

Proefdierkundig jaarverslag 2009



BPRC



INHOUDSOPGAVE

Inleiding	3
Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC	4
Traject voorafgaand aan een dierproef	4
Dierexperimenten Commissie	5
 Dierexperimenteel onderzoek	
Aantal DEC aanvragen	6
Details dierexperimenteel onderzoek	7
 Alternatieven	
Huisvesting	8
Gezondheidsbewaking	8
Training en verrijking	9
Uitgelicht: Positive Reinforcement Training	10
Unit Alternatieven	12
Alternatieven binnen de andere wetenschappelijke afdelingen	14
Deelname gremia	16

Het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) is een wetenschappelijk instituut dat zowel verkennend als toegepast biomedisch onderzoek verricht. Daarnaast levert het BPRC een actieve bijdrage aan de ontwikkeling van alternatieven voor proefdieronderzoek.

Het doel van het verkennend onderzoek is verdieping van de kennis over het ontstaan en het beloop van chronische en infectieziektes. Het doel van het toegepast onderzoek is een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van nieuwe medicijnen of behandelingen voor ernstige ziektes. Dit zijn langdurig processen die helaas –nog- niet mogelijk zijn zonder dierproeven en zij gaan dan ook vergezeld met maatschappelijke zorg over het welzijn van de proefdieren. Naast de incorporatie van de **3V** principes (**V**ervanging, **V**ermindering en **V**erfijning) in zowel het verkennend als het toegepast onderzoek, wordt er binnen het BPRC in een aparte Unit aan de ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven gewerkt.

Het BPRC onderkent de verantwoordelijkheid die de inzet van dieren ten behoeve van de menselijke gezondheid met zich meebrengt. In het kader van maatschappelijk verantwoord ondernemen (MVO) streven wij ernaar om mede middels dit proefdierkundig jaarverslag het publiek te informeren en openheid te verschaffen over de projecten waarvoor dieren worden ingezet, de rol van de dierexperimenten commissie, de aantallen dieren die ingezet zijn in 2009, alsmede over de ontwikkelingen op het gebied van alternatieven voor dierproeven. In dit jaarverslag ligt de nadruk op primaten, maar zijn ook alle cijfers verwerkt die betrekking hebben op -het geringe aantal- experimenten waarbij knaagdieren zijn ingezet.



Onderzoeksonderwerpen binnen het BPRC

De gezondheid van mensen in de ontwikkelde delen van de wereld is de afgelopen 100 jaar aanzienlijk verbeterd. Mensen leven langer en vaak in betere gezondheid. Deze verbeteringen zijn deels het gevolg van de geneesmiddelen en vaccins die in deze periode, vaak mede dankzij proefdier onderzoek, zijn ontwikkeld. Om ziektes die nog niet kunnen worden voorkomen of genezen succesvol te bestrijden is uitbreiding van onze kennis noodzakelijk. Biomedisch onderzoek vormt dan ook de basis voor de ontwikkeling van nieuwe en veilige medicijnen en therapieën.

Het BPRC is het grootste niet-commerciële primatencentrum van Europa en speelt een centrale rol bij het biomedisch onderzoek naar ernstige menselijke ziektes. Het BPRC verricht geen onderzoek voor de ontwikkeling van cosmetica (dit is in Nederland bij wet verboden), recreatieve drugs of wapens. Momenteel wordt er bij het BPRC onderzoek verricht met als doel om ziektes zoals AIDS, malaria, tuberculose, multiple sclerose, de ziekte van Parkinson en reumatoïde artritis te bestrijden. Tevens wordt er gewerkt aan medische vraagstukken zoals transplantaatafstoting. De Nederlandse wet bepaalt dat hiervoor alleen apen ingezet mogen worden als er geen geschikte alternatieven zijn. Naast onderzoek waarbij proefdieren ingezet worden, wordt er in dit kenniscentrum ook onderzoek gedaan om alternatieven voor het gebruik van proefdieren te ontwikkelen. Het BPRC heeft een actief en uitgebreid programma voor het ontwikkelen van alternatieven volgens de principes van de drie V's die staan voor Vervanging, Vermindering en Verfijning. Onderzoek naar het ontwikkelen van alternatieven is ondergebracht in een unieke, onafhankelijke Unit. Daarnaast wordt in alle andere onderzoeksafdelingen het gebruik en het ontwikkelen van alternatieven actief ondersteund en gestimuleerd.

