

VERTROUWELIJK



**JAARVERSLAG
DIEREXPERIMENTENCOMMISSIE
SANQUIN**

2002

Secretaris DEC

Index

Onderwerp:	bladzijde:
1. Samenstelling DEC	3
2. Activiteiten DEC	3
3. Werkwijze toetsing	6
4. Toetsing dierexperimenteel onderzoek	7

1. Samenstelling DEC

De samenstelling van de dierexperimentencommissie (DEC) van Sanquin is gedurende het verslagjaar ongewijzigd gebleven en zag er als volgt uit:

Leden	Organisatie:	Deskundigheid op het gebied van:
1. [REDACTED]	Extern	Ethische toetsing
2. [REDACTED]	Extern	Proefdieren
3. [REDACTED]	Extern	Dierproeven
4. [REDACTED]	Sanquin	Alternatieven
5. [REDACTED]	Sanquin	Proefdieren en alternatieven
6. [REDACTED]	Sanquin	Proefdieren.
7. [REDACTED]	Sanquin	Dierproeven.
8. [REDACTED]	Sanquin	art-14 functionaris i.o

* met ondersteuning van [REDACTED] (proefdierdeskundige NKT)

2. Activiteiten DEC

De dierexperimentencommissie hield in 2002 vier plenaire bijeenkomsten waarin aanmeldingen voor proefdieronderzoek getoetst werden. Daarnaast werd problematiek van uiteenlopende aard betreffende proefdieronderzoek, relevante regelgeving en het functioneren van de DEC besproken. Hierbij kwamen de volgende zaken aan de orde:

Aanpassing DEC-protocol

Aan de hand van opmerkingen gemaakt door de Inspectiedienst, diende het DEC-protocol in het begin van het verslagjaar op een aantal onderdelen te worden aangepast. Zo diende de onderzoeker in het aangepaste protocol aan te geven wie belast is met de behandeling en de verzorging van de proefdieren. In overleg met de Inspectiedienst werd besloten dat op deze vraag altijd de volgende standaardzin kan worden ingevuld: "Ex artikel 12 WOD bevoegde medewerkers van Sanquin". Dit omdat binnen Sanquin al jaren het beleid wordt gevoerd dat alleen artikel 12 bevoegde personeelsleden van de afdeling PDH zich met de verzorging en behandeling van proefdieren mogen bezighouden. Ook werd de vraag toegevoegd of de onderzoeker specifieke eisen stelt aan de herkomst van de proefdieren. Indien de onderzoeker op dit punt aangeeft dat er geen specifieke eisen gesteld worden, zullen de proefdieren, te allen tijde, bij een, door de art.14 functionaris en het hoofd PDH, goedgekeurde leverancier worden besteld. Een derde aanpassing van het protocol betrof de vraag of het toegestaan is om dieren te gebruiken die reeds in ander dierexperimenteel onderzoek zijn toegepast. Indien op deze vraag bevestigend wordt geantwoord en er geschikte dieren voorhanden zijn, zullen de medewerkers PDH zorg dragen dat de dieren worden hergebruikt, mits de vorige onderzoeker heeft bevestigd

dat er vanuit zijn optiek geen bezwaren bestaan tegen hergebruik. Hierbij wordt er natuurlijk op toegezien dat de betrokken dieren niet mogen worden hergebruikt in geval van onderzoek met ernstig ongerief (code 5).

Geldigheidstermijn DEC-protocol

In het voorgaande DEC-verslag werd melding gedaan van een termijnverlenging van specifieke DEC-protocollen. In het begin van dit verslagjaar, heeft de DEC-Sanquin besloten tot een termijnverlenging van vier jaar, mits dit standaardonderzoek zou betreffen. In dit kader is door het hoofd PDH een lijst samengesteld waarin de betreffende standaardonderzoeken worden gespecificeerd. Voor onderzoeken die buiten deze specificatie vallen, geldt als criterium, om goedkeuring te krijgen voor een periode langer dan een jaar (met een maximum van 4 jaar), dat het om een afgerond onderzoek dient te gaan. Dit aspect wordt per protocol door de DEC bekeken en al dan niet naar goedgevonden bijgesteld.

Criteria en begrenzingen van een pilotstudy

Binnen Sanquin worden pilotstudy's middels het standaard formaat van het reguliere DEC-protocol aangevraagd. Omdat het om een pilotstudy gaat behoeft dit protocol alleen te worden beoordeeld door de artikel 14 functionaris en het hoofd Proefdierenhuis. Indien er geen bezwaren zijn aan de kant van deze functionarissen, kan een pilotstudy worden gestart. De DEC ontvangt dan bij de eerstvolgende vergadering het protocol ter kennisgeving. Aangezien voor dit type onderzoek de integrale DEC dus pas na initiatie van het experiment wordt geïnformeerd, is het van wezenlijk belang om een goede definitie van een pilotstudy vast te stellen. Hierover is binnen de DEC-Sanquin uitgebreid gesproken en bleek het lastig te zijn om hiervoor goede criteria te vinden. In ieder geval werd unaniem vastgesteld dat een beperking moest gelden voor de ernst van het ongerief. Deze werd vastgesteld op maximaal 3 (matig). Ook werd unaniem overeengekomen dat een pilotstudy maar 1 keer uitgevoerd mag worden om te vermijden dat deze route gebruikt zou kunnen worden voor het gefragmenteerd doen uitvoeren van experimenten met dezelfde vraagstelling. Verder was men het tevens eens dat een beperking gesteld moest worden aan het aantal dieren en aan de tijdsduur van het experiment. Omtrent de invulling hiervan bestond binnen de DEC veel verschil van mening. Besloten werd om vooralsnog de invulling vrij streng toe te passen. Zo werd afgesproken dat het maximaal aantal dieren wordt gesteld op 20 en de tijdsduur van de studie op maximaal 3 maanden (gerekend vanaf de eerste dierexperimentele handeling). Uit de praktijk zal moeten blijken of bijstelling van deze twee laatste criteria gewenst is. Als randvoorwaarde voor de goedkeuring van een pilotstudy werd tevens gesteld dat de onderzoeker verplicht is om de DEC te informeren of de uitkomsten van de pilotstudy heeft geleid tot het indienen van een vervolgonderzoek of dat het onderzoek juist zal worden gestaakt.

Aanpassing beoordelingsprocedure

Mede vanwege het feit dat de organisatie gebruik maakt van de diensten van een externe artikel 14 functionaris, is gebleken dat de periode nodig om te komen tot een, door de kleine commissie, goedgekeurd protocol, vaak enkele weken in beslag neemt. Aangezien de ervaring leert dat het regelmatig voorkomt dat protocollen vrij laat bij de secretaris worden ingediend of dat er op het laatste moment aanpassingen van de protocollen worden doorgegeven, zou de secretaris graag striktere afspraken met de onderzoekers willen maken met betrekking tot dit aspect. Dit heeft ertoe geleid dat alle artikel 9 functionarissen een brief hebben gekregen waarin hen werd gevraagd om hun DEC-protocollen uiterlijk 3 weken voorafgaand aan een geplande DEC-vergadering bij de secretaris in te dienen. Te laat ingediende protocollen zullen in de regel dus pas de eerstvolgende vergadering worden behandeld. Om een goede planning aan de kant van de onderzoekers mogelijk te maken, werd afgesproken dat de secretaris elke jaar het vergaderschema van de DEC-Sanquin aan de onderzoekers zal sturen.

Hernieuwde aandacht voor de "Code of practice voor het immuniseren van proefdieren"

Bij het beoordelen van DEC-protocollen werd met enige regelmaat geconstateerd dat onder meer het maximaal toe te dienen injectievolume in samenhang met de injectieroute en de te gebruiken diersoort niet overeenkwam met de Code of Practice. Behoudens het feit dat dit inhield dat enkele artikel 9 functionarissen niet goed op de hoogte waren met de richtsnoeren, betekende dit tevens een langere doorlooptijd bij het afhandelen van de desbetreffende protocollen. Aan alle artikel 9 functionarissen werd nogmaals een kopie van de Code of Practice toegestuurd en in een begeleidend schrijven werd hun aandacht voor dit punt gevraagd.

