



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.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

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

3 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

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

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

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

Tuberculose (TB), de ziekte die wordt veroorzaakt door *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) of nauw verwante bacteriesoorten, is wereldwijd nog steeds één van de meest dodelijke infectieziekten. De laatste rapportage van de Wereld Gezondheidsorganisatie uit 2019 liet zien dat in 2018 naar schatting 1,7 miljard mensen besmet waren met *Mtb*, dat 10 miljoen mensen daadwerkelijk ziek werden en dat bijna anderhalf miljoen mensen stierven aan de gevolgen van TB. De TB epidemie heeft vooral in derdewereldlanden een grote impact op de samenleving, maar de snelle ontwikkeling van antibioticaresistente *Mtb* stammen in met name Rusland en de Baltische staten vormt ook voor Europa een groeiende bedreiging.

Behandeling van TB met antibiotica is mogelijk, maar zeer zwaar voor patiënten, omdat een kuur minimaal zes maanden tot wel 2 jaar in beslag neemt, aanzienlijke, invaliderende bijwerkingen geeft, en niet in alle gevallen de ziekte geneest (in 10 tot 20% van de gevallen komt TB binnen een jaar terug). De toename van antibioticumresistentie (anti-microbial resistance, AMR) is zeer zorgelijk. Een kwart van alle doden door infecties met antibioticaresistente micro-organismen wordt veroorzaakt door antibioticaresistente *Mtb* stammen. Daarmee is *Mtb* verantwoordelijk voor een kwart miljoen doden door antibioticaresistentie. Een bijkomend probleem is dat antibioticabehandeling de kans op re-infectie met *Mtb* vergroot (1), mogelijk via de effecten van de antibiotica op het microbiom (2).

Om de transmissiecyclus van TB te doorbreken, blijft preventie, bijvoorbeeld door prophylactische vaccinatie, de meest effectieve manier om TB te bestrijden (3, 4). Het is gebruikelijk om preventief te vaccineren met Bacille Calmette-Guérin (BCG), een levende, verzwakte stam van het aan *Mtb* verwante *M. bovis*. BCG wordt wereldwijd toegepast in vaccinatieprogramma's voor pasgeborenen en redt naar schatting meer dan honderdduizend kinderlevens per jaar, maar in (jong)volwassenen beschermt BCG niet meer tegen infectie en ziekte en dus ook niet tegen verspreiding van TB (5, 6). Verschillende internationale consortia die zich ten doel stellen om in navolging van de aanbevelingen van de WHO het wereldwijde TB probleem per 2035 te hebben teruggebracht met 95% ten opzichte van 2014, zijn bezig met de ontwikkeling van een verbeterde TB vaccinatie strategie (4).

De huidige vaccinontwikkelingsstrategieën kunnen grofweg in 3 categorieën worden ingedeeld: 1) het ontwikkelen van een verbeterd (primaire) vaccin dat BCG kan vervangen, 2) het ontwikkelen van een zogenaamd booster vaccin dat de door BCG opgewekte anti-mycobacteriële respons kan versterken, en 3) een combinatie van deze beide. De twee laatstgenoemde strategieën zijn die waar deze aanvraag – in een langetermijnperspectief – zich op richt.

Lange tijd leek het niet mogelijk om een BCG vaccinatie te versterken door op latere leeftijd nogmaals BCG te geven. Ofschoon recente data suggereren dat revaccinatie met BCG (en mogelijk ook (booster) vaccinatie met een subunit vaccin in adjuvant, H4:IC31) ziekte kan voorkomen op grond van immuundiagnostiek die wijst op een tijdelijke i.p.v. permanente conversie in de zogenoemde Quantiferon analyse, is nog niet duidelijk of dit zich vertaalt in bescherming van diegenen die gevoelig zijn voor TB (7).