Traject voorafgaand aan een dierproef

Voordat een dierproef uitgevoerd kan worden, is er al een lange weg afgelegd. De eerste selectie van mogelijke kandidaat-geneesmiddelen vindt altijd plaats in het laboratorium door middel van *in vitro* technologie. Hoe beter deze technologie de *in vivo* situatie benadert, des te beter de voorspellende waarde voor de eventuele werking in de mens. Na een *in vitro* testfase kunnen mogelijk interessante ideeën of moleculen in aanmerking komen voor *in vivo* testen. Zulke ideeën of moleculen kunnen binnen het BPRC, maar ook binnen andere onderzoekscentra, universiteiten of kenniscentra ontwikkeld zijn. Belangrijk is dat, ondanks al het verrichte voorwerk, er in geen geval een dierproef gestart kan worden zonder dat daarvoor een positief advies van de dierexperimenten commissie is afgegeven.

Dierexperimenten Commissie

De Wet op de Dierproeven schrijft voor dat een experiment waarbij proefdieren ingezet worden pas mag worden uitgevoerd wanneer de dierexperimenten commissie (DEC) hierover een positief advies heeft uitgebracht aan de vergunninghouder van de instelling waar de proef wordt uitgevoerd. De DEC bestaat uit deskundigen op het gebied van dierproeven, alternatieven voor dierproeven, dierenbescherming en -welzijn en toegepaste (bio-)ethiek alsmede uit niet-deskundigen die uit verschillende geledingen van de samenleving afkomstig zijn. De voorzitter van de DEC is géén BPRC werknemer. De proefdierdeskundige die krachtens artikel 14 van de wet is aangesteld bij het BPRC, is permanent adviseur van de DEC en neemt zonder stemrecht aan de DEC vergaderingen deel. Om de onafhankelijkheid van deze positie te waarborgen heeft het BPRC er voor gekozen om voor deze positie een externe kandidaat aan te stellen.

De DEC heeft de lastige taak om het te verwachten ongerief van het proefdier af te wegen tegen het wetenschappelijk belang van het experiment. Elk afzonderlijk experiment wordt in een plenaire vergadering met alle DEC leden uitgebreid besproken. Vaak heeft de commissie aanvullende informatie nodig voordat ze tot een beslissing kan komen.

Een belangrijk onderdeel van de ethische afweging die de DEC maakt is de taak om het voorstel om proefdieren in te zetten nauwgezet te toetsen op de mogelijkheid alternatieve methoden te gebruiken. Als de beoogde antwoorden ook zonder inzet van proefdieren (vervanging), of met de inzet van minder proefdieren (vermindering), of met een andere proefopzet waarbij de proefdieren minder ongerief ondervinden (verfijning), verkregen zouden kunnen worden dan zal de DEC negatief adviseren en wordt de voorgenomen dierproef niet uitgevoerd.

Aantal DEC aanvragen

In totaal zijn in 2009 door de DEC van het BPRC 60 aanvragen in behandeling genomen, waarvan 25 nieuw, en van advies voorzien. 12 van de nieuwe aanvragen werden na een eerste bespreking teruggestuurd naar de onderzoeker met het verzoek om meer informatie. Bij 8 nieuwe aanvragen werd een intentie tot een positief advies uitgebracht, maar moest de onderzoeker nog aanvullende vragen beantwoorden en aan voorwaarden voldoen, bij de overige 5 werd een positief advies uitgebracht. Uiteindelijk kregen 21 nieuwe aanvragen een positief advies; 4 aanvragen dienden in 2010 te worden afgehandeld. De overige 35 aanvragen betroffen aanpassingen op al lopende experimenten. Omdat er tijdens experimenten omstandigheden kunnen veranderen, is het soms noodzakelijk om de onderzoeksplannen tijdens de uitvoering van het experiment aan te passen. Het betreft veelal kleine wijzigingen die geen extra ongerief met zich meebrengen of soms zelfs gericht zijn op het verminderen van het ongerief. Het kan ook zijn dat de onderzoeker dient te anticiperen op de uitkomsten van een onderzoek. Toch dienen ook zulke aanpassingen door de DEC beoordeeld te worden. In totaal werd er in 2009 35 keer over zo'n aanpassing advies gevraagd; tweemaal werd er negatief geadviseerd.

Het kleine aantal negatieve adviezen kan waarschijnlijk worden toegeschreven aan een uniek voortraject waarin niet goed onderbouwde onderzoeksvoorstellen al worden uitgefilterd. Onderzoekers dienen voorgenomen experimenten aan de hand van een uitgebreid formulier zeer nauwkeurig te beschrijven, alsmede de mogelijkheden en onmogelijkheden tot het gebruik van alternatieven te verkennen en te onderbouwen. Deze experimenten zijn daarvoor vaak al op wetenschappelijke kwaliteit beoordeeld en gevalideerd door collega's in het onderzoeksveld. Vervolgens wordt de aanvraag door de proefdierdeskundige en door een door het BPRC ingestelde interne leescommissie op volledigheid nagekeken voordat het uiteindelijk voor advies wordt ingediend bij de DEC. De kans dat hier dan nog slecht doordachte of ethisch onafgewogen voorstellen tussen zitten is daarmee buitengewoon gering geworden.