Aanwezigheid externe artikel 14 functionaris bij DEC-vergaderingen

Tijdens een DEC-vergadering werd vastgesteld dat de artikel 14 functionaris, na het vertrek van de heer [REDACTED], niet langer aanwezig was bij DEC-vergaderingen en werd om nadere toelichting gevraagd. Ondanks dat de aanwezigheid van de artikel 14 functionaris als vaste toehoorder bij DEC-vergaderingen landelijk inderdaad zeer gebruikelijk is en het belang hiervan ook door Sanquin wordt onderschreven, is hiervan bewust afgeweken. De reden hiervoor lag in het feit dat Sanquin een externe artikel 14 functionaris had gevraagd om, in afwachting van het afronden van de opleiding van een eigen artikel 14 functionaris, als proefdierdeskundige op te treden. Deze externe artikel 14 functionaris bespreekt zijn beoordeling van alle DEC-protocollen met de beoogde artikel 14 functionaris i.o. voorafgaand aan elke vergadering en deze laatste desgewenst toelichting zal kunnen geven op de gemaakte beoordeling. De DEC stelde vast dat zij zich kon vinden in deze werkwijze.

3. Werkwijze toetsing

Bij het toetsen van aangemeld onderzoek werd de procedure gevolgd die de afgelopen jaren ontwikkeld werd. Projecten met proefdieronderzoek lopen meestal over meerdere jaren. Om een goed inzicht te krijgen in de samenhang tussen verschillende dierproeven moeten deze per project aangemeld worden. Zoals eerder in dit verslag is gemeld, werd de geldigheidstermijn van standaardonderzoek verlengd van 1 naar 4 jaar. De geldigheidstermijn voor overig onderzoek wordt per project bekeken. De maximale termijn waarvoor toestemming verleend kan worden is eveneens 4 jaar.

Alle aangemelde projecten worden aan een voorscreening onderworpen door de art.14 functionaris, het Hoofd van de afdeling PDH en de vice-voorzitter van de DEC (de zogenoemde "Kleine Commissie"). De laatst genoemde functionaris kan projecten waarin alleen standaard biotechnieken met gering ongerief worden toegepast en dierproeven die welke bij herhaling volgens een vast protocol worden uitgevoerd van positief advies voorzien, mits de art. 14 functionaris en het Hoofd Proefdierenhuis geen bezwaren hebben aangetekend. Op basis van dit positief advies mogen de betreffende dierproeven reeds starten in afwachting van een definitieve beoordeling in tweede instantie door de voltallige DEC. De Kleine Commissie komt niet als zodanig bij elkaar. Het protocol wordt rond gestuurd en elk lid van deze commissie plaatst zijn opmerkingen betreffende het onderzoek op het aanmeldingsformulier. Indien het toch wenselijk is om elkaar van nadere toelichting te voorzien, wordt op ad hoc basis een afspraak gemaakt. Dit bleek niet noodzakelijk gedurende het verslagjaar. DEC-protocollen betreffende een pilotstudy behoeven alleen de goedkeuring van het Hoofd PDH en/of de artikel 14 functionaris, mits aan bepaalde criteria wordt voldaan die gelden voor een pilotstudy (zie onder hoofdstuk 2 van dit verslag).

Alle aanvragen die niet aan bovenstaande criteria voldoen worden door de voltallige DEC beoordeeld, waarna advies aan de vergunninghouder gegeven wordt.

Indien de DEC-Sanquin dit wenselijk acht, wordt de artikel-9 onderzoeker uitgenodigd om nadere uitleg te geven tijdens de DEC-vergadering bij de bespreking van het desbetreffende project.

4. Toetsing dierexperimenteel onderzoek

De volgende protocollen werden tijdens het verslagjaar beoordeeld:

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2001.036	Titel: <i>Het verkrijgen van normaal konijnen serumpool.</i> Inhoud: Een pool van normaal konijnenserum is benodigd voor de ontwikkeling van een standaardmethode om de biotinyleringsgraad van een allergeen te bepalen. Dit allergeen is vervolgens van belang bij de screening van nog te ontwikkelen monoklonale antistoffen. Bij deze dierproef zal bij 4 konijnen om toerbeurt bloed worden afgenomen. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag m.b.t. andere ziekten bij de mens).</i> <i>Ongerief: 3 (matig), aangezien het dier na de bloedafname bijkomt uit de narcose</i> Advies DEC: Positief
2001.037	Titel: <i>Assessment of the damaging effect of protein transduction domain coupled peptides in the mouse.</i> Inhoud: Vaststellen van een eventuele schadelijkheid van PTD-gekoppelde peptides in de muis. Als de resultaten van de in dit protocol beschreven experimenten geen blijf geven van nadelige effecten van de PDT gekoppelde peptide, zal een vervolprotocol worden ingediend. Het onderzoek is in drie fases opgedeeld waarbij afhankelijk van de resultaten per fase besloten wordt of de betreffende proeven zullen worden uitgevoerd. Voor elke fase worden 10 muizen (totaal 30 muizen) intraperitoneaal geïnjecteerd waarbij iedere week (met een maximale periode van 5 weken) bloed afgenomen wordt. Aan het einde van de proef zal eveneens beenmerg verkregen worden <i>Duur proef: 15 maanden.</i> <i>Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag)</i> <i>Ongerief: 3 (matig), aangezien het dier na de bloedafname bijkomt uit narcose</i> Opmerkingen DEC: - Moet het ongerief niet hoger worden ingeschat? - Geeft 5 keer orbitapunctie (met een interval van 1 keer per week) geen problemen bij het dier? - Worden er wel genoeg dieren gebruikt om eventuele effecten te meten? Antwoorden onderzoeker: - Er wordt geen hoger ongerief verwacht. Zoals in het DEC-protocol beschreven zijn in de literatuur geen schadelijke effecten beschreven, alhoewel dit wel om een lagere dosering gaat. De peptides gaan echter snel de cel in. Vooralsnog geen reden tot bijsturing van het te verwachten ongerief. - De techniek wordt binnen Sanquin altijd uitgevoerd door zeer ervaren biotechnici. Er wordt bij de orbitapunctie iedere keer van oog gewisseld. Derhalve zijn geen problemen te verwachten. - Er wordt een hoge dosering gegeven (4 mg per muis), terwijl 1 mg per muis reeds een klinisch effect geeft. Eventuele schadelijke effecten, mits aanwezig, zullen naar verwachting voldoende uitkomst bieden, omdat in de vervollexperimenten met een lagere dosering zal worden gewerkt. Opmerking DEC: De uitkomsten dienen schriftelijk terug worden gekoppeld door de onderzoeker. Tevens wordt de begindatum aangepast (wordt nu 6 maart) omdat het experiment nu pas is goedgekeurd. Einddatum wordt dus 6 juni 2003. Advies DEC: Positief

