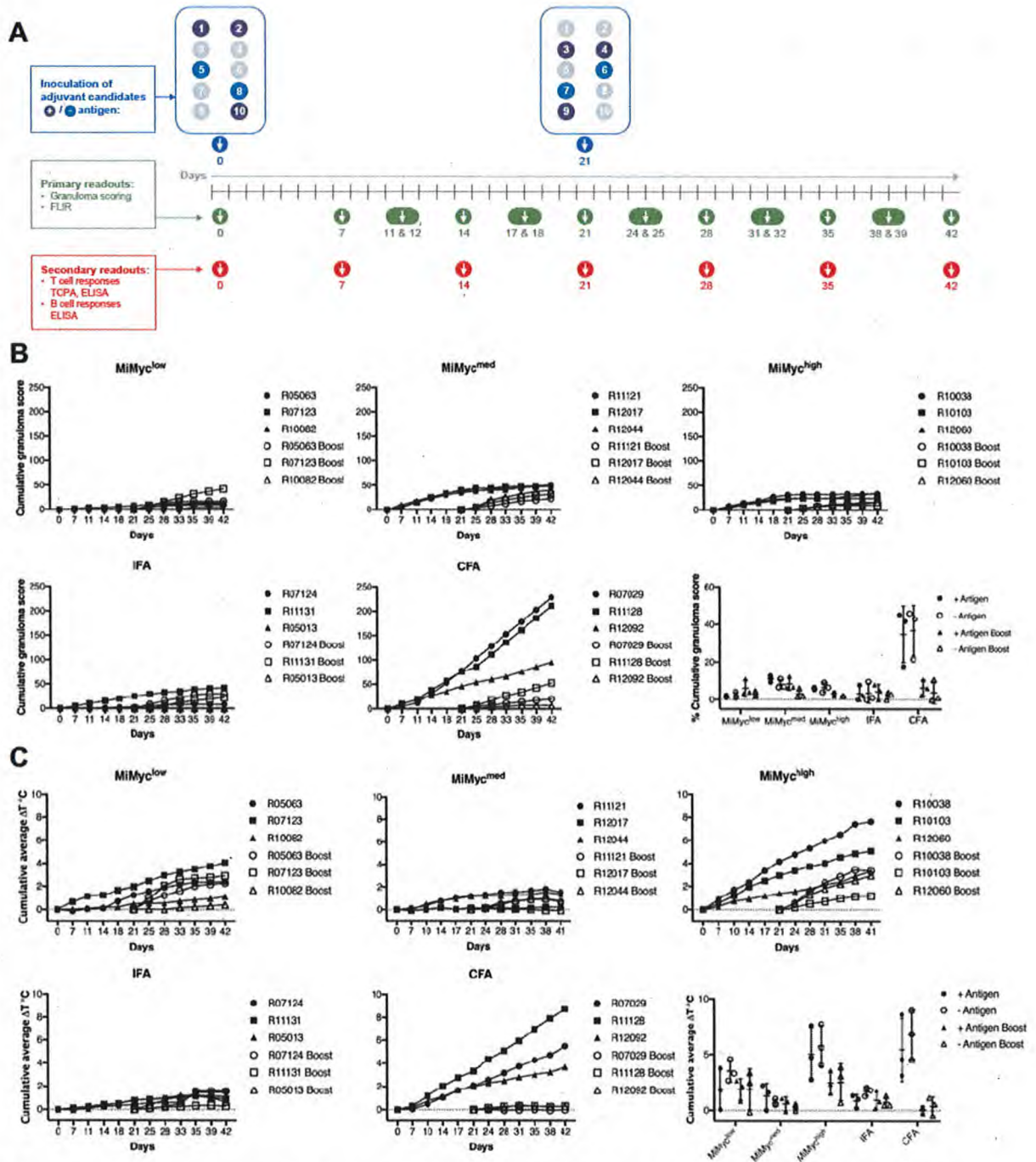
De samenstelling van het *in-huis* ontwikkelde adjuvant MiMyc, is gebaseerd op *in vitro* experimenten met bioassays die ons in staat hebben gesteld de aangeboren immuunresponsen die de Mycobacteria die zich in CFA bevinden normaliter induceren, zowel in kwalitatief als kwantitatief opzicht na te bootsen met specifieke liganden. Daartoe hebben we humane cel lijnen ingezet die getransfecteerd zijn met specifieke receptoren behorend bij het aangeboren immuunsysteem en met reporter plasmides (zie Figuur 1A en 1B), alsmede een humane cel lijn die van nature al meerdere receptoren van het aangeboren immuunsysteem tot expressie brengt en getransfecteerd is met verschillende reporter plasmides (Figuur 1C). MiMyc is vervolgens in drie concentraties geformuleerd: MiMyc<sup>low</sup>, MiMyc<sup>med</sup> en MiMyc<sup>high</sup>, waarbij de onderlinge verhoudingen tussen de verschillende liganden gelijk is gehouden, maar er wel steeds een 3.3-maal verschil in hoeveelheid is gebruikt. Voor deze strategie is gekozen omdat de inschatting op basis van onze *in vitro* assays mogelijk tot een onderschatting van de aangeboren immuunrespons heeft geleid, gezien het goed mogelijk is dat er nog meer receptoren ontdekt worden die ook door Mycobacteria geactiveerd kunnen raken.

Vervolgens hebben we een *in vivo* experiment uitgevoerd waarin vijf groepen van drie rhesus makaken intracutaan op vijf plekken dorsaal geïmmuniseerd zijn met Incompleet Freund's Adjuvant (IFA; de negatieve controle), MiMyc<sup>low</sup>, MiMyc<sup>med</sup>, MiMyc<sup>high</sup>, en CFA (de positieve controle) op dag 0 en geboost zijn (op vijf andere plekken) op dag 21. Doel was om de bijwerkingen van MiMyc in kaart te brengen. De experimentele setup was zo gekozen dat het mogelijk was om ook de effecten van de aan- of

afwezigheid van een antigeen te evalueren, evenals het effect van herhaaldelijk immuniseren (Figuur 2A). Dit experiment is dubbel blind uitgevoerd, behalve voor de aan- of afwezigheid van antigeen. Analyse van de resultaten (Figuur 2B) laat zien dat de bijwerkingen die MiMyc induceert, zelfs in de hoogste dosis, niet significant verschilt van de geringe bijwerkingen die IFA induceert (roodheid en lichte zwelling). Niet invasieve analyse met behulp van infrarood technologie maakt aannemelijk dat de hoogste dosis MyMic wel een onderhuidse ontstekingsreactie in gang zet, die zich qua grootte laat vergelijken met die van CFA (Figuur 2C).