Details dierexperimenteel onderzoek

In totaal werden er in 2009 31 studies bij het BPRC verricht waarbij in totaal 457 proefdieren ingezet zijn. Meer specifiek zijn er 227 resusmakaken ingezet in 25 studies, 45 marmosetapen (ook bekend als witoorpenseelaapjes) in 4 studies, en 196 knaagdieren in 2 studies.

Bij het BPRC worden experimenten verricht die de volgende doelen dienen: onderzoek m.b.t. de mens (pre-klinisch onderzoek zoals de ontwikkeling van vaccins en geneesmiddelen) en onderzoek met als doel een antwoord te krijgen op wetenschappelijke vragen (hier wordt bijvoorbeeld ook het onderzoek naar het gedrag van apen onder gecategoriseerd).

Doelen	Resusmakaken	Marmosets	Knaagdieren
Onderzoek m.b.t. de mens	211	29	176
Wetenschappelijke vraag	16	16	20

Aantallen ingezette dieren per doel. Geeft weer hoeveel dieren voor de verschillende onderzoeksdoelen zijn gebruikt.

Een belangrijke factor voor het advies dat een DEC geeft, is het te verwachten ongerief voor de ingezette proefdieren. Daarnaast houdt de DEC bij het bepalen van het advies ook rekening met de duur van het ongerief. Beiden zijn afhankelijk van de aard van het experiment. Hoe hoger en langer het te verwachten ongerief, des te zwaarwegender moeten de wetenschappelijke en volksgezondheid belangen zijn om het experiment te mogen uitvoeren. Ondanks dat ongerief moeilijk is te kwantificeren blijken de volgende categorieën in de praktijk goed bruikbaar:

1, gering ongerief (zoals een enkele bloedafname, maar ook onnatuurlijke huisvesting); 2, gering tot matig ongerief; 3, matig ongerief (zoals frequente bloedafnames en vaccinatie); 4, matig tot ernstig ongerief; 5, ernstig ongerief (zoals ziekte verschijnselen van AIDS, tuberculosis, artritis); 6, zeer ernstig ongerief. Onderzoek waarbij zeer ernstig ongerief vooraf wordt ingeschat wordt niet geaccepteerd binnen het BPRC. Soms verergeren ziektesymptomen echter zeer snel waardoor dieren gedurende korte tijd toch aan deze mate van ongerief blootgesteld raken.

Ontvangen ongerief	Resusmakaken	Marmosets	Knaagdieren
Gering	5	0	176
Gering/matig	20	16	20
Matig	100	0	0
Matig/ernstig	11	15	0
Ernstig	89	14	0
Zeer ernstig	2	0	0

Ingeschat ongerief ondergaan door ingezette dieren. Hier is per diersoort het ontvangen ongerief gespecificeerd.

ALTERNATIVES

Huisvesting

De huisvesting en samenstelling van de verschillende fok- en experimentele groepen bij het BPRC staat onder leiding van de koloniemanager die hierover overleg heeft met de dierenartsen en de genetici. Daarnaast wordt de koloniemanager ondersteund door een diertrainer en gespecialiseerde diervverzorgers die de introducties van nieuwe dieren verzorgen. Bij het samenstellen van nieuwe groepen of het introduceren van nieuwe dieren in een groep spelen erfelijke factoren van de dieren, hun gezondheidsstatus en compatibiliteit een belangrijke rol.

In 2009 waren er 30 actieve fokgroepen van resus apen met daarin 162 geboortes en 24 actieve fokgroepen van marmoset aapjes met daarin 55 geboortes. In 2009 zijn geen dieren aangekocht van elders. Dit jaar zijn de Java apen van de Universiteit van Utrecht overgekomen naar hun nieuwe huisvesting bij het BPRC en zijn de eerste gedragsstudies en cursussen uitgevoerd. De Java apen hebben zich snel aangepast en er zijn inmiddels al een aantal jongen geboren.



De fokkolonie is inmiddels volledig gehuisvest in de nieuwe faciliteiten, waarbij alle dieren vrij toegang hebben tot grote binnen- en buitenverblijven. Ook de dieren die deelnemen aan een experiment worden zo veel mogelijk sociaal gehuisvest. De nieuwbouw van faciliteiten waar experimenten plaats kunnen vinden vordert gestaag en zullen naar verwachting in 2010 in gebruik genomen worden. In 2009 is hard gewerkt aan het ontwerpen van nieuwe kooien voor deze experimentele faciliteiten. Primair uitgangspunt daarbij was de nieuwe EU richtlijn, maar besloten is om de kooien groter te maken dan daarin voorgeschreven. Na een aantal proefontwerpen is de productie van de nieuwe kooien in volle gang. Naar verwachting zullen alle dieren in experiment vanaf 2011 in deze moderne, grote kooien gehuisvest zijn.