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.001	Titel: <i>Diermodel voor de ontwikkeling van remmende antistoffen gericht tegen factor VIII: spelen inflammatoire condities een rol?</i> Inhoud: Het onderzoek bestudeert de invloed van de wijze van toediening, het gebruik van een adjuvant en het type adjuvant bij de vorming van antistoffen in een muizenmodel voor milde hemofilie A. Tevens wordt onderzocht of de aanwezigheid van pro-inflammatoire condities (geïnduceerd door toedienen van adjuvant) bepalend is voor de vorming van antistoffen. Bij deze proeven worden 30 muizen via de intraveneuze route zonder adjuvant geïnmuniseerd, 60 muizen worden via de subcutane route met Montanide geïnmuniseerd en 60 muizen zullen via de subcutane route met CFA worden geïnmuniseerd. Duur proef: 1 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij de mens). Ongerief: 3 (matig) vanwege narcose bij bloedafname en/of gebruik mild adjuvant of 5 (ernstig) vanwege immunisatie met CFA. Advies DEC: Positief
2002.002	Titel: <i>Investigating the role of the chemo-attractant receptor CXCR-4 in bone marrow homing and engraftment.</i> Inhoud: Het onderzoeken van de rol van de chemo-attractant receptor CXCR-4 in het proces van homing naar en repopulatie van het beenmerg door bloedvormende stamcellen. Een verbeterd inzicht in de rol van specifieke receptor voor SDF-1, CXCR, zou kunnen leiden tot het op therapeutische basis verbeteren van de homingsefficiëntie in stamcellen. 6 muizen worden in een kortdurende (24 uur) proef gebruikt en 10 muizen in een langdurende (45 dagen) proef. Duur proef: 1 jaar. Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag) Ongerief: 2 (gering-matig) bij kortdurend experiment door i.v. injectie; 4 (matig-ernstig) bij langdurend experiment door mogelijke anemie/leukemie. Toelichting onderzoeker: Er is gekozen voor een klein aantal dieren omdat de verwachting is dat er een duidelijk effect wordt gezien. Bij experiment 1 (duur 24 uur) wordt er al veel informatie verwacht. Bij experiment 2 (duur 45 dagen) kan er een anemie optreden als gevolg van leukemie. Bij de verschijnselen van anemie (deze verschijnselen zijn beschreven in het protocol) zal het betreffende dier onmiddellijk worden afgevoerd. Advies DEC: Positief
2002.003	Titel: <i>Complement en ziekte.</i> Inhoud: 6 ratten worden verbloed om het plasma te gebruiken voor het maken van een standaard voor een bepaling van geactiveerd ratten C4 en voor in vitro onderzoek of CRP het complement systeem kan activeren. Duur proef: 1 jaar Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag m.b.t. andere ziekten bij de mens). Ongerief: 1 (gering), dier komt niet meer bij uit narcose Vraag DEC: Is het niet mogelijk om de dieren een standaard hoeveelheid bloed af te nemen en vervolgens voor een ander experiment te hergebruiken in plaats van de dieren te verbloeden? Antwoord hoofd PDH namens de onderzoeker: Ten eerste is hergebruik praktisch gezien niet altijd mogelijk. Ten tweede, zullen, in geval van een bloedafname, meer dieren benodigd zijn met een hoger ongerief (ongerief: 3 i.v.m. de narcose) dan bij het verbloeden (ongerief: 1) van de dieren. Vanuit ethisch oogpunt verdient het experiment met het minste ongerief altijd de voorkeur. Ook worden, in geval van verbloeding, minder dieren gebruikt. Wanneer de verbloeding samen kan vallen met het uitnemen van organen voor een andere onderzoek (zie DEC-protocol 2002.014) zal dit worden toegepast. Advies DEC: Positief

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	Beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.004	<u>Titel:</u> <i>Analyse van eiwit expressie op primaire muizenlymfocyten</i> Inhoud: Er worden bij in totaal 100 muizen organen geoogst om een beter inzicht te verkrijgen in de regulatie van expressie van bepaalde eiwitten op lymfocyten. Opmerking DEC: In paragraaf 1.2 wordt de vraagstelling erg summier beschreven. De DEC voelt zich wel in staat een verantwoorde ethische afweging te maken op basis van de gegeven informatie, maar ziet graag alsnog een aanvulling tegemoet. Besloten wordt het protocol te voorzien van een positief advies onder de voorwaarde dat de onderzoeker dit punt schriftelijk uitgebreider zal toelichten. Deze toelichting zal dan in de eerstvolgende DEC-vergadering worden besproken. Wat betreft paragraaf 4.2 werd de vraag gesteld of de dieren die aangevraagd zijn niet altijd van dezelfde bron afkomstig moeten zijn om een optimale standaardisatie te bewerkstelligen. [REDACTED] zal deze vraag voorleggen aan de betrokken onderzoeker. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij de mens). Ongerief: 1 (gering) Onder halothaan/lachgas narcose worden de betreffende organen uit het dier genomen. Het dier komt niet meer bij uit narcose. Advies DEC: Positief onder voorwaarde: De onderzoeker dient de vraagstelling van het onderzoek verder schriftelijk toe te lichten. Antwoord betreffende afkomst dieren: De voorkeur gaat uit naar dieren van dezelfde bron. Indien dit vanwege leveringsproblemen niet mogelijk is, kan hiervan afgeweken worden. Nadere informatie onderzoeker: Het algemene doel van het onderzoek waarvan dit proefdieronderzoek maar een klein onderdeel is, is het bestuderen van de T-cel depletie welke optreedt in HIV geïnfecteerde patiënten. Voor dit onderzoek is het van belang om de dynamica en het fenotype van het T-cel compartiment te analyseren. In het bijzonder wordt gekeken naar T-cel fenotypes na activatie. Voor deze vraagstelling is een muizenmodel ontwikkeld. Om echter te kunnen vaststellen of de regulatie van eiwitexpressie verstoord is, moet eerst gekeken worden hoe deze normaal gereguleerd is.
2002.005	<u>Titel:</u> <i>Het verkrijgen van monoclonale antistoffen tegen muizen en humane (membraan-) antigenen</i> Inhoud: Het onderzoek wordt uitgevoerd om analysemethode(n) van muizen en humane (membraan-) antigenen met behulp van monoclonale antistoffen te verkrijgen. Er zal hierdoor een beter inzicht kunnen worden verkregen in de werking van het immuunsysteem. De monoclonalen zullen uiteindelijk mogelijk gebruikt kunnen worden voor de analyse van immunologische afwijkingen/ziekten in de mens. Hiervoor zullen 12 muizen en 12 hamsters worden geïmmuniseerd. Vlak voor de DEC-vergadering heeft de betrokken onderzoeker gevraagd of de injectieroute veranderd kon worden in subcutaan in plaats van intra-peritoneaal. Duur proef: 4 jaar Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij de mens). Ongerief: Beide diersoorten 3 (matig) door de keuze van het adjuvant en het bijkomen uit de narcose na de bloedafname. Opmerking DEC: De DEC heeft geen bezwaar tegen de aanpassing van de injectieroute, maar constateert dat de onderzoeker hetzelfde volume wil inspuiten en dat dit niet in overeenstemming is met de 'Code of practice'. Deze schrijft voor dat een maximaal volume van 100 µl is toegestaan voor de muis (en hamster) i.p.v. 200 µl. Besloten wordt het DEC-protocol van een positief advies te voorzien onder de uitdrukkelijke voorwaarde dat de onderzoeker de injectievolumina zal aanpassen conform de 'Code of practice'. Advies DEC: Positief onder voorwaarde: Het injectievolume wordt teruggebracht naar 100 µl. Dit is schriftelijk aan de onderzoeker kenbaar gemaakt.

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.006	<u>Titel: Pyrogeentest</u> Inhoud: Door de regelgeving voorgeschreven test voor de vrijgifte voor farmaceutische producten. In deze test wordt een eventuele koortsreactie bij konijnen gemeten. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 04 (onderzoek mbt de mens; controle en ijking van geneesmiddelen).</i> <i>Ongerief: 2 (gering/matig) door de fixatie.</i> Toelichting onderzoeker: Gedurende de periode van de komende 4 jaar zullen naar schatting 4500 konijnen nodig zijn. Het is de verwachting dat het testaanbod voor de komende periode zal stijgen in vergelijking met vorig jaar. Hierdoor zal de capaciteit van het Proefdierenhuis voor eventueel ander onderzoek nog verder onder druk komen te staan. Opmerkingen DEC: a. Is het ook mogelijk om de test uit te besteden en zodoende iets te doen aan de logistieke problemen? b. Zijn er alternatieven in ontwikkeling? Antwoord onderzoeker: a. Dit is, om meerdere redenen, niet makkelijk te organiseren. Ten eerste bestaat er slecht een zeer beperkt aantal bedrijven die een dergelijke test op deze schaal kan aanbieden. Ten tweede wordt in alle registratiedossiers van CLB-producten vermeld dat de pyrogeentest door de eigen organisatie wordt uitgevoerd. In dit kader beschikt het PDH dan ook over een hele specifieke vergunning. Outsourcing van de test betekent dan in ieder geval aanpassing van alle registratiedossiers met alle financiële consequenties van dien en zal door de Farmaceutische Inspectie als niet logisch worden ervaren. b. Deze discussie is al eerder uitgebreid in de DEC aan de orde geweest. Er bestaat voor waterige oplossingen de LAL-test, maar voor eiwithoudende (waaronder plasmaproducten) oplossingen is deze test niet volledig betrouwbaar en derhalve niet toegestaan door de regelgeving. De vrijgifte-apotheker van het CLB is lid van de Europese Farmacopeecommissie en hij heeft in het recente verleden laten weten dat deze commissie zeer hecht aan deze test en dat het niet in de lijn der verwachting ligt dat deze bepaling uit de regelgeving wordt gehaald. Er wordt landelijk al jaren gewerkt aan een alternatieve bepaling (o.a. het 'Platform alternatieven' subsidieert dit onderzoek), maar dit is tot op heden niet succesvol gebleken. De onderzoeker zal de DEC op de hoogte houden van dergelijke ontwikkelingen. Advies DEC: Positief
2002.007	<u>Titel: Immunisatie van muizen t.b.v. het ontwikkelen van monoclonale antistoffen</u> Inhoud: Het immuniseren van 12 muizen voor het verkrijgen van monoclonale antistoffen te gebruiken als reagens in immuno-assays. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag)</i> <i>Ongerief: 3 (matig) door het bijkomen uit de narcose na de bloedafname en het gebruik van een mild adjuvant.</i> Opmerking onderzoeker: Vanwege het karakter van de aanvraag (contract-onderzoek derden), is het niet mogelijk om vooraf exact de achterliggende vraagstelling aan te geven. Voor alle aanvragen geldt in ieder geval dat de monoclonale antistoffen gebruikt zullen worden voor het ontwikkelen van bepaalde immuno-assays. De verantwoordelijke artikel 9 functionaris zal per deelonderzoek bewaken wat de specifieke vraagstelling is, alsmede alert zijn dat de 'Code of practice' wordt gevolgd. De DEC zal jaarlijks een lijst ontvangen van het type onderzoek wat is gedaan, het aantal dieren wat hierbij gebruikt is, het ongerief en eventueel andere bijzonderheden. Advies DEC: Positief