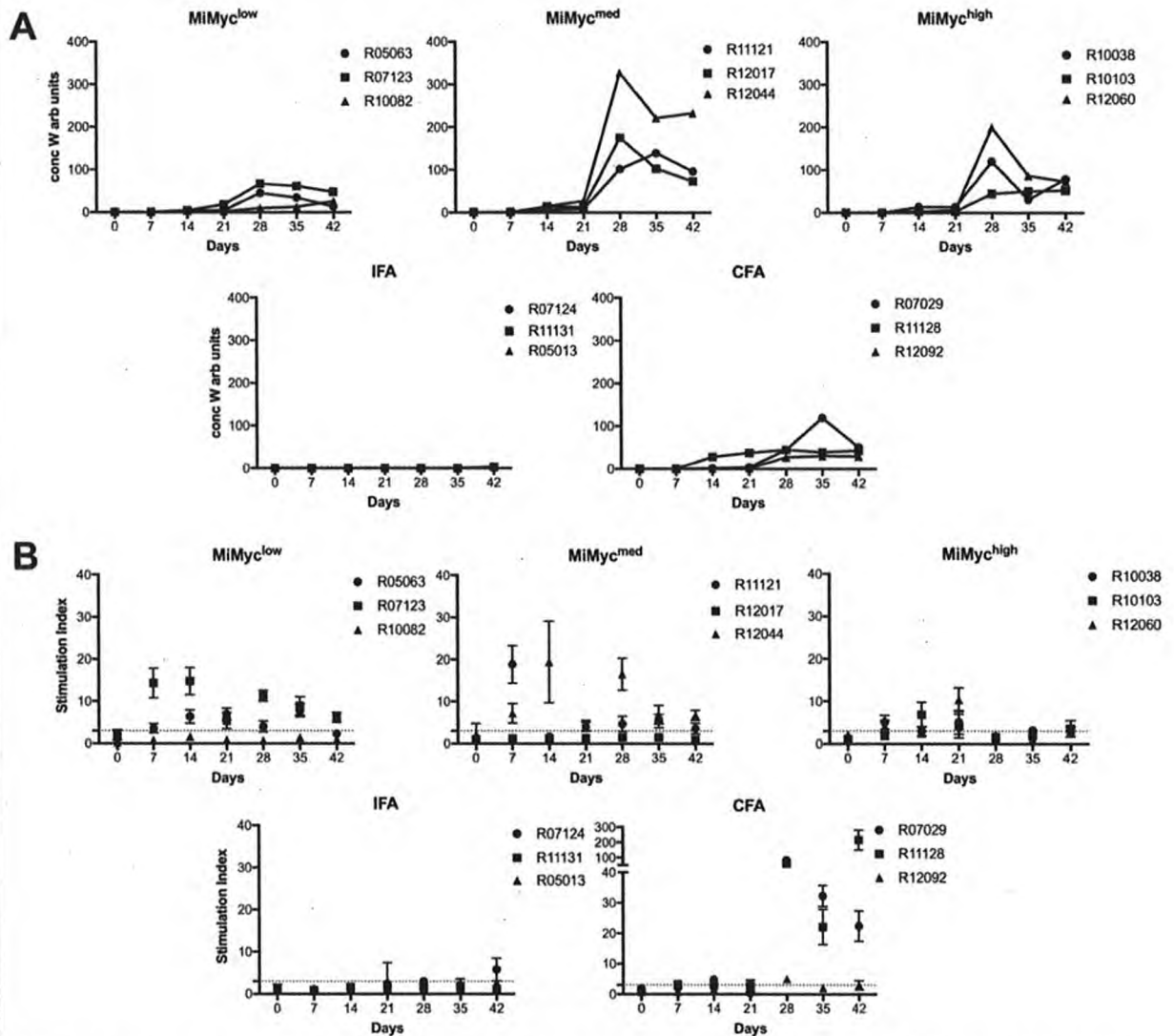
**Figuur 1.** Profileren van aangeboren immuun responsen zoals geïnduceerd door CFA en MiMyc. (A). Humane endotheel nier cellen (HEK293) die individuele pattern recognition receptors en een luciferase reporter onder controle van een nuclear factor (NF)-kappaB gevoelige promotor tot expressie brengen zijn blootgesteld aan specifieke liganden en aan verschillende concentraties *M. butyricum*. (B). Side-by-side titraties van specifieke liganden met verschillende concentraties *M. butyricum*. (C). Myeloïde cellen (THP-1) die meerdere pattern recognition receptors en een reporter gen onder controle van een NF-kappaB gevoelige (pNifty2Luc, linker panel) of een interferon responsive factor (IRF) gevoelige (I-LUCIA, rechter panel) tot expressie brengen zijn blootgesteld aan verschillende concentraties liganden, *M. butyricum* en MiMyc.



**Figuur 2.** Bijwerkingen en onderhuidse ontstekingsreacties zoals geïnduceerd door verschillende adjuvantia. (A). Experimentele set-up. (B) Cumulative granuloma scores voor individuele dieren in vijf groepen. Verschillende symbolen representeren verschillende dieren. (C). Cumulative verschillen in locale subcutane temperatuur zoals bepaald mbv forward looking infrared (FLIR) voor individuele dieren in vijf groepen. Verschillende symbolen representeren verschillende dieren.

De toevoeging van antigeen aan de adjuvant preparaten, heeft ons ook in staat gesteld om geïnduceerde antigeen-specifieke (zowel B-(antilichaam) als T-cel) responsen in het bloed te meten. Evaluatie van deze resultaten leert ons dat MiMyc, zelfs in de laagste dosering, superieur is aan IFA waar het neerkomt op de inductie van antilichaam responsen (Figuur 3A). T cel responsen laten zich lastiger meten in het

bloed, maar ook daar kunnen we vast stellen dat formulering van antigeen in MiMyc leidt tot de inductie van T cel responsen die superieur is aan die van IFA (Figuur 3B). Belangrijk gegeven is dat formulering van antigeen met CFA wel leidt tot meer robuuste antigeen-specifieke T cel responsen (let op het verschil in de schalen in Figuur 3B!) dan formulering met MiMyc.



**Figuur 3.** Longitudinale antigeen-specifieke B- en T-cel responsen zoals opgewekt mbv verschillende adjuvantia. (A) Antigeen-specifieke immuuglobuline G (IgG) responsen van individuele dieren in vijf groepen. Verschillende symbolen representeren verschillende dieren. (B) Antigeen-specifieke T cel proliferatieve responsen van individuele dieren in vijf groepen gerepresenteerd als stimulatie indices. Verschillende symbolen representeren verschillende dieren.

Samenvattend geven de gegevens aan dat MiMyc een doseerbaar adjuvant is dat -ook in hoogst geteste dosis, met toevoeging van antigeen en na herhaaldelijk toedienen- minimale bijwerkingen geeft (niet groter dan immunisatie in IFA). Daarnaast induceert immunisatie met antigeen in MiMyc een sterke specifieke antilichaam respons, en goed meetbare specifieke T cel responsen. Deze responsen zijn duidelijk superieur aan de responsen zoals gevonden na immunisatie met IFA, maar minder robuust dan die gevonden na immunisatie met CFA. Of deze responsen voldoende zijn om tot inductie van EAE te leiden is nog onduidelijk en onderwerp van dit voorstel. De uitgangspositie is veelbelovend.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

Dit project richt zich op de evaluatie van milde adjuvantia om het model voor auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie in de resus makaak te induceren. Het doel is om in de resus makaak CFA te vervangen door een adjuvant dat minder of geen bijwerkingen geeft, maar dat wel leidt tot auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie. Dit in het kader van Verfijning.

Nieuwe medicijnen en therapeutische interventies in de processen die een rol spelen bij zowel de acute als de chronische fasen van neuroinflammatie zijn nog steeds hard nodig en zullen de komende jaren op veiligheid en effectiviteit getest dienen te worden in relevante diermodellen, waarbij het dierenwelzijn zo min mogelijk geschaad dient te worden. In een poging dit te bewerkstelligen richten wij ons op de inzet van adjuvantia in de inductiefase van het EAE model, die notoir veel ongerief veroorzaken.