Gezondheidsbewaking

Diergezondheid is een voortdurend aandachtspunt. Het BPRC heeft 3 dierenartsen, één paraveterinair en één assistent paraveterinair in dienst. Alle dieren in de kolonie ondergaan minimaal éénmaal per jaar een gezondheidscontrole. Wanneer dieren deelnemen aan een studie, wordt voor iedere studie een extra gezondheidscontrole uitgevoerd om te voorkomen dat dieren door evt. gezondheidsproblemen uit zouden kunnen vallen. Door de aanwezigheid van een eigen microbiologisch, klinisch-chemisch en hematologisch laboratorium kunnen alle dieren snel en efficiënt gecontroleerd worden op gezondheidsproblemen of afwijkingen. Naast optimaal koloniemanagement, borgt het bovenstaande de selectie van de meest geschikte dieren voor studies (zie ook “Alternatieven binnen de andere

wetenschappelijke afdelingen”) en voorkomt het dat dieren die voor een specifieke studie niet of minder geschikt zijn geselecteerd worden. Dit draagt sterk bij aan de vermindering van het aantal benodigde dieren.

De dierenartsen dragen ook zorg voor het verzorgen van eventuele zieke en gewonde dieren. De goede medische verzorging, in combinatie met de dagelijkse verzorging zorgt er voor dat in de fokkolonie een aantal zeer oude dieren die belangrijk zijn voor de stabiliteit van de groepen, aanwezig zijn.

Training en verrijking

Het trainings- en verrijkingsprogramma van de dieren zijn belangrijke onderdelen binnen het BPRC. Een full-time diertrainer is actief bezig met het opleiden van diervverzorgers om de dieren optimaal te trainen met betrekking tot het verrichten een aantal handelingen. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van Positive Reinforcement Training (PRT) (zie ook “Uitgelicht”). Door PRT kunnen een aantal handelingen met de dieren, zoals de dieren van elkaar scheiden, ze wegen of het toedienen van medicijnen, met zo min mogelijk stress worden uitgevoerd.

Verrijking van de leefomgeving is een continu aandachtspunt. In 2009 is er naast het verrijkingshandboek voor makaken, een verrijkingshandboek voor marmosets geschreven. Er wordt gewerkt aan een Engelse vertaling hiervan, die naar verwachting begin 2011 uitkomt, met de bedoeling dat dit handboek ook in andere –internationale- primatencentra maatgevend wordt.



Uitgelicht: Positive Reinforcement Training

Binnen het BPRC wordt veel waarde gehecht aan dierenwelzijn en welzijnsverbetering. Diertraining draagt hier aan bij doordat het stress vermindert tijdens het uitvoeren van getrainde handelingen doordat de keuze en controle over deze handelingen bij het dier zelf liggen.

Het BPRC is sinds 2006 zeer actief betrokken bij het door de EU gesteunde EUPRIM-Net, een netwerk waar 8 Europese primatencentra bij betrokken zijn. Hierbinnen wordt onder andere het gebruik van Positive Reinforcement Training (PRT) binnen primatencentra gestimuleerd. PRT is een trainingsvorm die erop gericht is om goed gedrag te belonen i.p.v. slecht gedrag te straffen. Daarmee is het zeer arbeidsintensief, maar ook zeer effectief. Het BPRC heeft PRT opgenomen in de dagelijkse routine voor diervverzorging. Verschillende medewerkers hebben deelgenomen aan diverse diertrainingscursussen, waaronder EUPRIM-Net cursussen over PRT van non-humane primaten en “Chicken Camp” cursussen van Bob Bailey en Marie Fogelquist.

In 2009 is een fulltime diertrainer aangenomen om de bestaande diertrainingsprogramma's door te ontwikkelen en om het diervverzorgende en diertrainende personeel aan te sturen tijdens de uitvoering van diertraining. Sindsdien zijn diverse trainingsprotocollen opgesteld en zijn methodieken voor het uitvoeren van PRT vastgelegd in 'standard operating procedures' (SOP). Diertraining is hiermee een dagelijkse routine geworden in de verzorging van onze primaten. Zo wordt dieren in de fokgroepen aangeleerd om vrijwillig in een bepaald deel van de kooi te komen zitten, waar zij vervolgens van de groep gescheiden kunnen worden. Nadat dieren apart zitten kunnen andere taken getraind worden, waaronder het op een weegschaal gaan zitten en het uit een spuit drinken. Op deze wijze kunnen specifieke zaken zoals het bijhouden van de gewichtsontwikkeling of het verstrekken van een goede medicatie aan dieren op een stressloze wijze plaatsvinden zonder interventie in de bestaande sociale groep. Naast de veterinaire waarde, zijn dit soort trainingen welzijnsbevorderend. De dieren vinden de training over het algemeen aantrekkelijk om te doen (ze doen graag mee) en het geeft ze zo ook een stuk verrijking. PRT wordt niet alleen toegepast in de fokgroepen, maar ook uitvoerig in de verzorging van primaten die onder experimentele protocollen vallen. Onder anderen separatietraining en targettraining voor het verplaatsen van dieren door de kooi heen zijn hier van speciaal belang. Het complete diertrainingsprogramma is dusdanig opgesteld dat dieren in sociale fokgroepen en later in de kleinere sociale groepen nieuwe getrainde handelingen aangeleerd krijgen, welke in de experimentele setting herhaald en geperfectioneerd kunnen worden.