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.008	<u>Titel: Kwaliteitscontrole van biotechnologische producten voor humane toepassing.</u> Inhoud: Door de regelgeving is een scala aan verschillende kwaliteitscontroletesten voorgeschreven, die erop gericht zijn de aanwezigheid van virussen in biotechnologische producten, bestemd voor <i>in vivo</i> en <i>ex vivo</i> toepassing, aan te tonen. Toelichting onderzoeker: Deze testen zijn voorgeschreven door zowel Europese als Amerikaanse regelgeving. Een deel van de verplichte kwaliteitstesten betreft proefdieronderzoek. Bij onderzoek 1 tot en met 4 wordt het product ingespoten (via verschillende routes met vastgestelde doseringen) en wordt na een observatieperiode van 4-6 weken in het serum onderzocht of er antistoffen tegen bepaalde virussen aanwezig zijn. Voor deze experimenten zijn 440 muizen, 10 ratten en 20 hamsters aangevraagd. Op welke diersoort dit onderzoek uitgevoerd wordt, is afhankelijk van de te onderzoeken cellijn. Bij onderzoek 5 tot en met 7 worden de ingespoten dieren elke werkdag gescoord op klinische afwijkingen. Hierbij kan het noodzakelijk zijn dat de procedure wordt uitgebreid met het subinoculeren van de aangetaste organen in een nieuwe groep van proefdieren en dat aanvullend histopathologisch wordt uitgevoerd. Voor deze experimenten zijn 440 volwassen muizen, 640 neonaten en 200 cavia's aangevraagd. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 04 (onderzoek mbt de mens; controle en ijking van geneesmiddelen) Ongerief: Bij serologie: 3 (matig) aangezien het dier moeten bijkomen uit een narcose. Bij de test waarbij gescoord wordt op klinische verschijnselen bij de muizen ongerief: 3 (matig) door bijkomen uit narcose na i/cb injectie. Neonatale muizen en cavia's: ongerief 1 (gering) vanwege eenvoudige injectietechnieken. Opmerkingen DEC: a) Waarom wordt er gekozen voor een outbred stam? b) De externe art.14 functionaris zou graag in het bezit gesteld worden van de onderliggende SOP. Antwoord onderzoeker: a) Hier is bewust voor gekozen omdat het product toegepast wordt in mensen. Mensen zijn genetisch zeer verschillend en om dit aspect ook in het onderzoek te betrekken wordt gebruik gemaakt van outbred dieren. De ervaring met ander onderzoek heeft geleerd dat het gebruik van een inteeltstam een onevenwichtig beeld kan opleveren omdat deze stam ongevoelig of juist extreem gevoelig kan blijken te reageren. b) Het is regel binnen de organisatie om voor zeer vertrouwelijk (contract)onderzoek, om meerdere redenen, geen kopieën van SOP's te verstrekken. Uiteraard kan de art. 14 functionaris te allen tijde het bewuste document op de werkplek ter inzage krijgen, indien dit noodzakelijk wordt geacht. Overigens, staat alle relevante proefdierkundige informatie uit de SOP ook onverkort in de DEC-aanvraag. De DEC kan zich vinden in de stellingname van de onderzoeker. Advies DEC: Positief
2002.009	<u>Titel: Het verkrijgen van cavia-, en duiven- en schapenbloed ten behoeve van laboratoriumtesten.</u> Inhoud: Het verkrijgen van bloed van 10 cavia's en 8 duiven ten einde de erytrocytenfractie te isoleren als reagens voor bepaalde kwaliteitscontroletesten, alsmede het verkrijgen van schapenbloed van 2 schapen voor het gebruik in een immunologische test. Bij de dieren wordt middels een roulatieschema de bloedafnames uitgevoerd. In de aanvraag is rekening gehouden met eventuele uitval van dieren door ziekte/sterfte. De dieren kunnen door meerdere onderzoekers worden gebruikt. Duur proef: 4 jaar Doel proef: 04 (onderzoek mbt de mens; controle en ijking van geneesmiddelen) Ongerief: 2 (gering/matig) bij duif en schaap in verband met fixatie, ongerief 3 bij cavia's in verband met bijkomen uit narcose. Advies DEC: Positief

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.010	<u>Titel: Abnormale toxiciteitstest</u> Inhoud: Onderzoek naar de aanwezigheid van abnormale toxiciteit van parenteralia. De test is een kwaliteitscontroletest voorgeschreven door diverse internationale regelgeving als onderdeel van de vrijgifte van o.a. geneesmiddelen. Er worden verschillende variaties van de test uitgevoerd. Voor de toetsten zijn de de loop van de 4 jaar 1300 muizen en 320 cavia's nodig. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 04 (onderzoek mbt de mens; controle en ijking van geneesmiddelen)</i> <i>Ongertief: 1 (gering) bij de cavia's vanwege intra-peritoneale injectie, 2 (gering/matig) bij de muizen voor een deel vanwege het merken van het dier (oorknip) en bij een ander aantal tevens door de fixatie tijdens de intra-veneuze injectie.</i> Toelichting onderzoeker: Anders dan voor de pyrogeentest geldt, dat de toegevoegde waarde van deze test in een aantal gevallen dubieus te noemen is. Gelukkig, wordt deze test voor steeds meer producten uit de regelgeving gehaald en de verwachting is dat de test op termijn steeds minder uitgevoerd zal worden. Op dit moment wordt de test vooral toegepast op nieuwe producten die in ontwikkeling zijn. Advies DEC: Positief
2002.011	<u>Titel: Immunisatie van konijnen, schapen en geiten voor het verkrijgen van polyclonale en/of verkrijgen van bloed in opdracht van derden.</u> Inhoud: Het verkrijgen van polyclonale antistoffen te gebruiken als reagens in immuno-assays. Voor deze immunisaties zijn 60 konijnen, 15 schapen en 12 geiten gevraagd. Het verkrijgen van het bloed om de daarin aanwezige cellen (bijvoorbeeld de erythrocyten) als reagens te gebruiken in diverse laboratoriumbepalingen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van 10 cavia's en 2 schapen. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 37 (andere wetenschappelijke vraag)</i> <i>Ongertief: 3 tot 5 (matig tot ernstig) bij de immunisaties; dit hangt af van de uiteindelijke keuze van het adjuvant, 3 (matig) bij bloedafname cavia's in verband met het bijkomen uit narcose en 2 (gering/matig) bij de bloedafname van de schapen vanwege fixatie.</i> Toelichting onderzoeker: Dit betreft contractonderzoek voor derden. Hierbij geldt eveneens (zie opmerking bij DEC-protocol 2002.005) dat de precieze achterliggende vraagstelling van het onderzoek niet bekend is op het moment van indienen. De art.9 functionaris speelt hierbij een bewakende rol. Advies DEC: Positief
2002.012	<u>Is komen te vervallen</u>

