

Format Niet technische samenvatting

Let op: bij gebruik van dit word-format dient uiteindelijk alsnog het Excel-format te worden ingevuld voordat uw aanvraag vergund kan worden (zie Procesbeschrijving word-document NTS)

Tab NTS

Country	NL
Language	NI
EU submission	<input type="checkbox"/> yes <input checked="" type="checkbox"/> no
Title of the project	Onderzoek naar verbeterde vaccinatie en beschermende afweer tegen tuberculose
NTS identifier	
NTS national identifier	
Duration of the project	60 (in months)
Keywords	
Keyword 1	tuberculose
Keyword 2	vaccinatie
Keyword 3	immuniteit
Keyword 4	
Keyword 5	

Purpose(s) of the project

Objectives of the project

Volgens de Wereldgezondheidsorganisatie raken wereldwijd elke 10 seconden 3 mensen besmet, en elke minuut verliezen 3 mensen het leven ten gevolge van tuberculose. Zelfs wanneer zonder dodelijke afloop, dan nog veroorzaakt deze infectieziekte veel menselijk lijden en groot economisch verlies. Naar schatting is een kwart van de wereldbevolking drager van deze infectie, maar wordt niet ziek zolang afweer of gezondheid maar niet verzwakt.

Tuberculose (TB) treedt meestal op als gevolg van een luchtweginfectie met de bacterie *Mycobacterium tuberculosis*. Antibiotica moeten maandenlang worden ingenomen en hebben vaak ernstige bijwerkingen. Het enig beschikbare vaccin, BCG, beschermt jonge kinderen, maar werkt slecht in (jong-)volwassenen. Het is juist die laatste groep die de ziekte verspreidt.

Nieuwe vaccins zijn nodig om de voortdurende TB-epidemie en verspreiding van de ziekte te bestrijden.

Onze kennis van ziekte- en afweermechanismen is onvolledig en werkzaamheid van nieuwe behandelmethodes moet proefondervindelijk worden vastgesteld. Zulke proeven zijn vaak niet, of moeilijk, in mensen uit te voeren. Daarom is het onderzoek naar betere vaccins aangewezen op het gebruik van modellen om hun effect op infectie en ziekte te bestuderen. Door de veelzijdigheid van ziekteverloop en de complexiteit van afweer zijn er nog geen diervrije modellen die dit voldoende nabootsen. Het gebruik van proefdieren is voornamelijk noodzakelijk.

Van alle diermodellen geven niet-menselijke primaten de grootste gelijkenis in ziekteverloop en de beste vertaalbaarheid van onderzoeksgegevens naar de mens. Maar, ze worden pas ingezet wanneer eerdere resultaten het voorgestelde onderzoek ondersteunen, of als er geen ander model is dat een veronderstelde werking nabootst.

In het huidige project zullen we primair nieuwe kandidaten of strategieën voor preventieve vaccinatie in makaken onderzoeken. Om werkzaamheid vast te stellen, worden de dieren experimenteel met *M. tuberculosis* geïnfecteerd. Soms is het doel alleen gericht op de bestudering van (weefsel)specifieke reacties na behandeling, en kan infectie achterwege blijven. Soms zal een studie zich richten op het verfijnen van de modelcondities. We zullen reactiepatronen van cellen en

moleculen in de gastheer bestuderen om bescherming tegen TB beter te begrijpen of om de uitkomst van behandeling vroegtijdig te kunnen voorspellen. In voorkomende gevallen kan een voorstudie voorafgaan aan een eventueel groter opgezet experiment.

Potential benefits likely to derive from this project

De evaluatie van experimentele TB-preventie of -behandeling in makaken draagt bij aan de ontwikkeling van nieuwe, verbeterde vaccins voor de mens. Van vaccins verwachten we dat ze preventief tegen infectie en/of ziekte zullen beschermen; het liefst beter dan het huidige BCG-vaccin. Ons onderzoek stelt in staat om alleen de meest veelbelovende kandidaten te selecteren voor nader onderzoek in bewerkelijke, langdurige en kostbare klinische studies.