Het feit dat een groot deel van de wereldbevolking bij de geboorte is gevaccineerd met BCG, heeft consequenties voor de ontwikkeling van boostervaccinatiestrategieën. De neonataal opgebouwde immuniteit door vaccinatie met BCG beïnvloedt zowel het effect van een boostervaccinatie als het verloop van de infectie met *Mtb* (8). Dit aspect wordt in de huidige diermodellen niet tot nauwelijks in acht genomen. Boostervaccinatiestrategieën worden typisch geëvalueerd in volwassen dieren, waarbij de primaire BCG vaccinatie gegeven wordt op latere leeftijd, met maar een beperkte tijd tussen de primaire BCG vaccinatie en revaccinatie of boosterimmunisatie (9).

Het immuunsysteem van pasgeborenen zit anders in elkaar dan dat van jongvolwassenen en volwassenen. Een neonatale BCG vaccinatie induceert een ander type respons dan een BCG vaccinatie in

(jong)volwassenen. Bovendien vermindert de neonataal geïnduceerde BCG respons van het adaptieve immuunsysteem gedurende het eerste levensjaar (10). Een screening na BCG vaccinatie in pasgeboren humane baby's laat zien dat de BCG respons in het bloed maximaal is tussen de 6 tot 14 weken na vaccinatie, en dat deze gedurende het eerste levensjaar weer afneemt tot beneden een detecteerbaar niveau (10). Een oorzaak daarvan kan zijn, dat de geïnduceerde respons niet de optimale karakteristieken van een TB antigeenspecifieke memory respons heeft (10). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat neonatale T-cellen hogere metabole/glycolitische activiteit vertonen dan adulte T-cellen. Een belangrijke vinding is dat als in neonatale muizen de glycolyse wordt geremd, het fenotype van de memory T-cel respons verandert in die van adulte muizen, in respons op een infectie (11).

Meer recent is ook duidelijk geworden dat BCG naast het induceren van adaptieve responsen, ook een effect heeft op het aangeboren immuunsysteem (12). Dit 'bonus' fenomeen van getrainde immuniteit van het aangeboren immuunsysteem wordt gekarakteriseerd door epigenetische en metabole herprogrammering van cellen van het aangeboren immuunsysteem, met name monocyten, macrofagen en NK-cellen en treedt voornamelijk op na infectie of vaccinatie met levende agentia. Door deze herprogrammering zijn de cellen van het aangeboren immuunsysteem beter in staat om sneller en effectiever op nieuwe infecties te reageren. Dit effect beperkt zich niet tot nieuwe infecties met dezelfde ziekteverwekker, maar resulteert ook in een effectievere afweerreactie tegen andere ziekteverwekkers. Dit is de reden dat BCG vaccinatie, maar bijvoorbeeld ook vaccinatie met het mazelenvaccin, resulteert in lagere sterfte onder kinderen dan verklaard kan worden door bescherming tegen tuberculose of mazelen alleen (13). Een mogelijk mechanisme voor dit positieve effect zou kunnen zijn dat BCG vaccinatie resulteert in veranderde transcriptie in hematopoietische stamcellen in het beenmerg, zoals is aangetoond in muizen (14). Deze stamcellen genereren monocyten en macrofagen met veranderingen op epigenetisch niveau.

Voor het onderzoek naar TB zijn diermodellen beschikbaar in zebrovissen, knaagdieren, koeien en apen (15). Ieder van deze diermodellen heeft uiteraard zijn eigen specifieke kwaliteiten en tekortkomingen (15, 16). Inmiddels zijn er ook onderzoeksgroepen actief om gecontroleerde TB infectiemodellen in de mens te ontwikkelen, maar dit onderzoek bevindt zich nog in een pril en prematuur stadium. Voor een model voor het onderzoek naar het effect van neonatale BCG vaccinatie is het belangrijk dat het proefdier grote voorspellende waarde heeft voor de mens. Een diersoort met grotere overeenkomsten met de mens, op immunologisch, pathologisch en fysiologisch gebied, is de niet-humane primaat (NHP), en dan in het bijzonder de makaken (*macaque spp*). TB infectie in makaken heeft grote overeenkomsten met TB infectie in mensen, met betrekking tot klinische symptomen, zowel pulmonair als extrapulmonair (17). Dit model wordt veel gebruikt voor TB vaccin ontwikkeling (17, 18).