Alhoewel niet het doel van deze studie, zou het gebruik van een milder adjuvant om de ziekte te induceren mogelijkwijs een ander EAE ziektebeloop ten gevolge kunnen hebben. Dit zou de bruikbaarheid van het model om wetenschappelijke vragen waarin meer chronische ontstekingsprocessen onderzocht worden, ten goede komen.

Het instituut waar dit onderzoek zal worden uitgevoerd heeft in de afgelopen 20 jaar grote expertise opgebouwd op het gebied van beide EAE modellen. Het EAE model in de marmoset is gebruikt voor het testen van IFN-gamma [24] en antilichamen tegen interleukine (IL)-12p40 [25, 26], cluster of differentiation (CD)40 [27, 28], IL-17A [29], CD20 [30-32], IL-7 receptor (CD127) [33] en tegen de B-cel groeifactoren BlyS en April [34]. Tevens is onderzocht of tolerantie geïnduceerd kan worden met een fusie eiwit dat gebruik maakt van het cholera toxine subunit en een Ig bindende regio van staphylococcus aureus proteïne [35]. Tenslotte is het model gebruikt om de haalbaarheid van stamcel therapie te onderzoeken [36, 37]. Het EAE model in de resus makaak is gebruikt voor het testen van natalizumab, een goedgekeurd medicijn voor de behandeling van MS [22], en van een antilichaam tegen CD28 [23]. Verder is in dit model ook gevonden dat auto-immuun responsen die zich richten op oligodendrocyte specific protein, specifieke oog-gerelateerde klinische verschijnselen kunnen veroorzaken die sterk lijken op de verschijnselen bij optische neuritis, een aandoening die vaak optreedt voordat de diagnose MS wordt gesteld [38].

Het instituut waar deze studies zullen worden uitgevoerd heeft beschikking over een grote fokkolonie van resus makaken en marmosets. Op het instituut is de infrastructuur en de expertise aanwezig om deze studies veilig, op DM-2 en ML-2 niveau, en binnen de gestelde termijn uit te kunnen voeren.

### Referenties

1. Adelman, G. et al. (2013) The cost burden of multiple sclerosis in the United States: a systematic review of the literature. *J Med Econ* 16 (5), 639-47.
2. Compston, A. and Coles, A. (2002) Multiple sclerosis. *Lancet* 359 (9313), 1221-31.
3. Compston, A. and Coles, A. (2008) Multiple sclerosis. *Lancet* 372 (9648), 1502-17.
4. Lassmann, H. (2013) Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 333 (1-2), 1-4.
5. Pender, M.P. and Burrows, S.R. (2014) Epstein-Barr virus and multiple sclerosis: potential opportunities for immunotherapy. *Clin Transl Immunology* 3 (10), e27.
6. Vanheusden, M. et al. (2015) Cytomegalovirus: a culprit or protector in multiple sclerosis? *Trends Mol Med* 21 (1), 16-23.



7. Bertolotto, A. and Gilli, F. (2008) Interferon-beta responders and non-responders. A biological approach. *Neurol Sci* 29 Suppl 2, S216-7.
8. Montalban, X. et al. (2017) Ocrelizumab versus placebo in primary progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med* 376 (3), 209-220.
9. Gold, R. et al. (2006) Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* 129 (Pt 8), 1953-71.
10. Friese, M.A. et al. (2006) The value of animal models for drug development in multiple sclerosis. *Brain* 129 (Pt 8), 1940-52.
11. Schuh, C. et al. (2014) Oxidative tissue injury in multiple sclerosis is only partly reflected in experimental disease models. *Acta Neuropathol* 128 (2), 247-66.
12. 10.2.e en 10.2.g
13. Mansfield, K. (2003) Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comp Med* 53 (4), 383-92.
14. 10.2.e en 10.2.g
15. 10.2.e en 10.2.g
16. 10.2.e en en 10.2.g
17. Kerlero de Rosbo, N. et al. (2000) Rhesus monkeys are highly susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin oligodendrocyte glycoprotein: characterisation of immunodominant T- and B-cell epitopes. *J Neuroimmunol* 110 (1-2), 83-96.
18. Brok, H.P. et al. (2007) The human CMV-UL86 peptide 981-1003 shares a crossreactive T-cell epitope with the encephalitogenic MOG peptide 34-56, but lacks the capacity to induce EAE in rhesus monkeys. *J Neuroimmunol* 182 (1-2), 135-52.
19. 10.2.e en 10.2.g
20. 10.2.e en 10.2.g
21. Peschl, P. et al. (2017) Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein: Deciphering a Target in Inflammatory Demyelinating Diseases. *Front Immunol* 8, 529.
22. 10.2.e en 10.2.g
23. 10.2.e en 10.2.g
24. 10.2.e en 10.2.g
25. 10.2.e en 10.2.g
26. 10.2.e en 10.2.g
27. Laman, J.D. et al. (2002) Protection of marmoset monkeys against EAE by treatment with a murine antibody blocking CD40 (mu5D12). *Eur J Immunol* 32 (8), 2218-28.
28. 10.2.e en 10.2.g
29. 10.2.e en 10.2.g
30. 10.2.e en 10.2.g
31. 10.2.e en 10.2.g

32. 10.2.e en 10.2.g

33. 10.2.e en 10.2.g

34. 10.2.e en 10.2.g

35. 10.2.e en 10.2.g

36. Pluchino, S. et al. (2009) Human neural stem cells ameliorate autoimmune encephalomyelitis in non-human primates. *Ann Neurol* 66 (3), 343-54.

37. Thiruvalluvan, A. et al. (2016) Survival and functionality of human induced pluripotent stem cell-derived oligodendrocytes in a nonhuman primate model for multiple sclerosis. *Stem Cells Transl Med* 5 (11), 1550-1561.

38. 10.2.e en 10.2.g

39. 10.2.e en 10.2.g

40. Stimmer L. et al. (2018) Experimental Models of Autoimmune Demyelinating Diseases in Nonhuman Primates. *Vet Pathol.* 55(1):27-41.

41. Jones J.M. et al. (2008) Monkeypox virus viral chemokine inhibitor (MPV vCCI), a potent inhibitor of rhesus macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine.* 43(2):220-8.

42. Teitelbaum D. et al. (2004) Oral glatiramer acetate in experimental autoimmune encephalomyelitis: clinical and immunological studies. *Ann N Y Acad Sci.* 1029:239-49.

43. Hu H. et al. (1997) Depletion of T lymphocytes with immunotoxin retards the progress of experimental allergic encephalomyelitis in rhesus monkeys. *Cell Immunol.* 10;177(1):26-34.

44. Rose L.M. et al (1994) Experimental allergic encephalomyelitis (EAE) in nonhuman primates: a model of multiple sclerosis. *Lab Anim Sci.* 44(5):508-12.

### 3.3 Belang

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

#### Wetenschappelijk

Een hoog percentage kandidaat geneesmiddelen overleeft de vertaling van diermodel naar MS patiënt niet (> 90% voor RR-MS en 100% voor SP- en PP-MS). Een belangrijke oorzaak daarvoor is de kloof tussen de in het preklinisch onderzoek veel gebruikte EAE modellen in specific pathogen free (SPF) knaagdieren en de MS patiënt. De EAE modellen in NHP worden algemeen beschouwd als een relevante overbrugging van deze kloof, enerzijds vanwege de immunologische overeenkomst met zowel muizen EAE als MS, anderzijds vanwege de grote neuropathologische overeenkomsten met MS. Onderzoek in NHP modellen kan bv. nieuwe inzichten verschaffen in de overgang van de relapsing-remitting naar de progressieve fase van de ziekte, waarvoor op dit moment nog geen enkele effectieve medicatie bestaat. Optimalisatie van de modellen in NHP is daarbij wel noodzakelijk. Vooral vanuit het oogpunt van dierenwelzijn, waarbij het gebruik van CFA ongerief veroorzaakt dat niet ziekte-gerelateerd is. Daarnaast is het zo, alhoewel dat niet het doel is van dit project, dat een milder adjuvant ook mogelijkheden kan bieden om het acute verloop van het rhesus EAE model te temperen, om daarmee het model ook voor andere toepassingen geschikt te maken.