Door tegelijkertijd zoveel als mogelijk de reacties van de gastheer na behandeling te bestuderen, verwachten we te kunnen vaststellen welke respons de beschermende uitkomst kan voorspellen. Daartoe doen we niet alleen analyses tijdens het verloop van elke studie, maar bewaren we ook relevant materiaal voor eventueel toekomstig onderzoek. Met behulp van statistiek zullen we het verband tussen individuele reactiepatronen en de uitkomst van experimentele Mycobacterium tuberculosis infectie vaststellen, hetgeen we correlaat-analyse noemen. Voorspellende grootheden, correlaten, die we dus in de gastheer kunnen meten, noemen we ook wel biomerkers. Met een bewezen voorspeller - een biomarker - zouden we op de lange termijn niet alleen proefdieronderzoek kunnen verfijnen, maar ook de klinische ontwikkeling van nieuwe, verbeterde behandelmethodes kunnen versnellen. Bovendien zal verdiepend onderzoek naar reactiemechanismen aanknopingspunten kunnen opleveren voor de ontwikkeling van toekomstige behandelstrategieën.

Ons werk wordt voor een brede verspreiding van bevindingen gedeeld met vakgenoten, netwerkpartners en belanghebbenden, met name in het TB speur- en ontwikkelingsgebied, in de vorm van studierapporten, publicaties en voordrachten.

Uiteindelijk zal het voorgestelde werk bijdragen aan het terugdringen van sterfte en ziekte ten gevolge van tuberculose.

Predicted harms

In what procedures will the animals typically be used

Het doel is om werkzaamheid van nieuwe, experimentele, preventieve behandelmethodes tegen TB in makaken te onderzoeken. Daarom zullen, doorgaans, de dieren op enig moment aan een enkele, lage dosis (SLD) of aan herhaald-limiterende doses (RLD) van Mycobacterium tuberculosis worden blootgesteld. Niet- of controle-behandelde dieren dienen als ijkpunt van het effect van experimentele behandeling.

In de meeste gevallen zullen we ziektegevoelige resusapen gebruiken. Java apen worden doorgaans minder snel ziek en dienen voor specifieke vraagstellingen en mogelijke condities van verborgen (latente) infectie. Tenzij anders gemotiveerd, is een infectiefase van 10 tot 16 weken voldoende om in resusapen een uitkomst qua werkzaamheid af te lezen. Voor onderzoek in het 'mildere' herhaalde blootstellingsmodel of in Java apen kunnen langere vervolgperiodes van 3 tot 6 maanden na laatste blootstelling worden voorgesteld.

Voor experimentele behandeling zijn verscheidene toedieningsroutes door middel van injectie of instillatie (via de luchtwegen) relevant. Vaccins worden 1 tot 3 maal toegediend. Vaccinatiefases duren minimaal 3 maanden tot soms wel een jaar, en het interval tussen laatste vaccinatie en infectie is minimaal 9 weken.

Voor bemonstering ter bestudering van gastheerreacties zijn er verscheidene methodes, zoals bloedafname, longspoeling, lymfeklierdissectie, huidbiopsie of beenmergpunctie. Bloedafnames zullen gemiddeld niet vaker dan 1 maal per week voorkomen, longspoelingen 1 maal per maand, en beenmergpuncties 1 maal per 6 weken. Lymfeklierdissectie en huidbiopsie zullen hooguit eenmalig

worden uitgevoerd. Behandeling en bemonstering zullen zoveel als mogelijk tegelijkertijd worden gepland.

Voor functioneel onderzoek en diagnostiek zullen we röntgen- (CT) en nucleaire (PET) beeldvormingstechnieken inzetten, en gemiddeld niet vaker dan eenmaal per 2 weken.

Expected impacts/adverse effects on the animals

TB zal optreden als gevolg van experimentele infectie met *Mycobacterium tuberculosis*. Ziekte kan progressief verlopen en gepaard gaan met gewichtsverlies, verlies van eetlust, longontsteking, kortademigheid en verminderde alertheid. Deze verschijnselen zijn door verfijning van de manier van infectieuze blootstelling zeldzamer geworden. Wanneer ze toch optreden zullen ze door beperking van de studieduur en door dagelijkse welzijnsmonitoring nooit langer dan 12 weken duren.

Sufheid, desoriëntatie en misselijkheid valt, net als bij mensen, na verdoving en/of narcose te verwachten en duurt niet langer dan 24 uur.

Bijwerking van vaccinatie valt, net als bij de mens, ook in makaken te verwachten. Zo geven het standaard BCG-vaccin of sommige virale vectoren, afhankelijk van toedieningsroute en gelijk aan de mens, ook in makaken een zelf-limiterende huidreactie die enkele weken zichtbaar kan zijn en geen verdere behandeling behoeft. In het algemeen is bijwerking van vaccinatie gering en duurt waarschijnlijk (met uitzondering van de genoemde huidreacties) niet langer dan enkele dagen.