Neonatale vaccinatie in diermodellen wordt tot op heden slechts op zeer beperkte schaal gedaan (19-22). Deze aanvraag richt zich op nabootsing van de klinisch relevante situatie door apen neonataal te vaccineren, zodat op jongvolwassen leeftijd revaccinatie of boosterimmunisatiestrategieën getest kunnen worden, verscheidene jaren nadat het BCG vaccin kort na geboorte is toegediend.

Vanwege de lange levensduur van de species zitten er meerdere jaren tussen de neonatale BCG vaccinatie en het bereiken van de jongvolwassen leeftijd, de leeftijd waarop de boostervaccinatie gegeven zal kunnen worden. Er is een aantal verschillende vaccinaties en vaccinatiestrategieën welke getest zal worden in de neonataal-gevaccineerde dieren op het moment dat zij de jongvolwassen leeftijd bereikt hebben. Dit kunnen nieuw te ontwikkelen vaccins zijn, welke over een aantal jaren beschikbaar zullen zijn, maar ook revaccinatie met BCG is een onderwerp van studie in de kliniek na de recente bevindingen van een verlaagd risico op TB na BCG revaccinatie in volwassen in endemische gebieden (7). Recent is beschreven dat vaccineren met BCG via een alternatieve, mucosale route, een verbeterde bescherming biedt ten opzichte van de standaard intradermale toediening (23). Terwijl een meerjarige perspectief aan de basis ligt van deze aanvraag, richt deze zich alleen op het vaccineren van pasgeboren resusapen met BCG, zodat deze als ze (jong)volwassen zijn, beschikbaar zijn voor de evaluatie van TB booster- en/of revaccinatiestrategieën.

Tevens is een meer fundamenteel wetenschappelijk doel van deze aanvraag om de immunologische signaturen en effecten van mucosale BCG vaccinatie in neonataal gevaccineerde dieren te bestuderen. Deze kennis vergroot niet alleen ons inzicht in het diermodel, maar is ook van groot belang voor de ontwikkeling van (re)vaccinatiestrategieën in de endemische gebieden waar neonatale BCG vaccinatie en tuberculose morbiditeit en mortaliteit realiteit is.

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?

Het project heeft als hoofddoel het creëren van een cohort van neonataal BCG gevaccineerde resusapen en het bestuderen van de daar uit volgende specifieke adaptieve en niet-specifieke aangeboren afweer, om in de toekomst BCG revaccinatie en/of boostervaccinatie in dit relevante model te kunnen evalueren. Als de gevaccineerde dieren de (jong)volwassen leeftijd hebben bereikt (3,5-5 jaar) zullen ze gebruikt worden om de TB boostervaccinatiestrategieën te testen. Vervolgens zullen de dieren geïnfecteerd worden met TB, om de effecten van de boostervaccinatie op het reduceren van de TB verschijnselen en/of incidentie te evalueren.

Het instituut waar dit project zal worden uitgevoerd heeft beschikking over een grote fokkolonie van resusapen. De gevaccineerde dieren zullen in de fokgroepen blijven. Op het instituut is de infrastructuur en de expertise aanwezig om TB infectie studies veilig, op DM-3+ en ML-3 niveau uit te voeren (24-28).

Resusapen bereiken gemiddeld een leeftijd van 20 jaar in het wild, maar in gevangenschap worden ze soms wel 30 jaar oud. Mannetjes bereiken de puberteit op 4-jarige leeftijd en zijn volwassen rond hun achtste jaar. Vrouwtjes bereiken de vruchtbare leeftijd als ze ongeveer 3 jaar zijn en blijven tot op hoge leeftijd reproductief. Resusapen kennen een geboorteseizoen, lopend van maart tot en met juli. Deze aanvraag omvat 5 geboorteseizoenen, zodat we een voldoende aantal resusbaby's zullen kunnen vaccineren. Vanwege de lange levensduur van de species zitten er meerdere jaren tussen de neonatale BCG vaccinatie en het bereiken van de jongvolwassen leeftijd, de leeftijd waarop de boostervaccinatie gegeven zal kunnen worden. De studies waarin de TB boostervaccinaties worden gegeven en de dieren met TB worden geïnfecteerd duren op zijn minst 6 maanden (24-28). Doordat voor de TB boostervaccinatie en TB infectiestudies cohorten van meerdere jaren samen gebruikt zullen worden, beslaat de tijdsduur tussen vaccinatie van het eerste cohort en TB infectie van het laatste cohort meer dan de toegestane maximale looptijd van een projectvergunning. Het doel van deze aanvraag is beperkt zich daarom tot het vaccineren van pasgeboren resusapen met BCG, zodat deze als ze (jong)volwassen zijn, beschikbaar zijn voor de evaluatie van TB boostervaccinatiestrategieën.