In samenwerking met onze EUPRIM-Net partners is de voorlichtingsfilm 'Training Laboratory Primates' uitgebracht. BPRC heeft voor deze film verschillende handelingen, zoals het volgen van een target naar een specifiek gedeelte van de kooi en het wegen van dieren door op een weegschaal te komen zitten, door bij het BPRC getrainde dieren gefilmd.

De afgelopen jaren zijn over dit onderwerp verschillende posters gepresenteerd tijdens de Biotechnische Dagen, georganiseerd door de Biotechnische Vereniging.

- Het trainen van resusapen in sociale groepen.
- Implementatie van de 3V's:
Bepaling van lichaamsgewicht van penseelapen in sociale fokgroepen.
- Het trainen van jonge resusapen in duohuisvesting.
- Implementatie van de 3V's: Verfijning van bloedafnames bij witoorpenseelapen.

Op deze wijze communiceert het BPRC naar anderen een aantal "best-practices". Het BPRC verzorgt daarnaast, mede onder de auspiciën van EUPRIM, ook nationale cursussen.



Unit Alternatieven

Binnen de Unit Alternatieven wordt wetenschappelijk onderzoek verricht met als doel het vervangen, verminderen of verfijnen van dierexperimenteel onderzoek. Daarnaast fungeert de Unit Alternatieven als centrale communicatiebron voor de onderwerpen die te maken hebben met alternatieven voor dierproeven binnen het BPRC en wordt actief bijgedragen aan het publieke debat over dierproeven en de alternatieven daarvoor. Dit gebeurt mede middels publicatie van dit proefdierkundig jaarverslag.

Het wetenschappelijk onderzoek binnen de Unit Alternatieven is georganiseerd langs twee hoofdlijnen.

De eerste onderzoekslijn is gericht op het ontwikkelen van *in vitro* methodiek die ingezet kan worden om experimenten met levende dieren te vervangen, te verminderen of te verfijnen. Veel teststoffen hebben effecten op bepaalde celtypen. Door kweekmethoden op te zetten voor deze specifieke celtypen (middels primaire celweek of stamcel technologie) kunnen kandidaat teststoffen in een *pre in vivo* fase op deze celweken getest worden. Primaire celweken worden opgezet vanuit bloed of stukjes dierlijk of menselijk materiaal zoals verkregen uit biopsies of van donoren. Belangrijke notie daarbij is dat er nooit dieren specifiek geofferd worden voor de start van deze experimenten, maar dat er altijd sprake is van dieren die vanwege ouderdom of beëindiging van een ander experiment ge-euthanaseerd worden. In tegenstelling tot het werk met cellijnen zijn deze kweeksystemen vaak kortdurend en eindig. Toch hebben primaire celweken vaak een betere voorspellende waarde dan cellijnen en is het dus de tijd en moeite waard om deze bij herhaling op te zetten. Het belangrijkste voordeel van cellijnen, hun onsterfelijkheid, is namelijk tevens hun belangrijkste nadeel. Onsterfelijke cellijnen verliezen na verloop van tijd hun cel-specifieke eigenschappen en lijken dan nog het meest op tumorcellen waardoor het testen van bepaalde ideeën of behandelingsmethoden niet goed meer mogelijk is.