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.013	Titel: <i>Weefsel-specifieke expressie van factor VIII</i> Inhoud: Dit onderzoek is bedoeld om inzicht te verkrijgen in de biosynthetische capaciteit van diverse factor VIII-producerende organen en celtypen die daarvoor verantwoordelijk zijn. Dit onderzoek zal leiden tot een beter begrip van de moleculaire achtergronden van hetzij verlaagde (hemofilie A, ziekte van von Willebrand), hetzij verhoogde factor VIII spiegels (trombofilie). Tevens zal dit onderzoek aanknopingspunten kunnen bieden voor weefsel-specifieke gentherapie bij hemofilie A. Er zal bij 20 muizen organen worden uitgenomen welke gebruikt worden voor genexpressie onderzoek. Voor het onderzoek waarbij ontstekingsreacties worden nagebootst worden 150 dieren gebruikt. Duur proef: 1 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij de mens).. Ongerief: 1 (gering) bij de muizen die gebruikt worden voor het oogsten van organen. Dit vindt plaats na halswerveldislocatie, 4 (matig/ernstig) bij de muizen waarbij er ontstekingen worden geïnduceerd. Opmerking DEC: Het ongerief is aan de lage kant. Ondanks dat het in het merendeel gaat om kortdurende experimenten zal het ongerief door het induceren van ontstekingsreacties van 3 (matig) naar 4 (matig/ernstig) dienen te worden verhoogd. Deze verhoging zal in het DEC-protocol worden aangepast en deze aanpassing zal vermeld worden in de goedkeuringsbrief aan de betrokken onderzoeker. Advies DEC: Positief onder voorwaarde: Het ongerief wordt verhoogd van 3 (matig) naar 4 (matig ernstig). Dit wordt schriftelijk aan de onderzoeker medegedeeld. Het DEC-protocol is op dit punt aangepast.

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.014	Titel: Diagnostiek auto-immuunziekten Inhoud: Het uitnemen van organen bij 80 cavia's, 100 konijnen en 100 ratten voor het maken van vriescoupes ten behoeve van diagnostisch onderzoek met behulp van de indirecte immunofluorescentie techniek. De coupes dienen als antigeen voor de bepalingen van autoantistoffen in humane sera. Het bepalen van deze antistoffen zijn van essentieel belang voor de diagnostiek naar auto-immuunziekten: a) het bevestigen van de diagnose zodat patiënten optimaal behandeld kunnen worden. b) ter bepaling van beloop, aanslaan therapie en evt. prognose. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij de mens). Ongerief: 1 (gering) cavia's en ratten worden eerst geëuthaniseerd, vervolgens worden de organen uitgenomen; de konijnen komen niet meer bij uit narcose. Opmerkingen DEC: Waarom kunnen geen dieren gebruikt worden die in eerder onderzoek zijn geweest (bijv. cavia's die in een negatieve toetstest zijn gebruikt)? Dit is in het verleden ook onderwerp van discussie geweest tussen Hoofd PDH en de onderzoeker. Volgens de onderzoeker is hergebruik niet mogelijk, maar de onderbouwing van deze stelling is niet helemaal duidelijk. De DEC is van mening dat deze onderbouwing alsnog schriftelijk gegeven moet worden. Ook wordt het hoge aantal dieren niet goed begrepen omdat van slechts een beperkt aantal dierlijke organen veel coupes kunnen worden gemaakt. Mogelijk heeft dit te maken met een beperkte houdbaarheid van het materiaal. Dit laatste zou de DEC eveneens graag schriftelijk onderbouwd willen zien. Ook zou de DEC graag willen weten waarom alternatieven (bv. in de vorm van cellijnen) niet mogelijk zijn. Aan de onderzoeker zal worden gevraagd om deze informatie voor de komende DEC-vergadering beschikbaar te maken en er rekening mee te willen houden dat de DEC ter vergadering mogelijk nadere mondelinge toelichting zou willen hebben. Het Hoofd PDH zal de DEC dan informeren over het daadwerkelijke gebruikte aantal dieren in de afgelopen periode. Advies DEC: Positief onder voorwaarde: De onderzoeker dient een schriftelijke toelichting bij de eerstvolgende DEC-vergadering te geven betreffende mogelijkheid hergebruik, aantal dieren en haalbaarheid eventuele alternatieven. Toelichting onderzoeker: Met betrekking tot het gebruik van rattenorganen t.b.v. de bereiding van weefselcoupes wordt gemeld dat deze geheel opgebruikt worden en houdbaarheid verder geen discussiepunt is. Verder wordt op de vraag naar de beschikbaarheid van mogelijke alternatieve testen, geantwoord dat er in het verleden inderdaad voor diagnostiek van auto-immuunziekten overgestapt is op in vitro alternatieven (celkweek). Voor de lopende testen waarbij proefdieren worden gebruikt, bestaat (nog) geen alternatief. De DEC is van mening dat v.w.b. deze twee punten de beantwoording adequaat is. Het hergebruik van toxocavia's ten behoeve van het verkrijgen van cavialip geeft volgens de onderzoeker geen goede resultaten. Deze stelling wordt, echter, niet onderbouwd met informatie waarom hergebruik niet mogelijk is. De DEC ziet dit duidelijk als een omissie en besluit de secretaris te vragen een brief te sturen naar de artikel-9 functionaris met het doel deze informatie alsnog beschikbaar te maken. In deze brief zal de artikel 9-functionaris tevens gewezen worden op de welbekende 3V's. In het jaar 2002 is op deze brief geen respons gekomen van de onderzoeker. De DEC zal deze kwestie in de eerste vergadering van 2003 bespreken.

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.015	<i>Titel: Diagnostiek AIZ-Immunochemie</i> <i>Inhoud: Het verkrijgen van schapen- en konijneneritrocyten, die gebruikt worden in een test om complement-activiteit te bepalen. Het normaal konijnenserum is nodig in een testsysteem op humane eiwitten. Hierbij wordt een optimale behandeling van de patiënten nagestreefd door het aantonen van afwijkingen van serum eiwit samenstelling, stoornissen in de afweer t.g.v. genetische deficiënte complement factoren en complement-activatie als marker van mogelijke ziekte. Voor dit onderzoek zijn 4 schapen en 6 konijnen aangevraagd.</i> <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag mbt andere ziekten bij de mens).</i> <i>Ongerief: 2 (gering/matig bij de schape door de fixatie en 3 (matig) voor het bijkomen uit de narcose.</i> Opmerking DEC: Bij het verkrijgen van bloed van konijnen en schapen, vindt er een voorselectie plaats om te bepalen of het bloed van het dier wel geschikt is voor dit doel. Deze dieren dienen eveneens onderdeel te zijn van de DEC-aanvraag omdat er een ingreep (bloedafname) plaatsvindt om dit te bepalen. Er bestaan vraagtekens of dit inderdaad heeft plaatsgevonden. De dieren die dan niet verder in gebruik genomen worden, kunnen dan worden hergebruikt voor ander onderzoek. Dit punt zal worden teruggekoppeld naar de onderzoeker en indien van toepassing zullen de aantallen alsnog worden aangepast. Dit zal vervolgens weer aan de DEC worden meegedeeld. Advies DEC: Positief onder voorbehoud: Het aantal dieren moet mogelijk worden aangepast. Dit wordt schriftelijk aan de onderzoeker medegedeeld. In dit kader is in overleg met de onderzoeker het aantal konijnen verhoogd naar 16 en het aantal schapen 20. Het DEC-protocol is vervolgens aangepast.