Als tweede doel heeft deze aanvraag het in kaart brengen van de responsen van het adaptieve en van het aangeboren immuunsysteem na neonatale BCG vaccinatie. Rond de piek van de door BCG geïnduceerde respons in humane baby's (10), tussen 6 en 14 weken postvaccinatie, zal een bloedsample van de dieren worden afgenomen, om de BCG respons in neonatale apen te kwantificeren en karakteriseren. De respons zal worden vergeleken met wat gepubliceerd is over BCG vaccinaties in humane baby's (10), alsmede wat er bekend is over de effecten van BCG vaccinatie in adulte NHP (9, 23, 28, 29). Mogelijk zal dat ook meer inzicht opleveren in de validiteit van neonatale versus adulte BCG vaccinatie in NHP TB studies.

BCG vaccinaties hebben geen effect op de gezondheid van de dieren en er is daarom maar een minimale impact op dierenwelzijn te verwachten. De dieren blijven in de fokkolonie en hun gezondheid en welzijn zullen worden bewaakt als onderdeel van de normale gezondheidsbewaking van de fokkolonie.

Er is reeds een projectvergunning afgegeven voor de evaluatie van vaccinatiestrategieën en behandelmethoden in een tuberculose-infectiemodel in makaken. Voor de evaluatie van booster vaccinatie

of revaccinatie in de neonataal BCG gevaccineerde resus makaken zal die projectvergunning te zijner tijd opnieuw moeten worden aangevraagd.