Dieren zijn gedurende de hele studie sociaal gehuisvest in duo's. Wanneer een dier als gevolg van de experimentele behandeling, te veel ongerief ondervindt dan zullen we dat dier voortijdig op humane wijze doden. Terwijl we van het voortijdig gedode dier alle onderzoeksmaten zullen veiligstellen, zal diens kooimaat alleen achterblijven

We verwachten maximaal n=240 resusapen te gebruiken (voor 6 tot 10 studies in cohortgroottes van 24 tot 40 dieren en met een gemiddelde groepsgrootte van 8), met een maximale, verwachte ongeriefsscore van 'matig'. Alle dieren worden aan het eind van de proef op humane wijze gedood. In 2 tot 3 studies verwachten we in totaal maximaal n=60 Java apen te gebruiken met een maximale, verwachte ongeriefsscore van 'matig'. Alle dieren worden aan het eind van de proef op humane wijze gedood.

Reasons for the planned fate of the animals after the procedure

Het onderzoeken van werkzaamheid houdt in dat de dieren experimenteel worden geïnfecteerd, waarna de mate van pathologie en bacteriële uitgroei in de weefsels als belangrijkste uitkomstmaten voor het effect van behandeling gelden. Als het onderzoek zich nadrukkelijk richt op de immunologische werking van een experimentele behandeling (en niet op infectie- of ziektepreventie per se) dan kan infectie achterwege blijven. Ook in die gevallen zullen aspecten van afweer in specifieke weefsels worden onderzocht (denk daarbij aan longen en luchtweg-drainerende lymfeknopen). Het onderzoek aan deze specifieke weefsels vergt dat we de dieren aan het eind van de proef op humane wijze doden.

Application of the Three Rs

1. Replacement

Als gevolg van de complexe interacties tussen ziekteverwekker en gastheer (lees: de tuberculose bacterie en het proefdier), het diverse ziekteverloop, alsook het ingewikkelde samenspel tussen verschillende elementen van het afweersysteem, zijn er geen diervrije modellen beschikbaar voor het voorgestelde onderzoek.

Er zijn diverse diersoorten voor TB-onderzoek beschikbaar. Elk heeft zijn bruikbaarheid voor specifieke vraagstellingen. Van alle beschikbare diersoorten lijken makaken, echter, het meest op de mens in alle diversiteit en complexiteit van ziektebeeld en immuniteit. Ze zijn van nature gevoelig voor infectie met *Mycobacterium tuberculosis* en evolutionair het meest verwant aan de mens.

Daarom lijken makaken het best voorspellend voor uitkomsten in de mens. Ze worden pas ingezet wanneer eerdere positieve resultaten - vaak uit knaagdieren - daartoe aanleiding geven, of wanneer zogeheten kleinere proefdieren vanwege een verondersteld werkingsmechanisme onbruikbaar zijn.

2. Reduction

Onnodig en overmatig gebruik van dieren wordt met de volgende, elkaar aanvullende maatregelen voorkomen:

Experimentele infectie is zodanig gekozen dat alle niet-behandelde controles geïnfecteerd zullen raken en ziek worden. Die controlegroep levert daarmee het ijkpunt waarop met experimentele preventieve (?) behandeling kan worden teruggedrongen.

Onze inschatting van het (maximaal) aantal benodigde dieren is gebaseerd op ervaring met het TB-onderzoeksveld en op de capaciteit van het onderzoeksinstituut om voorgestelde studies uit te voeren.

Specifieke groepsgroottes, doorgaans 8 dieren, soms meer, soms minder, (zullen) worden gemotiveerd op basis van statistische berekening en eventuele ervaringsfeiten.

Dierselectie voor een studie is gericht op het samenstellen van groepen met een zo gelijk mogelijke achtergrond om variatie in waarnemingen zoveel mogelijk te beperken.

Ons onderzoek is grotendeels ingebed in grotere, internationale netwerken. Studies worden vaak in samenwerking voorgesteld. Door discussies en/of (onafhankelijke) beoordeling van studievoorstellen vooraf, helpen dergelijke netwerken en samenwerkingsverbanden in de selectie van alleen de meest veelbelovende kandidaten voor onderzoek in makaken. Onnodige duplicatie van studies wordt hiermee - alsmede ook door literatuuronderzoek - voorkomen.

Indien nodig, zal vooraf een kleine pilotstudie worden voorgesteld. Hiermee kan haalbaarheid worden getoetst en een puntschatter voor behandelings-effect of modelconditie-effect worden verkregen. Als de pilotstudie daartoe aanleiding geeft, zal pas een grotere (vervolg)studie worden voorbereid.

In alle gevallen zullen we alert zijn op de mogelijkheid om controlegroepen van verschillende studies te combineren om zodoende het aantal benodigde dieren te verminderen.