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.016	Titel: Productie van immuunreagentia voor diagnostisch bloedonderzoek bij mensen. Inhoud: Het bereiden van antisera die gericht zijn tegen diverse humane serumeiwitten en celspecifieke antigenen. Afnamen en/of totaal bloed/serum worden opgewerkt in laboratoria tot specifieke reagentia voor wereldwijd gebruik in de diagnostiek. Naast het belang van goede reagentia ten behoeve van laboratoriumdiagnostiek, kan tevens voor wetenschappelijke doeleinden de correlatie tussen afwijkende eiwitpatronen in plasma en bepaalde ziektebeelden worden gelegd. Duur proef: Bijgesteld van 4 jaar naar 1 jaar. Doel proef: 01 (onderzoek mbt de mens: ontwikkeling van sera, vaccins of biologische producten) Aantal dieren voor een jaar: 250 schapen en 20 konijnen (zie voorwaarde advies DEC). Ongerief: 4 (matig ernstig) door het gebruik van CFA als adjuvant Opmerking DEC: Het gaat hier om forse aantallen dieren. Mede omdat er al meerdere jaren gesproken wordt over onderzoek naar alternatieven, is de DEC van mening dat goedkeuring voor een periode van 4 jaar te ruim is en stelt deze bij naar 1 jaar. De DEC ziet zich gaarne schriftelijk op de hoogte gesteld over de vorderingen van het onderzoek naar alternatieven. De onderzoeker zal hiervan op de hoogte worden gesteld. Advies DEC: <u>Positief</u> voor een geldigheidstermijn van 1 jaar onder voorwaarde: de onderzoeker dient een schriftelijke toelichting te geven over de stand van zaken betreffende de ontwikkeling van alternatieven. Toelichting onderzoeker: In de toelichting wordt zeer uitgebreid ingegaan op de laatste stand van zaken van het onderzoek naar alternatieve methoden. Ondanks dat de verwachting is dat het ontwikkelen van alternatieven voor schapenantisera op termijn haalbaar zullen blijken te zijn, zal dit onderzoek nog enkele jaren in beslag nemen. De DEC vindt het verwarrend dat in de toelichting, in eerste instantie, wordt aangegeven dat er een aanzienlijke toename in het proefdiergebruik zal plaatsvinden en verderop in het stuk er gesproken wordt over een aanzienlijke vermindering van het proefdiergebruik. In vergelijking met voorgaande jaren, is aan het aantal aangevraagde dieren geen toename of afname te zien, dus gaat de DEC er vooralsnog vanuit dat er geen toename zal plaatsvinden. Om dit proces goed te kunnen bewaken en vinger aan de pols te kunnen houden betreffende de voortgang van het onderzoek naar alternatieven, wordt het verzoek van de artikel 9-functionaris om het aangevraagde onderzoek voor een periode van 4 jaar goed te keuren, niet gehonoreerd. De geldigheidsduur van het protocol wordt derhalve op 1 jaar gesteld. De secretaris zal dit besluit schriftelijk aan de artikel 9 functionaris meedelen.
2002.017	Titel: <u>Verbetering en ontwikkeling van stollingsfactorbepalingen</u> Inhoud: Het opwekken van nieuwe poly- en monoclonale antistoffen voor onderzoek naar verbetering van bestaande en de ontwikkeling van nieuwe diagnostische bepalingen, die worden toegepast bij diagnostisch hemostase- en trombose onderzoek. De technieken zijn onontbeerlijk in verband met juiste diagnostiek en behandeling van patiënten met hemostase-stoornissen of trombose. Voor deze immunisaties zullen 12 muizen en 24 konijnen worden gebruikt. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot andere ziekten bij de mens) Ongerief: 3 (matig) voor beide diersoorten en geval van gebruik van Montanide als adjuvant en bijkomen uit narcose. Advies DEC: <u>Positief</u>

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.018	Titel: <i>Vasoactieve effecten van plasma producten</i> Inhoud: Het detecteren van mogelijke vasoactieve en inflammatoire effecten van plasma producten. De test is een internationaal geaccepteerd diemodel. Bij de rat wordt onder narcose het effect van intra-veneuze toediening van IVIG-producten onderzocht op de arteriële bloeddruk en in voorkomende gevallen het effect op perifere bloedcellen. Voor de bloeddruktesten worden 300 ratten gebruikt Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 04 (onderzoek mbt de mens; controle en ijking van geneesmiddelen) Ongerief: 1 (gering) dieren komen niet meer bij uit narcose Toelichting Hoofd PDH namens onderzoeker: Dit betreft een niet wettelijk voorgeschreven, maar wel een veel gehanteerde test voor het aantonen van mogelijke klinische bijwerkingen van immunoglobuline-preparaten. Deze test wordt veel gebruikt bij validatie- en houdbaarheidsonderzoek. Recent is binnen het SANQUIN besloten om deze test niet langer onderdeel te laten zijn van houdbaarheidsonderzoek van nieuwe producten. Bestaand houdbaarheidsonderzoek wordt nog wel afgemaakt. Deze test zal dus alleen nog maar worden gebruikt voor validatie-doeleinden. Bij het opgeven aantal dieren, is met deze vermindering rekening gehouden. Opmerking DEC: Deze toelichting zou de DEC graag alsnog toegevoegd willen zien aan het protocol. Advies DEC: Positief
2002.019	Titel: <i>Trombogene eigenschappen van plasmaproducten</i> Inhoud: Door middel van de Wessler-test worden mogelijke trombogene bijwerkingen gedetecteerd. De Wessler-test is een internationaal geaccepteerd model. Dit onderzoek wordt niet routinematig uitgevoerd, maar vooral bij gebleken problemen met specifieke preparaten. In dit kader zijn er 5 konijnen aangevraagd. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 01 (onderzoek mbt de mens: ontwikkeling van sera, vaccins of biologische producten) Ongerief: 1 (gering) dier komt niet meer bij uit narcose. Advies DEC: Positief

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.020	<u>Titel: Allergeen- karakterisatie en -standaardisatie</u> Inhoud: De karakterisatie, zuivering en kwantificering van allergenen is van belang voor het inzicht krijgen in allergische processen, de bereiding en standaardisatie van diagnostische en therapeutische extracten, alsmede het meten van blootstelling aan allergenen. De immunisatie van 150 muizen wordt gedaan voor het verkrijgen van B-lymfocyten voor de bereiding van hybridoma's. De productie van mAb gebeurt vervolgens in vitro. 104 konijnen worden geïmmuniseerd ter verkrijging van polyclonale antistoffen. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot andere ziekten bij de mens)</i> <i>Ongerief 3 (matig) vanwege gebruik van mild adjuvant en/of narcose bij bloedafname;</i> <i>Bij gebruik CFA: 4 (matig/ernstig).</i> Opmerking DEC: In paragraaf 3.2 wordt vermeld dat experiment 3 wordt uitgevoerd met Montanide en experiment 4 met FCA, terwijl dit in paragraaf 4.1 net andersom staat. Paragraaf 3.2 dient te worden aangepast conform de indeling van paragraaf 4.1. In paragraaf 4.5 staat aangegeven dat statistisch gezien 2 konijnen of 4 muizen niet genoeg zijn om met 95% zekerheid een goed antiserum te krijgen, maar om het proefdiergebruik te limiteren toch voor twee dieren is gekozen. De DEC vindt deze argumentatie niet juist. Het is vanuit ethische optiek niet acceptabel om minder dan het statistisch verantwoord aantal dieren te gebruiken. De kans dat men dan proefdieren gebruikt zonder het beoogde resultaat te verkrijgen is kwalijker dan meer dieren te gebruiken met een grotere zekerheid en wel de beoogde resultaten te krijgen. Wel kan de DEC zich vinden in het argument van de onderzoeker dat gekozen is voor een beperkt aantal dieren vanwege het feit dat de beschikbaarheid van het antigeen limiterend is. Een belangrijke vraag die de DEC zich stelde naar aanleiding van bovenstaande discussie was hoeveel dieren er benodigd zijn om een statistisch verantwoord aantal te krijgen voor dit type experimenten. Op basis van jarenlange ervaring vanuit het PDH, wordt het advies gegeven om, wanneer er voldoende antigeen beschikbaar is, minimaal 3 konijnen of 5 muizen te immuniseren. De onderzoeker zal schriftelijk gewezen worden op de ethische implicaties van bovengenoemde discussie. Advies DEC: Positief onder voorwaarde: Wanneer voldoende antigeen aanwezig is dient het aantal dieren te worden verruimd. Dit zal schriftelijk aan de onderzoeker kenbaar worden gemaakt.