Referenties bij 3.1 en 3.2

- [1] Verver S, Warren RM, Beyers N, Richardson M, van der Spuy GD, Borgdorff MW, et al. Rate of reinfection tuberculosis after successful treatment is higher than rate of new tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(12):1430
- [2] Khan N, Mendonca L, Dhariwal A, Fontes G, Menzies D, Xia J, et al. Intestinal dysbiosis compromises alveolar macrophage immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Mucosal Immunol.* 2019
- [3] Hawn TR, Day TA, Scriba TJ, Hatherill M, Hanekom WA, Evans TG, et al. Tuberculosis vaccines and prevention of infection. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014;78(4):650
- [4] Abu-Raddad LJ, Sabatelli L, Achterberg JT, Sugimoto JD, Longini IM, Jr., Dye C, et al. Epidemiological benefits of more-effective tuberculosis vaccines, drugs, and diagnostics. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(33):13980
- [5] Roy A, Eisenhut M, Harris RJ, Rodrigues LC, Sridhar S, Habermann S, et al. Effect of BCG vaccination against *Mycobacterium tuberculosis* infection in children: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2014;349:g4643
- [6] Trunz BB, Fine PEM, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *The Lancet.* 2006;367(9517):1173
- [7] Nemes E, Geldenhuys H, Rozot V, Rutkowski KT, Ratangee F, Bilek N, et al. Prevention of *M. tuberculosis* Infection with H4:IC31 Vaccine or BCG Revaccination. *N Engl J Med.* 2018;379(2):138
- [8] Andersen P, Doherty TM. The success and failure of BCG - implications for a novel tuberculosis vaccine. *Nat Rev Microbiol.* 2005;3(8):656
- [9] Darrah PA, DiFazio RM, Maiello P, Gideon HP, Myers AJ, Rodgers MA, et al. Boosting BCG with proteins or rAd5 does not enhance protection against tuberculosis in rhesus macaques. *NPJ Vaccines.* 2019;4:21
- [10] Soares AP, Kwong Chung CK, Choice T, Hughes EJ, Jacobs G, van Rensburg EJ, et al. Longitudinal changes in CD4(+) T-cell memory responses induced by BCG vaccination of newborns. *J Infect Dis.* 2013;207(7):1084
- [11] Tabillas C, Wang J, Liu X, Locasale JW, Smith NL, Rudd BD. Cutting Edge: Elevated Glycolytic Metabolism Limits the Formation of Memory CD8(+) T Cells in Early Life. *J Immunol.* 2019
- [12] Freyne B, Donath S, Germano S, Gardiner K, Casalez D, Robins-Browne RM, et al. Neonatal BCG Vaccination Influences Cytokine Responses to Toll-like Receptor Ligands and Heterologous Antigens. *J Infect Dis.* 2018;217(11):1798
- [13] Moorlag S, Arts RJW, van Crevel R, Netea MG. Non-specific effects of BCG vaccine on viral infections. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(12):1473
- [14] Kaufmann E, Sanz J, Dunn JL, Khan N, Mendonca LE, Pacis A, et al. BCG Educates Hematopoietic Stem Cells to Generate Protective Innate Immunity against Tuberculosis. *Cell.* 2018;172(1-2):176
- [15] Myllymaki H, Niskanen M, Oksanen KE, Ramet M. Animal models in tuberculosis research - where is the beef? *Expert Opin Drug Discov.* 2015;10(8):871
- [16] Cardona PJ, Williams A. Experimental animal modelling for TB vaccine development. *Int J Infect Dis.* 2017;56:268
- [17] Pena JC, Ho WZ. Monkey models of tuberculosis: lessons learned. *Infect Immun.* 2015;83(3):852
- [18] [REDACTED]
- [19] Kamath AT, Rochat AF, Valenti MP, Agger EM, Lingnau K, Andersen P, et al. Adult-like anti-mycobacterial T cell and in vivo dendritic cell responses following neonatal immunization with Ag85B-ESAT-6 in the IC31 adjuvant. *PloS one.* 2008;3(11):e3683
- [20] Thom ML, McAulay M, Vordermeier HM, Clifford D, Hewinson RG, Villarreal-Ramos B, et al. Duration of immunity against *Mycobacterium bovis* following neonatal vaccination with bacillus Calmette-Guerin Danish: significant protection against infection at 12, but not 24, months. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(8):1254

- [21] Wood MP, Wood LF, Templeton M, Fisher B, Lippy A, Jones CI, et al. Transient Immune Activation in BCG-Vaccinated Infant Rhesus Macaques Is Not Sufficient to Influence Oral Simian Immunodeficiency Virus Infection. *J Infect Dis.* 2019
- [22] Ramos L, Obregon-Henao A, Henao-Tamayo M, Bowen R, Izzo A, Lunney JK, et al. Minipigs as a neonatal animal model for tuberculosis vaccine efficacy testing. *Veterinary immunology and immunopathology.* 2019;215:109884
- [23] [REDACTED]
- [25] [REDACTED]
- [27] Rahman S, Magalhaes I, Rahman J, Ahmed RK, Sizemore DR, Scanga CA, et al. Prime-boost vaccination with rBCG/rAd35 enhances CD8(+) cytolytic T-cell responses in lesions from *Mycobacterium tuberculosis*-infected primates. *Mol Med.* 2012;18:647

- [28] [REDACTED]

3.3 Belang

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

Het doel van deze aanvraag is om cohorten resusmakaken te creëren die neonataal worden gevaccineerd met BCG. Ter vergelijking zijn niet-gevaccineerde cohort-gematchte controles nodig en de dieren beschikbaar te stellen voor TB boostervaccinevaluatie en TB infectiestudies.

Het unieke van deze studie is dat binnen het instituut de infrastructuur aanwezig is om grotere cohorten neonataal BCG te vaccineren en deze dieren te laten opgroeien in grote fokgroepen die de groepsstructuur van dieren in het wild zo goed mogelijk benaderen.