#### Maatschappelijk

Het maatschappelijk belang van dit project is tweeledig en betreft zowel mens als dier. Voor de mens is iedere vooruitgang in de behandelingsmogelijkheden van MS een sprong voorwaarts. In Nederland treft de diagnose MS ongeveer 1 op de 1000 mensen. De jaarlijkse kosten voor de zorg en behandeling van deze 17.000 mensen liggen tussen 500 en 700 miljoen euro. De ziekte treft vooral jongvolwassenen en is, na trauma, de belangrijkste oorzaak van neurologische ziekte in jongvolwassenen. MS heeft een enorme impact op de maatschappelijke participatie (werk/sociale contacten) en leidt tot een sterk verminderde kwaliteit van leven. Er is dringend behoefte aan een veilige en effectieve behandeling van MS. De huidige therapieën die ontwikkeld zijn tegen MS werken in een deel van de RR-

MS patiënten, maar zijn helaas niet werkzaam in patiënten met SP-MS of PP-MS. Tevens hebben de huidige therapieën veel bijwerkingen zoals terugkerende infecties die langdurig gebruik in de weg staan. Omdat de ziekte een ernstig verloop heeft met blijvende invaliditeit is het zeer belangrijk dat de ontwikkeling van nieuwe therapieën tegen MS blijft doorgaan.

Voor de t.b.v. de mens ingezette dieren hebben wij de maatschappelijke verantwoordelijkheid om het ongerief zo klein mogelijk te maken. Vervanging van CFA in het EAE model in de resus makaak door een milder adjuvant met minder of geen bijwerkingen zou het niet-ziekte gerelateerde ongerief voor de dieren sterk reduceren: een aanzienlijke verfijning. Daarnaast is het zo dat een succesvolle vervanging van CFA in het resus EAE model ook aanleiding zou kunnen geven voor onderzoek naar de mogelijke vervanging van CFA in modellen voor auto-immuunziektes in andere diersoorten, zoals b.v. EAE in marmosets, ratten en muizen en collageen-geïnduceerde artritis in ratten. Het is daarbij nog onduidelijk hoe goed resultaten uit de resus makaak zich laten vertalen naar andere species, en *vice versa*.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project is getrapt opgebouwd, en zal bestaan uit één of meerdere EAE studies. De primaire uitkomst parameter daarbij is EAE incidentie, en daar worden de studies ook op gepowered (power >0.8). De hypothese die wij zullen testen is dat de EAE incidentie met experimenteel adjuvant significant hoger is dan de incidentie verkregen bij immunisatie met IFA. Leidend bij de experimentele opzet is dat in geen van de experimenten CFA gebruikt zal worden, ook niet als positieve controle, en dat er zo veel mogelijk gebruik gemaakt zal worden van historische controles om het aantal ingezette dieren en het veroorzaakte ongerief tot een minimum te beperken.

Al het *in vitro* en *in vivo* voorwerk met MiMyc is uitgevoerd in de resus makaak en de noodzaak tot vervanging van CFA is het grootst in deze diersoort, vandaar dat wij ons richten op het resus EAE model. Het eerste experiment zal een *proof-of-principle* experiment zijn. Eventuele vervolggexperimenten zijn afhankelijk van de uitkomst van dit experiment (voor details zie 3.4.3).

Afhankelijk van het verloop van het project zullen er misschien verdere experimenten met andere adjuvant/antigeen combinaties gedaan worden.

In elke studie zullen klinische scores, de pathologie in het CZS, immuunresponsen in bloed en lymfoïde organen, alsmede adjuvant-gerelateerde bijwerkingen gemeten worden.

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

De apen worden geïmmuniseerd met autoantigeen in nieuw te testen adjuvantia zoals MiMyc. De immunisatie kan evt. gevolgd worden door maandelijks booster immunisaties tot er neurologische symptomen optreden, waarbij een maximale EAE score van 2 gehanteerd wordt. Scores hierboven, of een tijdsduur langer dan 3 dagen met een score van 2, zullen leiden tot een humaan eindpunt. De dieren zullen dagelijks worden geobserveerd op klinische symptomen behorend tot EAE en op mogelijke ontwikkeling van adjuvant-gerelateerde bijwerkingen. Tijdens de dierproef zal er regelmatig bloed worden afgenomen. Aan het eind van de studie of wanneer het humane eindpunt is bereikt, worden de dieren geëuthanaseerd waarna het CZS wordt onderzocht op pathologie en de immuunresponses in de lymfoïde organen worden geanalyseerd.

Mocht daar aanleiding toe zijn, dan kunnen andere adjuvant/antigeen combinaties in de resus makaak getest worden. Leidend daarbij is de afwezigheid van adjuvant-gerelateerde bijwerkingen.

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

Al het *in vitro* en *in vivo* voorwerk met MiMyc is uitgevoerd in de resus makaak en de noodzaak tot vervanging van CFA is het grootst in deze diersoort, vandaar dat wij ons richten op het resus EAE model.

Het eerste experiment zal een *proof-of-principle* experiment zijn. Eén groep resus makaken zal geïmmuniseerd worden met MOG peptide in één dosis MiMyc. De EAE incidentie in de historische controle

groep van dieren geïmmuniseerd met MOG peptide in IFA is 0%, waardoor een groepsgrootte van 5 dieren volstaat om tot een significant verschil met de historische controlegroep te komen. Belangrijke informatie bij dit experiment is dat immunisatie met MOG peptide in CFA in 80% van de dieren tot EAE leidt, dat daarvoor herhaalde immunisaties vereist zijn en dat de eerste manifestatie van EAE vaak een lange incubatie tijd heeft. De drempel om EAE te induceren met MOG peptide lijkt dus zeer hoog te zijn, en er is daarmee een gerede kans dat immunisatie met MOG peptide in MiMyc deze drempel niet haalt. Toch willen we met dit experiment beginnen omdat:

- als het wel werkt het de meeste informatie met de inzet van het minste aantal dieren oplevert,
- als het niet werkt de dieren zeer weinig ongerief hebben ondervonden.

De aard van eventueel volgende experimenten is afhankelijk van de uitkomst van dit experiment.

Mochten wij in geen van de dieren klinische EAE kunnen induceren met MOG peptide in MiMyc, dan zullen wij een experiment doen met recombinant humaan (rh)MOG in MiMyc. De drempel voor inductie is hier veel lager, en de kans dat MiMyc hier een *meetbaar* toegevoegde waarde heeft t.o.v. immunisatie in IFA is dus gróter. Immunisatie met rhMOG in IFA heeft in het verleden geleid tot ongeveer 40% EAE incidentie, en immunisatie met rhMOG in CFA leidt tot 100% EAE incidentie. Omdat rhMOG in batches van verschillende zuiverheid gebruikt is, is het in dit geval helaas niet mogelijk om gebruik te maken van historische negatieve controles. Om die reden voorzien wij een experiment waarbij er 2 groepen van 10 dieren nodig zijn om met voldoende power een eventueel verschil tussen IFA en MiMyc aan te kunnen tonen.