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.021	Titel: <i>Neo-epitopen in Ivlg</i> Inhoud: Het onderzoek moet duidelijk maken of het mogelijk is antigene determinanten aan te tonen op therapeutische immunoglobuline preparaten (Ivlg-L) die niet aantoonbaar zijn op onbehandelde immunoglobulines. Tevens wordt onderzocht of op pepsine (dat tijdens de bereiding van Ivlg-L wordt toegevoegd tijdens het proces) neo-epitopen ontstaan. De onderzoeker heeft resultaten van voorafgaand onderzoek toegevoegd. Voor deze immunisaties zijn 39 cavia's en 39 konijnen aangevraagd. Duur proef: 2 jaar. Doel proef: 03 (ontwikkeling geneesmiddelen met betrekking tot de mens) Ongerief: 5 (ernstig) vanwege gebruik van CFA. Opmerkingen DEC: a. Waarom wordt er onderzoek gedaan naar neo-epitopen op pepsine? Pepsine wordt immers weggezuiverd tijdens het productieproces. b. In de dosis-responscurve bij de cavia's is te zien dat deze diersoort een hogere respons geeft dan in konijnen. In de uitleg van de resultaten is te lezen dat men tevens konijnen aanvraagt omdat konijnen meer serumopbrengst leveren. De DEC twijfelt toch aan het aantal konijnen aangezien dit net zo hoog is als de cavia's. Er zal een schriftelijke toelichting gevraagd worden aan de onderzoeker. Deze zal per e-mail worden verspreid onder alle DEC-leden. c. De aanvraag is gedaan voor 4 jaar. Vanwege het feit dat het niet gaat om standaard-onderzoek en ook omdat de DEC verwacht dat het onderzoek redelijk snel resultaten zal opleveren wordt voorgesteld de geldigheids termijn aan te passen naar een jaar. De onderzoeker zal gevraagd worden naar het reële aantal dieren voor deze periode. Dit zal in een brief aan de onderzoeker medegedeeld worden. Toelichting onderzoeker: a. Pepsine wordt toegevoegd om aggregatie van Ig te voorkomen, zodat het geschikt is om intra-veneus toe te dienen. Het onderzoek is nodig omdat het niet uitgesloten is dat er nog kleine hoeveelheden pepsine in het eindpreparaat aanwezig zijn die immunogeen kunnen zijn. b. De uitgevoerde pilotstudie geeft onvoldoende informatie omtrent verschillen in immunogeniciteit. Derhalve dient inderdaad het aantal konijnen gelijk te zijn aan het aantal cavia's. c. Het voorgestelde experiment kan in principe in één jaar tijd worden uitgevoerd. Reden dat een periode van vier jaar is aangevraagd, heeft te maken met het capaciteitsprobleem binnen het PDH. Het aantal aangevraagde dieren kan derhalve niet omhoog. Met de onderzoeker wordt een termijn van twee jaar afgesproken, omdat dit voldoende moet zijn om de proef af te ronden. Advies DEC: <u>Positief</u>

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.022	Titel: <i>Het verkrijgen van konijnenbloed ten behoeve van laboratoriumtesten</i> Inhoud: Het afnemen van konijnenbloed om rode bloedcellen te verkrijgen. Deze rode bloedcellen worden gebruikt voor kwaliteitscontroletesten op een geneesmiddel. Voor het afnemen van het bloed zullen 2 konijnen worden gebruikt. Duur proef: 4 jaar Doel proef: 04 (prod./contr./ijking geneesmiddelen met betrekking tot de mens) Ongerief: 3 (matig) vanwege toediening van narcose bij bloedafname. Opmerkingen DEC: Er is maar 1 donordier nodig maar aangezien het standaard onderzoek betreft is het aangevraagde aantal van 2 dieren wel aan de lage kant. Het aantal dieren zal aangepast worden in het DEC-protocol van 2 naar 3 konijnen. Vraag artikel 14 functionaris: Welke test wordt hier bedoeld? Antwoord: Test voor anti-complementaire activiteit. Advies DEC: Positief
2002.023	Titel: <i>Controle immunisaties om de immuun-compententie van transgene muizen te testen</i> Inhoud: Door 50 huF8-R593C muizen te immuniseren met een controle-antigeen wil men antwoord krijgen op de vraag of de dieren immunocompetent zijn. De experimenten zijn noodzakelijk voor een goede onderbouwing van een muizenmodel voor de vorming van antistoffen van patiënten met milde hemofilie A. Het onderzoek is een onderdeel van een project waarin gekeken wordt naar factoren die bijdragen aan de ontwikkeling van antistoffen gericht tegen factor VIII. Duur proef: 1 jaar Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot andere ziekten bij de mens) Ongerief: 3 (matig) vanwege toediening Montanide. Vragen DEC: a. De DEC vraagt zich af of er geen alternatieve mogelijkheden zijn, in plaats van uitgebreide immunisaties, om te bepalen of de transgene dieren over een normaal immuunsysteem beschikken (bijv. onderzoek van het cellulaire bloedbeeld; T4/T8 ratio etc.) b. Naar de mening van de DEC worden er wel heel veel proefdieren aangevraagd om de gestelde vraag beantwoord te krijgen. Ook is het gebruik van de stam C57Bl/6 HuDR11 niet duidelijk. Omdat de artikel 9 functionaris niet in de gelegenheid bleek te zijn om ter vergadering toelichting te geven, werd besloten een kleine commissie te benoemen die in een later stadium met de onderzoeker in overleg zou gaan. Deze kleine commissie bestond uit [REDACTED]. In afwachting van de toelichting en eventuele aanpassing van het DEC-protocol, werd besloten het ingediende DEC-protocol <u>niet</u> goed te keuren. Antwoord: a. De onderzoeker is het ermee eens dat het cellulaire bloedbeeld inderdaad informatie kan geven over het niet goed functioneren van het immuunsysteem. Wel is het zo dat, indien alle parameters geen aanleiding geven om te twijfelen aan de immunocompetentie van het dier, dit alleen via immunisaties kan worden aangetoond. Derhalve verdient het voorgestelde experiment de voorkeur. b. Na een uitgebreide discussie is de onderzoeker het ermee eens dat het aantal aangevraagde dieren aan de forse kant is om de vraagstelling te kunnen beantwoorden. Dit resulteerde in aanpassing van het DEC-protocol waarin het aantal dieren is aangepast van 50 naar 12. Het aangepaste protocol kon vervolgens wel door de DEC worden gehonoreerd. Advies DEC: Positief na aanpassing protocol.

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.024	<i>Titel: Diermodel voor ontwikkeling van remmende antistoffen tegen factor VIII</i> Inhoud: Informatie verkrijgen inzake de betrokkenheid van bepaalde MHC klasse II moleculen bij de ontwikkeling van anti-FVIII antistoffen bij patiënten met milde hemofilie A. Het ontstaan van deze antistoffen is een belangrijke complicatie in deze patiëntengroep. De aanwezigheid van de antistoffen zorgen ervoor dat de behandeling met Factor VIII concentraat niet meer effectief is. De resultaten van dit onderzoek kunnen mogelijk gebruikt worden voor het ontwikkelen van nieuwe behandelingsmethoden voor deze groep patiënten. In dit kader zullen er in totaal 1200 muizen worden gefokt en worden 300 muizen gebruikt voor het hierboven geschreven experiment. <i>Duur proef: 4 jaar.</i> <i>Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot andere ziekten bij de mens)</i> <i>Ongerief: bij fokdieren i.v.m. staartknippen 3 (matig) en bij experimentele dieren 3 (matig; vanwege bloedafname) of 5 (ernstig) i.v.m. immunisatie met FCA.</i> <i>Opmerking DEC:</i> De DEC begrijpt niet goed waarom bij dit protocol de DR11 muis wordt gebruikt. Tevens wil de DEC graag meer toelichting op het hoge aantal dieren dat is opgevoerd. Vanwege het feit dat dit type onderzoek gelijk is aan protocol 2002.023 en de onderzoeker niet beschikbaar was voor het geven van toelichting, heeft de bovengenoemde kleine commissie dit protocol eveneens in een later stadium besproken met de onderzoeker. <i>Toelichting onderzoeker:</i> De onderzoeker begrijpt de verwarring van de DEC m.b.t. de vraagstelling rond de DR11 muis en zegt toe het DEC-protocol op dit punt te zullen verduidelijken. De achterliggende reden voor het hoge aantal dieren binnen dit protocol, was gelegen in het feit dat de onderzoeker met heterozygote lijnen moet fokken waardoor het aantal dieren met een geschikt genotype beperkt is. Na aanpassing van het DEC-protocol, kon dit, na beoordeling door de gehele DEC, worden goedgekeurd. <i>Advies DEC: Positief na aanpassing protocol.</i>