Deze benadering om neonataal BCG gevaccineerde cohorten van resusapen beschikbaar te maken, wordt door het Bill & Melinda Gates Foundation gestuurde CTVD initiatief (Collaboration for TB Vaccine Discovery) en haar NHP Research Community grote waarde toegedicht. De verkregen informatie met betrekking tot de ontwikkeling van een BCG vaccinatie respons in neonatale apen, en de mogelijkheid om deze te vergelijken met wat gepubliceerd is over deze respons in humane baby's (10, 12) zal een belangrijke bijdrage leveren aan de ontwikkeling van neonatale vaccinatie strategieën.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Het project heeft als hoofddoel vaccinatie strategieën te ontwikkelen voor BCG gevaccineerde (jong)volwassenen. Zij vormen de grootste bron van verspreiding van TB. Om dit te modeleren in resusapen zijn een aantal componenten van belang:

1. BCG vaccinatie van pasgeboren resusapen en kwantificering en karakterisering van de door BCG geïnduceerde immuunrespons.
2. Vergelijking van de respons in BCG gevaccineerde dieren met niet-gevaccineerde controle dieren
3. De neonataal geïnduceerde BCG respons moet worden versterkt met een booster vaccin wanneer de dieren de jongvolwassen leeftijd (3,5 tot 5 jaar) hebben bereikt. Het effect van het boostervaccin op het reduceren van de TB verschijnselen en/of incidentie zal worden geëvalueerd door middel van een TB infectie studie. Dit deel van het project is niet beschreven in deze projectaanvraag, omdat het tijdsbeslag van het geheel langer is dan de maximum toegestane looptijd voor een projectaanvraag. Wel past deze fase van het project binnen de reeds afgegeven vergunning AVD ██████████ 20172645.

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

Resusapen worden gevaccineerd met BCG binnen 1 dag tot 6 weken na de geboorte, overeenkomstig met zoals dat ook gebeurt als onderdeel van de nationale vaccinatieprogramma's waarin BCG is opgenomen. Het effect van booster TB vaccinatie en TB infectie in gevaccineerde dieren zal vergeleken worden met dieren die niet neonataal gevaccineerd zijn met BCG. Daarom zal een cohort dieren dat opgroeit onder dezelfde omstandigheden als de BCG gevaccineerde dieren als controlegroep. Bij de gevaccineerde en niet-gevaccineerde dieren zal bloed worden afgenomen om de door BCG geïnduceerde respons te kunnen kwantificeren en karakteriseren. Dit is beschreven in type dierproef 1: Neonatale BCG vaccinatie in resusapen.

Om pasgeboren resusbaby's te kunnen vaccineren en te kunnen bloeden postvaccinatie, is het nodig om de moederdieren ook te sederen. Dit is ook beschreven in type dierproef 1.

Gevaccineerde dieren en niet-gevaccineerde cohort-gematchte dieren blijven in de fokgroepen en hun gezondheid en welzijn zullen worden bewaakt als onderdeel van de normale gezondheidsbewaking van de fokkolonie, totdat ze zullen worden gebruikt in een TB booster vaccinatie en TB infectie studie.

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.

Gestreefd wordt om per jaar aan het eind van het geboorteseizoen tussen de 20 en 30 gevaccineerde dieren te hebben, en tussen de 8 en 12 cohort-gematchte controles. Om een aantal boostervaccinatiestrategieën naast elkaar te kunnen testen en een positieve en een negatieve controlegroep te kunnen includeren, bij een groepsgrootte van 6 tot 10 dieren per groep, zullen (delen van) cohorten van 2 tot 3 geboortejaren samen in 1 studie gebruikt worden. Ook in de huidige TB vaccin studies worden dieren van verschillende geboortejaren samen in 1 studie gebruikt.

Om meerdere studies uit te kunnen voeren, zullen daarom gedurende 5 jaar tussen de 20 en 30 baby's per jaar gevaccineerd worden.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Neonatale BCG vaccinatie in resusapen
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	