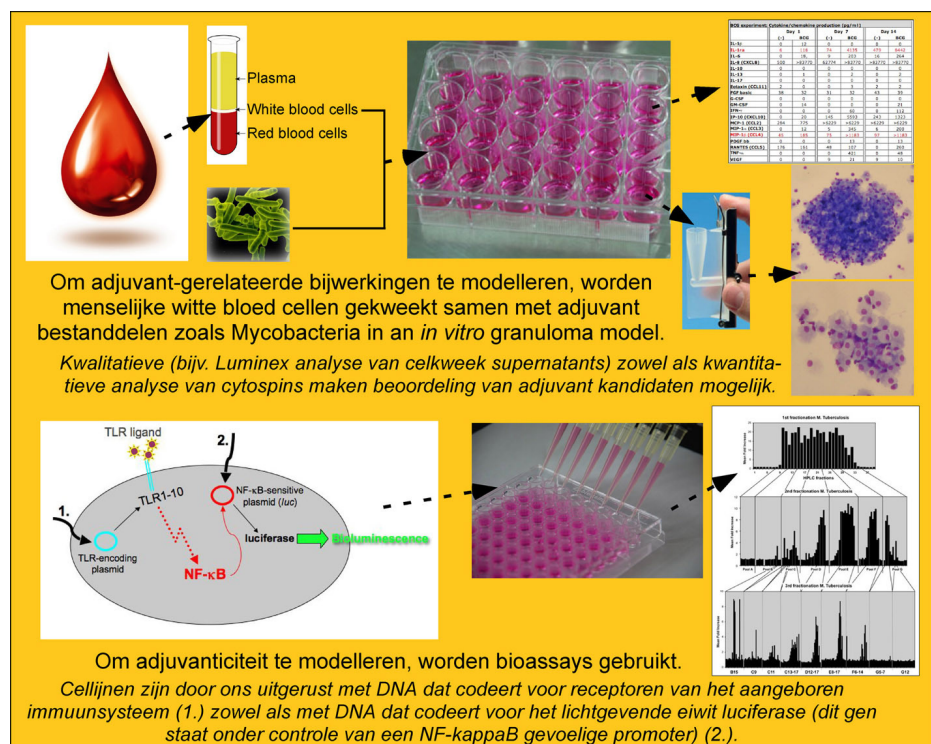
In 2009 is uitgebreid gebruik gemaakt van in voorgaande jaren ontwikkelde technologieën waarbij met name cellen uit het centraal zenuwstelsel gekweekt zijn (astrocyten en microglia) alsmede cellen die een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem (macrofagen en dendritische cellen opgekweekt uit bloed en beenmerg). Studies met deze celtypen hebben niet alleen geleid tot verschillende fundamenteel nieuwe inzichten, maar hebben ook hun nut als *pre in vivo* testfase bewezen. *In vitro* experimenten waaruit bleek dat bepaalde teststoffen zeer waarschijnlijk niet actief zouden zijn in het dier hebben direct geleid tot een vermindering van het aantal dieren in voorgenomen *in vivo* experimenten. Ons voornemen is om *in vitro* systemen te ontwikkelen met toenemende complexiteit (zoals bijv. het in kweek nemen van verschillende, met elkaar communicerende cellen of zeer dunne plakjes weefsel: zie ook “Alternatieven binnen de andere wetenschappelijke afdelingen: Parasitologie”) om de werkelijkheid op die manier zo goed mogelijk te benaderen. Ultiem doel is om de diermodellen uiteindelijk geheel te kunnen vervangen door *in vitro* methoden.

Een tweede onderzoekslijn is gericht op verfijning van de immunisatie protocollen binnen het instituut. Om het immuunsysteem extra te activeren wordt er bij mensen en proefdieren vaak gebruik gemaakt van adjuvantia. Eén van de krachtigste adjuvantia die bij proefdieren gebruikt wordt is compleet Freund's adjuvant (CFA). Helaas gaat het gebruik van dit adjuvant vaak gepaard met ongewenste bijwerkingen zoals ontstekingen van de injectieplaats (zie ook "Alternatieven binnen de andere wetenschappelijke afdelingen: Immunobiologie"). Binnen de Unit wordt op verschillende manieren gewerkt aan de vervanging van CFA door een adjuvant met vergelijkbare werking maar met minder of geen bijwerkingen.

Om de ongewenste bijwerkingen te modelleren hebben wij in de afgelopen jaren een *in vitro* granuloma model opgezet, waarvoor menselijk bloed gebruikt wordt. Om de gewenste immuunstimulatorische werking van een adjuvant te kunnen testen, zijn *in vitro* technieken opgezet die dienen als model voor het aangeboren immuunsysteem. Het gaat hier om bioassays die gebaseerd zijn op zelfontworpen cellijnen uitgerust met moleculen van het aangeboren immuunsysteem in combinatie met lichtgevend eiwit. Bij activatie geven deze cellen voor ons meetbaar licht af. In 2009 hebben we het arsenaal aan beschikbare bioassays aanmerkelijk uitgebreid en getest en de resultaten zijn gebruikt in verschillende publicaties. Beide technieken zijn volledig proefdiervrij en worden nu gebruikt in top-down en bottom-up benaderingen.