Mocht immunisatie m.b.v. MOG peptide in MiMyc wel geleid hebben tot klinische EAE, dan zal de EAE incidentie, in combinatie met het ziekte verloop en eventueel optredende bijwerkingen, leidend zijn voor het verdere verloop van het project. Bij een EAE incidentie van >75% is het onnodig om vervolggexperimenten met rhMOG in de resus makaak uit te voeren. Mocht de EAE incidentie tussen de 20 en 75% liggen, herhaaldelijk immuniseren benodigd geweest zijn, en/of er sprake geweest zijn van toch optredende bijwerkingen, dan zal een experiment met rhMOG in (evt. een lagere dosis) MiMyc overwogen worden.

Afhankelijk van het verloop van het project zullen er misschien verdere experimenten met andere adjuvant/antigeen combinaties gedaan worden.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Inductie van EAE in resus makaken m.b.v. nieuwe, milde adjuvantia
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 10.2.g
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef  |
|------------|---|
| 1          | Inductie van EAE in resus makaken m.b.v. nieuwe, milde adjuvantia |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

In de non-humane primate (NHP) wordt gewerkt met diermodellen voor auto-immuun geïnduceerde, neuroinflammatoire aandoeningen (zoals multiple sclerose (MS) en acute gedissemineerde encephalomyelitis (ADEM)). Er zijn verschillende modellen opgezet in twee apensoorten die ingezet worden om fundamentele vragen te adresseren en om kandidaat geneesmiddelen te testen. De verzamelnaam voor de experimentele diermodellen voor auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie is experimentele auto-immuun encephalitis (EAE). Grofweg kan gesteld worden dat er een model is dat geschikt is om de chronische inflammatie fase tijdens MS na te bootsen in de marmoset, en een model in de resus makaak dat gepaard gaat met een zich vrij acuut ontwikkelende inflammatie van het brein, en dat daarmee meer lijkt op de acute inflammatie fase tijdens MS of op ADEM. In beide diersoorten werd oorspronkelijk compleet Freund's adjuvant (CFA) als adjuvant gebruikt, een situatie die binnen en buiten het instituut als onwenselijk beschouwd wordt vanwege de sterke bijwerkingen van dit adjuvant.

Waar er voor de marmoset door de jaren heen een CFA-vrij ziekte inductieprotocol is ontwikkeld, is dit voor de resus makaak -nog- niet mogelijk gebleken. Gezien de ernstige aard van de CFA-gerelateerde bijwerkingen in de resus makaak is de behoefte aan vervanging van CFA door een ander, milder adjuvant onverminderd groot. Daarom is er binnen het instituut een *in vitro* onderzoeksprogramma opgezet om nieuwe, mildere adjuvantia te ontwikkelen die minder of geen bijwerkingen hebben maar toch effectief zijn. De eerste generatie van dergelijk adjuvantia zijn nu ontwikkeld, genaamd MiMyc, en *in vivo* in resus makaken getest op afwezigheid van bijwerkingen en aanwezigheid van adjuvantiteit. Dit voorstel richt zich op het uitvoeren van de *proof-of-principle* studies om deze mildere adjuvantia te testen in EAE inductie protocollen.

Het project zal mogelijksterwijs bestaan uit meerdere EAE studies. De strategie is, om met een minimum aan dieren en met een minimum aan ongerief, kandidaat adjuvantia te testen op hun vermogen om EAE te induceren.

In eerste instantie zal er één experiment in resus makaken gedaan worden waarin EAE inductie m.b.v. MiMyc getest zal worden. De immunisatie kan evt. gevolgd worden door maandelijks booster immunisaties dagen tot er neurologische symptomen optreden, tot maximaal EAE score 2. De dieren zullen dagelijks worden geobserveerd op klinische symptomen behorend bij EAE en op mogelijke ontwikkeling van adjuvant-gerelateerde bijwerkingen. Tijdens de dierproef zal er regelmatig bloed worden afgenomen voor analyse van perifere auto-immunresponsen. *Mochten de dieren geen EAE ontwikkelen, dan zal het ongerief minimaal zijn.*

Afhankelijk van de uitkomst van deze eerste studie zullen misschien verdere experimenten met andere adjuvant/antigeen combinaties gedaan worden. Leidend bij de experimentele opzet is dat in geen van de experimenten CFA gebruikt zal worden, ook niet als positieve controle. Mochten er voldoende historische data zijn, dan zal er ook geen groep dieren die geïmmuniseerd zijn met incompleet Freund's adjuvant (IFA) meegenomen worden.

In elke studie zullen klinische scores, de pathologie in het CZS, immunresponsen in bloed en lymfoïde organen, alsmede adjuvant-gerelateerde bijwerkingen gemeten worden. De **primaire uitkomstparameter** is EAE incidentie, en de experimentele opzet zal er dan ook op gericht zijn om met de inzet van het minimale aantal dieren tot een significant verschil in incidentie te komen met immunisatie in IFA.

**Secundaire uitkomstparameters** zijn optredende perifere T en B cel responsen. Tevens wordt de tijd tot het humane eindpunt gescoord (zie EAE score tabellen in paragraaf J). De dieren worden aan het eind van de studie, of wanneer het humane eindpunt bereikt is, geëuthanaseerd. Post mortem wordt dan de ernst van de pathologie in de hersenen en het ruggenmerg geanalyseerd, en in het bloed en de lymfoïde organen wordt de activatie van het immuunsysteem verder onderzocht.

#### Referenties:

1. Haanstra, K.G. et al. (2013) Induction of experimental autoimmune encephalomyelitis with recombinant human myelin oligodendrocyte glycoprotein in incomplete Freund's adjuvant in three non-human primate species. *J Neuroimmune Pharmacol* 8 (5), 1251-64.
2. Dunham, J. et al. (2017) Severe oxidative stress in an acute inflammatory demyelinating model in the rhesus monkey. *PLoS One* 12 (11), e0188013.
3. Haanstra, K.G. et al. (2013) Antagonizing the alpha4beta1 integrin, but not alpha4beta7, inhibits leukocytic infiltration of the central nervous system in rhesus monkey experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 190 (5), 1961-73.
4. Haanstra, K.G. et al. (2015) Selective blockade of CD28-mediated T cell costimulation protects rhesus monkeys against acute fatal experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 194 (4), 1454-66.
5. Kerlero de Rosbo, N. et al. (2000) Rhesus monkeys are highly susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin oligodendrocyte glycoprotein: characterisation of immunodominant T- and B-cell epitopes. *J Neuroimmunol* 110 (1-2), 83-96.
6. Brok, H.P. et al. (2007) The human CMV-UL86 peptide 981-1003 shares a crossreactive T-cell epitope with the encephalitogenic MOG peptide 34-56, but lacks the capacity to induce EAE in rhesus monkeys. *J Neuroimmunol* 182 (1-2), 135-52.
7. Haanstra, K.G. et al. (2013) Induction of encephalitis in rhesus monkeys infused with lymphocryptovirus-infected B-cells presenting MOG34-56 peptide. *PLoS ONE* 8 (8), e71549.

10.2.e en 10.2.g

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

- Voordat de dieren geïmmuniseerd worden zal er bloed worden afgenomen voor de bepaling van individuele nul waarden van relevante parameters en indien nodig voor het maken van getransformeerde B-cellen (deze kunnen later dienen als antigeen presenterende cellen in eventuele cellulaire *in vitro* assays).