3. Refinement

Studies zijn in de tijd beperkt door een vooraf vastgesteld eindpunt op basis van vraagstelling.

Door blootstelling aan een enkele, lage dosis (SLD) of herhaald-limiterende doses (RLD) *Mycobacterium tuberculosis*, is het ziekteverloop in resusapen over het algemeen milder.

Voor onvoorziene gevallen zijn maatregelen van kracht, inclusief dagelijkse registratie van individueel gedrag, om ongerief te herkennen en het dier voortijdig, op humane wijze, uit studie te nemen.

Humane eindpuntcriteria zijn gedefinieerd om onnodig lijden in onvoorziene gevallen, zoals onverhoopte ziekteontwikkeling, te beperken.

Alle handelingen worden, in overeenstemming met wetgeving, door bevoegd en bekwaam personeel onder verdoving uitgevoerd.

Dagelijkse interacties en trainingssessies met diervverzorgers zijn onderdeel van het vaste verrijkingprogramma.

Diertrainingen helpen ongerief door stress te beperken en precisie en waarde van waarneming ten aanzien van (afwijkend) diergedrag te vergroten.

Bemonstering wordt gelimiteerd door biologische haalbaarheid en ethische wenselijkheid. Zo is het volume van bloedmonsters binnen 4 weken beperkt tot maximaal 1%, relatief ten opzichte van lichaamsgewicht, en tot maximaal 0,7% per bloeding.

Na beenmergpunctie zal 3 dagen pijnstilling worden toegediend.

Na huidbiopsie wordt eenmalig pijnstilling toegediend.

Enig surplus aan biomateriaal wordt opgeslagen als reserve voor onvoorzien falen in een laboratoriumtest of als biobank voor toekomstig retrospectief en aanvullend onderzoek. Waar mogelijk zullen metingen in de tijd worden herhaald om de dynamiek van het ziekteproces vast te leggen, meer informatie per dier te verwerven, en de statistische betrouwbaarheid van waarneming te vergroten. Dat geldt met name voor immuundiagnostiek en, waar mogelijk, beeldvorming met behulp van PET en/of CT.

Explain the choice of species and the related life stages

Makaken zijn nauw verwant aan de mens en vertonen ook qua afweersysteem een grote gelijkheid, hetgeen onderzoek naar beschermende immuniteit (afweer) door preventieve vaccinatie versterkt. Mede ook op grond van hun natuurlijke gevoeligheid voor infectie met M. tuberculosis en de in vele facetten gelijkende manifestatie van ziekte, maakt dat aan preklinisch onderzoek in makaken een grote voorspellende waarde wordt toegeschreven.

Van makaken is het meest gerapporteerde model de resusaap, Macaca mulatta, gevolgd door de Java (of cynomolgus) makaak, Macaca fascicularis. Waar de onbehandelde resusaap na experimentele infectie doorgaans progressieve tuberculose vertoont, is - in zijn algemeenheid - de Java aap minder ziektegevoelig. Java apen vertonen ook onbehandeld latente infectie. Dit maakt dat beide species relevant zijn voor het bestuderen van verschillende facetten van humane TB of het onderzoeken van de werkzaamheid van nieuwe behandelingen.

Het enige, huidige TB-vaccin, BCG, is deels werkzaam in kinderen, maar faalt grotendeels in (jong-)volwassenen waardoor de tuberculose epidemie met zijn vele slachtoffers voortduurt. Passend bij deze primaire doelgroep in de mens, voldoen volwassen makaken aan de doelstelling van ons onderzoek.

Voor een beoordeling achteraf geselecteerd project

Project geselecteerd voor BA?	Ja(1)
Termijn voor BA	21-12-2028
Reden voor beoordeling achteraf	Bevat ernstige procedures Maakt gebruik van niet menselijke primaten Ja(1) Andere reden

Tab Purpose of the project

Doel(en) van het project

Omzettinggericht en toegepast onderzoek: besmettelijke ziekten van de mens [PT22]

Omzettinggericht en toegepast onderzoek: besmettelijke ziekten van de mens [PT22]

Tab Expected harms

What species and numbers of animals are expected to be used? What are the expected severities and the numbers of animals in each severity category (per species)?

Estimated numbers per severity				
<i>Please fill in all categories for selected species with whole numbers (0 or higher)!</i>				
Species	Non-recovery	Mild	Moderate	Severe
Rhesus monkey (Macaca mulatta) [A21]	0		240	0
Cynomolgus monkey (Macaca fascicularis) [A20]			60	
Choose a species				
Choose a species				
Choose a species				