Bij de top-down benadering nemen we het oorspronkelijke CFA als uitgangspunt en proberen we daar, middels mutatietechnologie, kleine veranderingen in aan te brengen om zodoende de onwenselijke bijverschijnselen te verminderen. Bij de bottom-up benadering is het oorspronkelijke CFA in zeer kleine onderdelen opgesplitst en worden deze onderdelen allen eerst afzonderlijk in bioassays getest op de gewenste immuunstimulatorische activiteit. Onderdelen die immuno-actief actief zijn zouden dan evt. als basisbouwsteen voor een nieuw adjuvant gebruikt kunnen worden. In 2009 zijn er een aantal vorderingen

gemaakt in deze richting, die in 2010/2011 zouden moeten kunnen leiden tot de eerste pogingen om met een testbaar alternatief te komen voor CFA. Aangezien CFA behalve in apen ook in veel andere proefdieren gebruikt wordt, heeft een eventueel succes om CFA bijwerkingsvrij te krijgen waarschijnlijk ook implicaties voor vele andere proefdieren.



Alternatieven binnen de andere wetenschappelijke afdelingen

De 3V's binnen het BPRC hebben niet exclusief onderdak bij de Unit Alternatieven, maar worden ook binnen de andere onderzoeksafdelingen toegepast.

Binnen de afdeling **Vergelijkende Genetica en Verfijning** wordt uitsluitend gewerkt met *in vitro* technologieën. Het DNA voor genetische bepalingen wordt verkregen uit een bloedmonster tijdens de jaarlijkse gezondheidsbewaking. Verschillende genetische kenmerken bepalen de gevoeligheid voor of resistentie tegen bepaalde ziektes. Veel van deze kenmerken worden gecodeerd door de genen (erfelijk materiaal) van het Major Histocompatibiliteits Complex (MHC) dat bijzonder veel variatie vertoont. Voor het bepalen van al deze allelen (varianties van genen in de populatie) is een techniek ontwikkeld, die het mogelijk maakt om dergelijke analyses accuraat, snel en met kleine hoeveelheden materiaal uit te voeren. Bij deze techniek wordt er gebruik gemaakt van het lengte verschil van microsatellieten. Deze microsatellieten bestaan uit korte stukjes DNA, namelijk twee tot zes nucleotiden (bouwstenen van het DNA), die vaak herhaald worden. Het aantal herhalingen (repeats) is erfelijk en daardoor typerend voor een individu. Een aantal van deze merkers bevinden zich in, of in de buurt van, MHC genen. Het gevolg is dat bepaalde microsatelliet profielen kenmerkend zijn voor bepaalde MHC types. Omdat de lengtes makkelijk te bepalen zijn, kunnen de genetische kenmerken van de dieren snel en efficiënt vastgesteld worden. Dankzij dit onderzoek kunnen dieren worden uitgezocht die geschikt zijn bijvoorbeeld voor transplantatieonderzoek, maar kunnen ook ook dieren die ongevoelig zijn voor bepaalde ziektes voor deelname aan experimenten worden uitgesloten. Dit leidt direct tot een vermindering van het aantal ingezette dieren.

In de voorafgaande jaren hebben wij deze methode gebruikt om een bepaalde groep van MHC genen te bepalen (Mamu-DRB). In 2009 is het gelukt om bovendien een andere groep van MHC genen op deze manier te typeren (Mamu-A). Allebei de groepen van genen konden ook in andere makaak soorten zoals in de Java aap bepaald worden. De Java aap wordt namelijk – hoewel niet binnen het BPRC – door veel wetenschappers als preklinisch model benut. De microsatellieten techniek is daarbuiten ook succesvol gebruikt in het kader van het onderzoek naar reumatoïde artritis.

In het proefdierkundig jaarverslag van 2008 rapporteerde de afdeling **Immunobiologie** over de ontwikkeling van een experimenteel model voor multiple sclerose (MS) in klauwaapjes (marmoset, *Callithrix jacchus*) door immunisatie met een 23-meer peptide in incompleet Freund's adjuvant (IFA). Hoewel dit model een aanmerkelijke verfijning is ten opzichte van het oude, met compleet Freund's adjuvant (CFA)-geïnduceerde model, was nog niet geheel duidelijk of het model nu nog steeds bruikbaar was. Daarvoor diende eerst de validiteit voor de humane ziekte te worden vastgesteld. In het afgelopen jaar hebben we de pathologie verder gekarakteriseerd en het immunologisch mechanisme dat tot pathologie en neurologische defecten leidt, verder gekarakteriseerd. De conclusie is nu gerechtvaardigd dat het model zeer bruikbaar is voor de ontrafeling van de rol van autoreactieve T-cellen. De bijdrage van B-cellen, die een belangrijke rol lijken te spelen in de pathogenese van MS,

is echter nog onduidelijk. Door ontwikkeling van micro-technieken voor immunomonitoring kan meer longitudinale informatie uit minder dieren worden verzameld. In het afgelopen jaar is een breed panel van kwantitatieve PCR assays ontwikkeld voor cytokines die van belang zijn in de pathogenese van MS om zo meer data uit minder dieren te kunnen verkrijgen.