Na immunisatie zal regelmatig bloed worden afgenomen voor het bepalen van relevante immuun parameters.

- De huidige methode om EAE te induceren maakt gebruik van intracutane injecties op de rug met een emulsie, bevattende recombinant humaan myeline oligodendrocyte glycoproteïne (rhMOG) of een MOG peptide (34-56) in adjuvant. Indien nodig, wordt deze handeling maandelijks herhaald (met een maximum van vier immunisaties totaal), totdat een dier EAE score 2 heeft ontwikkeld of het einde van de studie is bereikt (maximaal ongeveer 120 dagen).
- Voor wekelijkse bloedafname en gelijktijdige lichaamsgewicht meting worden de dieren gesedeerd, tevens worden dan de inoculatie plaatsen op adjuvant-gerelateerde bijwerkingen gescoord en m.b.v. niet-invasieve infrarood technologie geanalyseerd op onderhuidse ontstekingsactiviteit.
- De klinische score behorend bij EAE wordt dagelijks gemonitord. Daarbij wordt een standaard score systeem gehanteerd waarmee de gradatie van neurologische defecten wordt vastgelegd.

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

Op basis van historische studies is een positieve controle groep (waarbij CFA als adjuvant gebruikt wordt) niet noodzakelijk, en die is dus ook afwezig. Dit brengt het aantal benodigde dieren terug, en beperkt tevens het bijwerkings geassocieerde ongerief. **Om de groepsgroottes te bepalen zal de te toetsen werkhypothese zijn dat immunisatie in MiMyc een statistisch significant hogere EAE incidentie tot gevolg heeft ten opzichte van een beperktere incidentie in de groep waarbij IFA als adjuvant gebruikt werd.** Afhankelijk van het gebruikte antigeen (rhMOG of peptide) kan dit tot een andere proefopzet en andere groepsgroottes leiden gezien er verschillende EAE incidenties in de IFA controlegroep zijn. Leidend bij iedere proefopzet is de minimale groepsgrootte om tot een significant verschil (en dus een antwoord op de gestelde onderzoeksvraag) te komen, uitgerekend m.b.v. power analyses (>0.8) uitgevoerd op een van te voren ingeschat verschil.

Het eerste experiment zal een pilot experiment zijn. Eén groep resus makaken zal geïmmuniseerd worden met MOG peptide in één dosis MiMyc. De EAE incidentie in de historische controle groep van dieren geïmmuniseerd met MOG peptide in IFA is 0%, waardoor een groepsgrootte van 5 dieren volstaat om tot een significant verschil met de historische controlegroep te komen. Mochten de dieren geen EAE ontwikkelen, dan zal het ongerief minimaal zijn.

De aard van eventueel volgende experimenten is afhankelijk van de uitkomst van dit experiment.

Mochten wij in geen van de dieren klinische EAE kunnen induceren met MOG peptide in MiMyc, dan zullen wij een experiment doen met recombinant humaan (rh)MOG in MiMyc. De drempel voor inductie is hier veel lager, en de kans dat MiMyc hier een *meetbaar* toegevoegde waarde heeft t.o.v. immunisatie in IFA is dus groter. Immunisatie met rhMOG in IFA heeft in het verleden geleid tot ongeveer 40% EAE incidentie, en immunisatie met rhMOG in CFA leidt tot 100% EAE incidentie. Omdat rhMOG in batches van verschillende zuiverheid gebruikt is, is het in dit geval helaas niet mogelijk om gebruik te maken van historische controles. Om die reden voorzien wij een experiment waarbij er 2 groepen van 10 dieren nodig zijn om met voldoende power een eventueel verschil tussen IFA en MiMyc aan te kunnen tonen.

Mocht immunisatie m.b.v. MOG peptide in MiMyc wel geleid hebben tot klinische EAE, dan zal de EAE incidentie, in combinatie met het ziekte verloop en eventueel optredende bijwerkingen, leidend zijn voor het verdere verloop van het project. Bij een EAE incidentie van >75% is het onnodig om vervolgentoetsen met rhMOG in de resus makaka uit te voeren. Mocht de EAE incidentie tussen de 20 en 80% liggen, herhaaldelijk immuniseren benodigd geweest zijn, en/of er sprake geweest zijn van toch optredende bijwerkingen, dan zal een experiment met rhMOG -evt. in een lagere dosis MiMyc- overwogen worden.

Afhankelijk van het verloop van het project zullen er misschien verdere experimenten met andere adjuvant/antigeen combinaties gedaan worden.

## B. De dieren

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

**Resus makaak (*Macaca mulatta*), n=50 volwassen, M/V.**

Diersoort: Resus makaken (*Macaca mulatta*) zijn niet-menselijke primaten die zeer geschikt zijn voor translationeel onderzoek naar acuut verlopende ontstekingsreacties van het brein zoals acute gedissemineerde encefalomyelitis (ADEM) of de acute fases van MS; er kunnen nieuwe therapieën in worden getest maar ze kunnen ook worden gebruikt om het ziekteverloop, de pathologie of de rol van virussen te onderzoeken.

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

Levensstadia: De dieren moeten volwassen zijn, zodat ze een goed ontwikkeld immuunsysteem en centraal zenuwstelsel hebben.

Aantal: De verwachting is dat er maximaal 3 studies worden gedaan op deze bijlage. Het eerste experiment bestaat uit één groep van 5 dieren. Verdere mogelijke experimenten zullen bestaan uit 1-3 groepen, van naar verwachting maximaal 10 dieren per groep. Wij verwachten maximaal 50 resus makaken nodig te hebben.

Geslacht: Er is geen verschil aangetoond tussen de sexen in het EAE model. Afhankelijk van de vraagstelling en beschikbaarheid zal er worden gekozen voor een of beide geslachten.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

Gezien de lange levensduur van resus makaken is het mogelijk dat dieren die zullen worden gebruikt in de dierproeven, gebruikt zijn in eerdere dierproeven. Indien sprake is van hergebruik, zal deze plaats vinden binnen de wettelijke kaders beschreven in art. 1<sup>e</sup> van de Wet op de Dierproeven en zoals beschreven in de Toelichting. Geselecteerde dieren mogen niet behandeld zijn met een product dat kan interfereren met het EAE model.

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

Nee

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

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging:

MiMyc of evt. andere nieuwe adjuvantia zijn eerst zeer uitgebreid *in vitro* getest. De voorgestelde experimenten zijn *proof-of-principle* studies om te toetsen of betreffende adjuvantia ook *in vivo* effectief zijn. MiMyc is al *in vivo* in de resus makaak getest op bijwerkingen en geeft, ook in de hoogst geteste dosis, niet meer bijwerkingen dan IFA.

Vermindering:

Het minimaal benodigd aantal dieren zal worden ingezet om tot statistisch relevante informatie te komen. Daartoe zijn vantevoren powercalculaties uitgevoerd (zie boven). De complete onderzoeksstrategie is getrapt opgebouwd, waarbij begonnen wordt met een *proof-of-principle* studie die een minimaal aantal dieren vereist.



Verfijning: Eén van de belangrijkste doelen van dit voorstel is verfijning. Door het veranderen van het EAE inductie-protocol, verwachten we dat makaken minder granuloma's ontwikkelen op de immunisatie plekken.

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

Training: De dieren worden voor aanvang van de studie getraind om zoveel mogelijk vrijwillig mee te werken, waardoor de stress kan worden verminderd.