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.025	Titel: <i>Onderzoek aan Cytokinen</i> Inhoud: De betreffende experimenten worden uitgevoerd om inzicht te verkrijgen in de rol van cytokinen bij ziekten zoals allergie, B-cel maligniteiten, chronische ontstekingsziekten zoals RA en SLE en acute infecties zoals septische shock. De ontdekking van steeds weer nieuwe mediators bij deze ziekten, houdt in dat er nieuwe assays ontwikkeld moeten worden. Voor het verkrijgen van poly- en monoclonale antistoffen zullen 32 konijnen en 120 muizen geïmmuniseerd worden. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot andere ziekten bij de mens) Ongerief: 3 (matig) vanwege gebruik van mild adjuvant en/of narcose bij bloedafname. Opmerking DEC: Ook in dit protocol wordt vermeld dat statistisch gezien 2 konijnen niet genoeg is om met 95% zekerheid een goed antiserum te krijgen, maar om het proefdiergebruik te limiteren toch voor twee dieren is gekozen. Ook het aantal van 4 muizen geeft statistisch gezien geen 95% zekerheid. Bovenstaande discussie bij DEC-protocol 2002.020 geldt ook voor dit protocol. Dit houdt in dat de DEC het met deze onderbouwing niet eens is en stelt, dat wanneer de beschikbaarheid van het antigen niet beperkend is, er bij voorkeur meer dieren moeten worden gebruikt (3 konijnen en/of 5 muizen). Deze overweging zal schriftelijk aan de onderzoeker worden medegedeeld. Advies DEC: Positief onder voorwaarde. Wanneer voldoende antigeen aanwezig is wordt het aantal dieren per immunisatie verruimd. Toelichting onderzoeker: In de toelichting wordt door de onderzoeker aangegeven dat de ervaring uit het verleden leert dat 1 konijn voldoende is om goede antistoffen te produceren. Het gebruik van 1 konijn zal dan het meest diervriendelijk zijn, maar omdat er een reële mogelijkheid bestaat dat 1 konijn niet het beoogde resultaat geeft en men dit pas bij het testen constateert, is er gekozen om 2 konijnen per keer te gebruiken.
2002.026	Titel: <i>Productie van polyclonale antistoffen bestemd voor kankeronderzoek</i> Inhoud: De antistoffen die worden verkregen door het immuniseren van 165 konijnen zijn bestemd voor immunologische bepalingen in het kader van kankeronderzoek. Duur proef: 4 jaar Doel proef: 30 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot kanker (excl. carcinogene stoffen) bij de mens) Ongerief: 3 (matig) vanwege gebruik van mild adjuvant en/of narcose bij bloedafname. Bij gebruik CFA: 5 (ernstig) Advies DEC: Positief
2002.027	Titel: <i>Het bepalen van precipiterende antistoffen tegen componenten in duivenserum</i> Inhoud: Afname duivenserum voor het bereiden van allergeen t.b.v. een diagnostische test. Voor de bloedafnames zijn 6 duiven aangevraagd. De dieren zullen volgens een vastgesteld roulatieschema bloed worden afgenomen. De dieren zullen door meerdere onderzoekers worden gebruikt. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 33 (wetenschappelijke vraag met betrekking tot andere ziekten bij de mens) Ongerief: 2 (matig) vanwege het fixeren van het dier bij de bloedafname. Opmerkingen DEC: Zijn dergelijke allergenen niet commercieel verkrijgbaar? Antwoord: nee, dergelijke materialen zijn zeer moeilijk commercieel te verkrijgen. Het aantal dieren in het DEC-protocol zal aangepast worden van 6 naar 8 dieren. Dit met het oog op de noodzakelijke vervanging van een deel van de dieren in de tijd. Advies DEC: Positief

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.028	<u>Titel: Verkrijgen van caviacomplement.</u> Inhoud: Verbloeden van 40 cavia's ter verkrijgen van serum als complementbron voor een kritische kwaliteitscontroletest ten behoeve van de vrijgifte van een geneesmiddel. Duur proef: 4 jaar. Doel proef: 04 (controle en ijking van geneesmiddelen). Ongerief: 1 (gering), aangezien de proef terminaal is <u>Opmerking DEC:</u> Onder 4.5 wordt gezegd dat een aantal van 10 dieren is vereist voor de benodigde hoeveelheid serum. Volledigheidshalve zal dit 10 dieren per jaar moeten zijn. Dit zal worden aangepast in het DEC-protocol. Gelet op de code ongerief, is dit onderzoek reeds door de kleine commissie goedgekeurd.
2002.029	<u>Titel: Improving engraftment potential of human hematopoietic stem cells by in vitro-modulation of their homing efficiency.</u> Inhoud: Onderzoek naar de homing van hematopoietische stamcellen bij 72 muizen met het uiteindelijke doel stamceltransplantaties bij patiënten te verbeteren. Duur proef: 1 jaar Doel proef: 03 (andere ziekten bij de mens) Ongerief: 3 (matig) in verband met bestraling en bijkomen uit narcose na bloedafname. <u>Opmerkingen DEC:</u> 1. Het is niet helemaal duidelijk hoe dit experiment (studie naar repopulatie) zich verhoudt tot de vraagstelling 'welke factoren/eiwitten bepalen de efficiëntie van de migratie van humane hematopoietische stamcellen?' 2. Wat is precies het doel van deze studie? (In het bijzonder de regelmatige bloedafname). 3. Het uiteindelijke doel van de studie is niet geheel duidelijk. <u>Toelichting onderzoeker:</u> 1+3 Experimenten van het type 2 moeten worden uitgevoerd om te bepalen of de manipulatie van onze transplantaten, in dit geval het incuberen van de cellen met peptiden, invloed heeft op het repopulerend vermogen van het transplantaat. Het kan dus zijn dat een verhoogde seedingefficiency (wordt bepaald 24 uur na transplantatie en is een direct resultaat van de migratoire capaciteit van de cellen) gevonden wordt in experimenten van het type 1, terwijl uit de gegevens van experiment type 2 (engraftment; meten we 35 tot 42 dagen na transplantatie en is de resultante van o.a. seeding, fractie van de geseede cellen dat proliferereert en proliferatiesnelheid) blijkt dat de cellen veel minder goed kunnen uitgroeien in het beenmerg van de recipienten. En dat is niet wat er wordt nagestreefd in het project. Het uiteindelijke doel is het verhogen van de migratoire capaciteit, dus verhoging van de seedingefficiëntie, waarbij de verwachting bestaat dat de repopulerende capaciteit door de manipulatie niet verloren gaat. Type 2 experimenten zijn noodzakelijk om de resultaten uit type 1 experimenten uiteindelijk te kunnen transleren naar de klinische (humane) situatie. 2. De regelmatige bloedafname stelt de onderzoeker in staat tussentijds de mate van engraftment te monitoren. Bij goede engraftment zal het percentage humane bloedcellen in de perifere circulatie toenemen. <u>Advies DEC: Positief</u>

Vervolg: Toetsing dierexperimenteel onderzoek

Protocol nr.:	beschrijving dierproef, opmerkingen en advies:
2002.030	<u>Titel: Feederzellen</u> Inhoud: Het verbloeden van 10 muizen en vervolgens uithalen van de milt ter verkrijging van lymfocyten. Deze cellen worden in-vitro gebruikt als feederzellen voor bestaande hybridomen voor de productie van monoclonale antistoffen. <i>Duur proef: 1 jaar</i> <i>Doel: 37 (andere wetenschappelijke vraag)</i> <i>Ongerief: 1 (gering), dier wordt verbloed en komt dus niet meer bij uit narcose.</i> Opmerkingen DEC: De titel van het protocol is niet expliciet genoeg. Kan dit niet aangepast worden zodat het een betere identificatie van het doel weergeeft? Dit zal in het protocol veranderd worden in: Verkrijgen van feederzellen voor hybridoma-kweken. In 4.6 wordt gesproken over het feit dat de dieren voor de handelingen door middel van halswerveldislocatie worden afgevoerd terwijl deze dieren eerst verbloed worden. Dit is niet correct. Derhalve is besloten om dit te veranderen in: Bij de verbloeding wordt halothaan/lachgas narcose toegepast. Na harswerveldislocatie wordt de milt uitgenomen. Advies DEC: Positief na aanpassing van het DEC-protocol