In navolging van eerdere jaren wordt er binnen de afdeling **Virologie** gewerkt volgens het principe van de 3V's. Zo is de afdeling in 2009 door het Amerikaanse Bill and Melinda Gates Foundation geaccrediteerd om T-cel immuun assays uit te voeren met materiaal afkomstig uit non-humane primaten. Dit betekent dat ook externe onderzoekscentra materialen uit hun studies naar ons toe kunnen sturen om verschillende testen te laten uitvoeren. De gegevens verkregen uit deze assays worden nu internationaal erkend. Op deze manier wordt, door het erkennen van de uit te voeren assays op een andere lokatie, bijgedragen aan het verminderen van het gebruik van non-humane primaten wereldwijd. Verder blijven we zoveel mogelijk controle groepen in vaccine studies delen wat ook weer leidt tot een vermindering in het aantal proefdieren maar waarbij toch voldoende data voor statistische analyses worden gerealiseerd.

Verfijning wordt bereikt door te streven naar vermindering van invasieve ingrepen/handelingen m.n. bij verschillende vaccinatie toedieningsroutes. Bovendien zorgt het bepalen van geproduceerde cytokines m.b.v. de nieuw opgezette Luminex technologie voor een toename van de hoeveelheid informatie die verkregen wordt per proefdier.

De in 2008 door de afdeling **Parasitologie** in het kader van de 3V's gerapporteerde nieuwe onderzoekslijn, waarin de slapende stadia van de malariaparasiet in de lever worden bestudeerd om geneesmiddelen te kunnen ontwikkelen, is verder uitgebreid. Het nieuw ontwikkelde *in vitro* leverstadium kweekstelsel van de malariaparasiet *Plasmodium cynomolgi* wordt nu gebruikt om nieuwe middelen die mogelijk slapende leverstadium parasieten doden te testen. Op deze manier zijn inmiddels ruim 60 middelen *in vitro* getest, waar dit vroeger uitsluitend *in vivo* in (levende) resusapen mogelijk was geweest. Er zijn ondertussen m.b.v. deze methodiek een aantal kandidaten gevonden die aangrijpen op de slapende parasieten *in vitro* welke nu verder onderzocht worden. Om op termijn het aantal resusapen dat nodig is voor de infectie van malaria muggen verder te verminderen, is begonnen met een programma om malariaparasieten die uit de mug worden geïsoleerd in te vriezen. Daarnaast is door de afdeling Parasitologie onderzoek uitgevoerd naar het vinden van alternatieve (eerdere) eindpunten in dierexperimenten. Er is een aantal indicatoren geïdentificeerd die het beloop van een tuberculose infectie mogelijk kunnen voorspellen. Door deze indicatoren geregeld over de tijd te meten kunnen dieren eerder uit een studie genomen worden bij experimenten waarin de effectiviteit van nieuwe tuberculose vaccins getest wordt. Hierdoor vermindert de hoeveelheid ongerief die door de dieren wordt ondergaan. Deze nieuwe methode wordt op dit moment verder gevalideerd.

Deelname gremia

Naast het inpassen van de 3V's binnen de eigen organisatie participeert het BPRC ook in verschillende (inter)nationale gremia die zich bezighouden met proefdiergebruik. BPRC dierverzorgers, dierenartsen en ethologen nemen actief deel aan verschillende (inter)nationale meetings en congressen waarbij ervaringen met vakgenoten uitgewisseld worden en zijn actief betrokken bij nationale organisaties zoals de Biotechnische Vereniging en de Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde. De secretaris van de DEC van het BPRC heeft zitting in het bestuur van de overkoepelende organisatie van DEC's in Nederland: de NV-DEC. Deze organisatie zet zich vooral in voor scholing en bijscholing van DEC leden.

Het BPRC biedt studenten de mogelijkheid om hun (afstudeer)stage op het BPRC uit te voeren. Studenten van VMBO, MBO, HBO en Universiteiten maken hiervan veelvuldig gebruik. Verder worden er regelmatig rondleidingen verzorgd aan geïnteresseerden, zoals scholieren en studenten. Het afgelopen jaar hebben ongeveer 500 mensen van deze mogelijkheid gebruik gemaakt. Daarnaast verschaft het BPRC op verzoek informatie aan de Stichting Informatie Dierproeven (www.stichtinginformatiedierproeven.nl) en levert het sprekers voor debatten over proefdiergebruik. Internationaal heeft het BPRC een actieve rol in de initiatieven die georganiseerd worden door het UK National Centre for 3Rs (NC3Rs: www.nc3rs.org.uk) om het gebruik van alternatieven te stimuleren (Expert working group 'Non-human primates in monoclonal antibody studies'), in 2009 heeft dit geresulteerd in een publicatie met aanbevelingen om het gebruik van apen terug te brengen (Chapman, K. et al. Preclinical development of monoclonal antibodies: considerations for the use of non-human primates. mAbs 1(5), 505-516, 2009).