Welzijn: Tijdens de studie zullen de dieren dagelijks worden geobserveerd door gekwalificeerde en competente diervverzorgers. Mochten er veranderingen optreden in gedrag, eetlust of ontlasting, dan zal de surveillance frequentie verhoogd worden en wordt de veterinaire hiervan op de hoogte gesteld waarmee indien nodig een behandelplan zal worden opgesteld (zoals bv. aanbieden van andere voeding). Mocht daar aanleiding toe zijn, dan zal het betreffende dier uit studie genomen worden.

Medicatie: Pijn en lijden kunnen worden waargenomen. In een dergelijk geval zal in overleg met de dierenartsen worden besloten of er adequate pijnbestrijding kan en moet worden voorgeschreven. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In de meeste gevallen mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten omdat deze mogelijk interfereren met de vraagstelling.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

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

Niet van toepassing

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

In MS patiënten wordt soms pijnlijke spasticiteit waargenomen. Dit is tot nu toe niet gezien in EAE studies, maar kan niet voor de volle 100% worden uitgesloten. Wanneer symptomen van pijn worden geobserveerd zal orale of parenterale pijnstilling worden toegediend na overleg met de veterinaire. De medicatie die kan worden toegediend is afhankelijk van het experiment. In de meeste gevallen mag de pijnmedicatie geen anti-ontstekingsmiddelen bevatten

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

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

1. ongerief door toediening van een injectie/bijwerking adjuvant
2. ongerief door sedatie en ontwaken uit sedatie
3. ongerief door klinische symptomen EAE
4. evt. single huisvesting

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

1. De inspuiting van een kleine hoeveelheid inoculum voor immunisatie kan ontsteking en irritatie geven. Wij verwachten –gezien het uitgebreide voorwerk dat is verricht met Mimyc- dat er zich geen granuloma's zullen vormen. Wij kunnen dit echter niet helemaal uitsluiten. Immunisatie met MiMyc is getest in combinatie met Hepatitis B antigenen, en nog nooit met auto-antigenen zoals MOG.
2. Voor sedatie moet het dier nuchter blijven. Net als bij mensen kunnen we verwachten dat voor makaken het bijkomen uit een sedatie soms een gevoel van desoriëntatie en/of misselijkheid met zich meebrengt.
3. EAE leidt tot symptomen als ataxie, blindheid, paresis en paralyse. Het verlies van neurologische functies kan als stressvol worden ervaren.
4. Dieren worden normaliter in duo's gehuisvest omdat het sociale dieren zijn. Alleen gehuisvest zitten kan stress geven. Wanneer een kooimaatje vanwege de ernst van de EAE uit de studie dient te worden genomen, is single huisvesting echter onontkoombaar.

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

1. Alle dieren worden getraind om te wennen aan de experimentele procedures. Ongerief van inspuitingsplaatsen zal naar verwachting licht zijn. Wanneer nodig zal in overleg met de dierenarts medicatie worden toegepast.
2. Alle dieren worden in de gaten gehouden na het ontwaken en wanneer nodig zal de veterinaire worden geraadpleegd.
3. We werken met een cumulatieve discomfort schaal (zie paragraaf J). Dieren worden geëuthanaseerd wanneer het humane eindpunt is bereikt.
4. Als een dier door omstandigheden (zoals het bereiken van het humane eindpunt van een kooigenoot) gedurende de studie individueel komt te zitten, wordt er geen nieuwe partner geïntroduceerd omdat dit meer stress oplevert dan individuele huisvesting voor de resterende tijd van een studie.

### **J. Humane eindpunten**

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

Nee > Ga verder met vraag K.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Dieren worden geëuthanaseerd, gevolgd door uitgebreide sectie, wanneer het eindpunt volgens de tabellen is bereikt, of als het maximaal aantal vooraf geplande dagen is bereikt, of wanneer het algemeen welzijn door andere omstandigheden ernstig wordt aangetast. De maximale duratie in de tabellen is cumulatief. De humane eindpunten voorkomen dat matig ongerief ernstig wordt en daarom is er geen sprake van ernstig

ongerief in deze dierproef. Door hanteren van deze eindpunten worden de dieren uit studie genomen in een fase waarin de dieren nog steeds zelfredzaam zijn en waarin zelfstandig eten en drinken en het aangaan van sociale interacties in voldoende mate mogelijk blijven.

**Tabel 1: Cumulatieve EAE scoringstabel voor resus makaken**

EAE score	Klinische symptomen	Maximale cumulatieve tijdsduur
0	Asymptomatisch	Einde experiment
0.5	Verminderd alert, veranderd loopgedrag zonder ataxie, Verminderde eetlust, braken	Einde experiment
1	Apathisch (verminderde reactie op externe prikkel)	Einde experiment
2	Ataxie (= evenwichtsstoornis), afname gezichtsvermogen	3 dagen
2.5	Parese (incomplete verlamming) van 1 of meer ledematen	3 dagen
3.0	Paralyse (complete verlamming) van 1 (hemiplegie) of meerdere ledematen (paraplegie)	24 uur
4.0	Complete verlamming van 4 ledematen (quadriplegie)	<12 uur
5.0	Lethargie (geen reactie op externe prikkel) Niet zelfstandig kunnen eten en drinken, Meer dan 2 dagen blind, Onbehandelbare pijn	<2 uur

Dieren worden dagelijks gemonitord voor symptomen. Vanaf score 1 wordt dit meerdere keren per dag gedaan.

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

Tussen de 80 en 100%.

### K. Classificatie van ongerief

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

Het cumulatieve ongerief wordt geclassificeerd als 'matig'. Het ongerief wordt bepaald door herhaalde bloedafnames, herhaalde injecties en het ontwikkelen van EAE symptomen, waarbij een maximale EAE score van 2 gehanteerd wordt. Scores hierboven (zoals die mogelijk zelfs alleen maar op zouden kunnen treden door een onverwachts snelle ziekteprogressie), of een tijdsduur langer dan 3 dagen met een score van 2, zullen leiden tot een humaan eindpunt. De kans op ontwikkeling van verlammingssymptomen is hiermee zeer klein. Indien er geen EAE symptomen optreden, bijvoorbeeld omdat de nieuwe inductiemethode niet het gewenste resultaat oplevert, blijft het ongerief matig als gevolg van de herhaalde bloedafnames en injecties.

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

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

Nee

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

De dieren worden altijd gedood aan het einde van het experiment. Ten einde onderzoek te kunnen doen naar de pathologie in het CZS en de immuunresponsen in de lymfoïde organen is het noodzakelijk de dieren te euthanaseren.

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



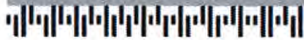
> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g

10.2.e

Postbus 10.2.g

10.2.g



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVC 10.2.g 9004

Datum

Betreft Vervolg aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Op 13 november 2019 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor autoimmuun geïnduceerde neuroinflammatie" met aanvraagnummer AVC 10.2.g 9004. Uw aanvraag wordt in behandeling genomen. In deze brief leest u wanneer u een beslissing kunt verwachten.

#### **Wanneer een beslissing**

Wij nemen uiterlijk 14 januari 2020 een beslissing. Als wij nog informatie nodig hebben, kan dit later worden. Voor een complexe aanvraag staat een langere termijn. In beide gevallen ontvangt u daarover bericht. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

#### **Meer informatie**

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

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.



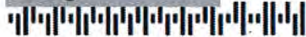
> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g

10.2.e

Postbus 10.2.g

10.2.g



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVC10.2.g 9004  
**Bijlagen**

2

Datum 14 november 2019

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 10.2.e

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 13 november 2019. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor autoimmuun geïnduceerde neuroinflammatie". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVC10.2.g 9004. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

**Wacht met de uitvoering van uw project**

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

**Factuur**

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

**Meer informatie**

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

**Datum:**

14 november 2019

**Aanvraagnummer:**

AVD10.2.g 9004

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

**Bijlagen:**

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur



**Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA:

10.2.g

Naam instelling of organisatie:

Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde:

10.2.e

Postbus:

10.2.g

Postcode en plaats:

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

Unithoofd

Afdeling:

Alternatives

Telefoonnummer:

10.2.e

E-mailadres:

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

10.2.e

Functie:

Adjunct-directeur

Afdeling:

Animals Science

Telefoonnummer:

10.2.e

E-mailadres:

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?

Nieuwe aanvraag

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

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

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 januari 2020  
Geplande einddatum: 1 januari 2025  
Titel project: Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor autoimmuun geïnduceerde neuroinflammatie  
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van nieuwe adjuvantia met minder of geen bijwerkingen, om autoimmuunziektes van het brein te modelleren in de resus makaak  
Naam DEC: DEC-10.2.g  
Postadres DEC: Postbus 10.2.g  
E-mailadres DEC: dec@10.2.g

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 1.350,-  
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: Adjunct Directeur  
Plaats: 10.2.g  
Datum: 12 november 2019





> Retouradres Postbus 93118 2509 AC Den Haag

10.2.g  
10.2.e  
Postbus 10.2.g  
10.2.g  
[Barcode]

**Centrale Commissie  
Dierproeven**  
Postbus 93118  
2509 AC Den Haag  
centralecommissiedierproeven.nl  
0900 28 000 28 (10 ct/min)  
info@zbo-ccd.nl

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD10.2.g 9004  
**Bijlagen**  
2

Datum 14 november 2019  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 14 november 2019  
Vervaldatum: 14 december 2019  
Factuurnummer: 199004

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD10.2.g 9004	€ 1.350,00

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

10.2.e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** donderdag 14 november 2019 09:35  
**Aan:** Kasbeheer  
**Onderwerp:** Betaalgegevens AVD 10.2.g 9004

7

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

NAW-gegevens:

10.2.g

Postbus 10.2.g

10.2.g

Factuurdatum: 14-11-2019

Factuurnummer: 199004

Aanvraagnummer: AVD 10.2.g 9004

Factuurbedrag: EUR 1.350,00

Met vriendelijke groet,

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

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

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

10.2.e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** donderdag 14 november 2019 09:36  
**Aan:** dec@10.2.g  
**Onderwerp:** Verzoek om advies over projectvergunningaanvraag AVD10.2.g  
**Bijlagen:** NTS\_10.2.g.pdf; PP\_510.2.g.pdf; Aanvraagformulier\_10.2.g.pdf; Beschrijving\_dierproeven\_1\_bijlage\_10.2.g.pdf

8

Geachte leden van DEC-10.2.g

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening (of wijziging van een vergunning) advies te geven over het project met als titel: "Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor autoimmuun geïnduceerde neuroinflammatie" en aanvraagnummer: AVD10.2.g 9004.

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

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

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

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 14-11-2019, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommegaande per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager wordt de termijn opgeschort en geeft u in uw advies aan wanneer dit is geweest. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt. Mocht u verwachten door een andere reden dan opschorting uw advies later dan 20 werkdagen na 14-11-2019 bij de CCD in te dienen, dan verzoeken wij u dit direct aan de CCD te melden.

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

Met vriendelijke groet,  
Centrale Commissie Dierproeven

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

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

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

10.2.e

**Van:** info@zbo-ccd.nl  
**Verzonden:** donderdag 14 november 2019 09:36  
**Aan:** 10.2.e  
**CC:**  
**Onderwerp:** Verzoek om advies AVD 10.2.g 9004 verstuurd aan DEC

9

Geachte meneer, mevrouw,

Op 13-11-2019 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor autoimmuun geïnduceerde neuroinflammatie" met aanvragnummer AVD 10.2.g 9004.

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

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

Met vriendelijke groet,

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

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

T: 0900 2800028  
E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

10.2.e

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** donderdag 14 november 2019 09:39  
**Aan:** 10.2.e  
**CC:**  
**Onderwerp:** OntvangstBevestiging  
**Bijlagen:** OntvangstBevestiging.pdf

10

Geachte heer 10.2.e

In de bijlage treft u de ontvangstbevestiging van uw aanvraag aan, waarnaar wij gemakshalve naar verwijzen.

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Centrale Commissie Dierproeven [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)  
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid [www.ncadierproevenbeleid.nl](http://www.ncadierproevenbeleid.nl)  
.....

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

T: 0900 2800028  
E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

10.2.e

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** donderdag 14 november 2019 09:40  
**Aan:** 10.2.e  
**Onderwerp:** Nieuwe aanvraag

11

Hoi,

Betreft: AVD 10.2.g 9004

Met vriendelijke groet,

10.2.e

Centrale Commissie Dierproeven [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)  
Nationaal Comité advies dierproevenbeleid [www.ncadierproevenbeleid.nl](http://www.ncadierproevenbeleid.nl)  
.....

Postbus 93118  
2509 AC Den Haag

**T: 0900 2800028**

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

10.2.e

**Van:** 10.2.e  
**Verzonden:** donderdag 14 november 2019 10:23  
**Aan:** info@zbo-ccd.nl  
**Onderwerp:** Re: Verzoek om advies over projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g 9004

12

**Categorieën:** DEC adviezen

Geachte leden van de CCD,

Hierbij bevestig ik de ontvangst van de projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g . Wij zullen de aanvraag in behandeling nemen en bespreken in de vergadering van 14 november 2019.

Vriendelijke groeten,

10.2.e  
10.2.e en 10.2.g

10.2.g

10.2.e

P.O. Box 10.2.g  
10.2.e [www.10.2.g](http://www.10.2.g)

---

**Van:**

**Beantwoorden - Aan:**

**Datum:** donderdag 14 november 2019 om 09:36

**Aan:** DEC

**Onderwerp:** Verzoek om advies over projectvergunningsaanvraag AVD 10.2.g 9004

Geachte leden van DEC- 10.2.g

De Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) verzoekt u in het kader van vergunningverlening (of wijziging van een vergunning) advies te geven over het project met als titel: "Ontwikkeling van nieuwe, mildere adjuvantia in een resus aap diermodel voor autoimmuun geïnduceerde neuroinflammatie" en aanvraagnummer: AVD 10.2.g 9004.

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

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

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

De CCD verzoekt u uiterlijk binnen 20 werkdagen, na 14-11-2019, uw advies bij de CCD in te dienen. Indien de aanvraag door uw commissie niet in behandeling kan worden genomen, dient u dit per ommegaande per e-mail aan de CCD te melden.

Ingeval uw commissie tussentijds aanvullende informatie wil inwinnen bij de aanvrager wordt de termijn opgeschort en geeft u in uw advies aan wanneer dit is geweest. Opschorting van de adviestermijn vindt niet plaats ingeval u ten behoeve van uw advies een onafhankelijk extern expert raadpleegt. Mocht u verwachten door een andere reden dan opschorting uw advies later dan 20 werkdagen na 14-11-2019 bij de CCD in te dienen, dan verzoeken wij u dit direct aan de CCD te melden.

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

Met vriendelijke groet,  
Centrale Commissie Dierproeven

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

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

.....  
T: 0900 2800028

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl) Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

10.2.g

