

2007.III.01.013/
Kervolg 1
27/6
3R

ARCHIEF R.v.B. UMC	
corr.nr.	13186
datum ontv.	16 JULI 2007
behandeling:	Dec

ABC

Dierexperimentencommissie DGK/FSB

8 juni 2007

Onderzoeksproject : Ontwikkelen van ~~antifc~~ keten antilichamen tegen cellulaire receptoren en hun liganden die betrokken zijn bij kanker en andere ziektes

DEC-nummer : 2007.III.01.013

Geachte commissie,

Hartelijke dank voor het verlenen van uw toestemming voor het verrichten van immunisaties in Lama's.

Ten aanzien van uw commentaar in de uw brief van 26 april 2007, het volgende:

- Om nieuwe immunisaties behorende bij het een zelfde studie te vermelden, maakte ik gebruik van een ongewijzigde AB-formulier met het aantal dieren dat tot ons beschikking hebben, en waarvoor DEC toestemming heeft verleend om ze te gebruiken voor de studie. Het aantal dieren dat daadwerkelijk gebruikt worden voor de elke immunisatie is genoemd in het C-formulier. Mocht de wijziging van het aantal dieren in het AB-formulier niet leiden tot de behandeling van mijn aanvraag als nieuwe zijnde aanvraag, dan noem ik voortaan alleen het aantal dieren dat ingezet zullen worden voor de immunisaties in zowel AB- en C-formulieren.
- Op uwe aanraden om de leesbaarheid van de aanvraag te verbeteren zal ik de opmerkingen over het gebruik van een cocktail van antigenen en het besluit om door te gaan met bloedcollectie voortaan bij punt 2b noemen.

- Toevoegen van adjuvans was tot nu toe voorbestemd voor zuivere antigenen. Monsters van zuivere antigenen + adjuvans worden dan doorgaans intramusculair geïnjecteerd. Deze immunisatie methode is succesvol gebleken voor alle antigenen tot nu toe.

Weefsels, cellen en celmaterialen beschouwen we als sterk immunogeen door de onzuivere natuur van de monsters. Anticiperend op ernstig ongerief dat de dieren zullen ondervinden door injectie van deze monsters, laten wij daarom het adjuvans achterwege en injecteren wij deze monsters doorgaans subcutaan. Het resultaat van deze nieuwe immunisatie methode wordt bepaald aan de hand van deze immunisatie met membraanblaasjes verrijkt met CCR5 en met de al eerder uitgevoerde immunisatie met Alzheimer patiëntenmateriaal. Bij het uitblijven van een goed immuunrespons, zullen ook deze antigenen in de toekomst samen met een adjuvans geïnjecteerd worden. Tijdens zulke immunisaties zullen we het welzijn van de dieren extra in de gaten houden.

Vertrouwde u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd, hoop ik op een spoedig positief besluit.

Met vriendelijke groet,





Dierexperimentencommissie Academisch Biomedisch Centrum

Het aanmeldingsformulier dient uiterlijk 12 dagen voor de eerstvolgende DEC vergadering ge-e-mailed te worden naar:

dec-abc@umcutrecht.nl

Te behandelen in:

- ☐ Kamer I (Gedrag en Hersenen)
☒ Kamer II (Beeldvorming, Hart/longen, Immunologie & Infectie, Vaten)
☐ Kamer III (Anesthesie, Endocrinologie & Voortplanting, Experimentele cardiologie, GDL- bedrijfsvoering, Heeskunde, Orthopedie)
☒ Ter beoordeling aan de DEC

Aantal toegevoegde C-formulieren: 2

Voor toelichting zie website (www.dec.uu.nl).

Indien u te weinig ruimte heeft, wordt u verzocht een aparte bijlage mee te sturen.

DEEL A: GEGEVENS ONDERZOEKSPROJECT:

1. a. Titel van het onderzoeksprogramma: Lama zware keten antilichamen voor diagnostiek en therapie
- b. Titel van deze studie: Ontwikkelen van lama zware keten antilichamen tegen cellulaire
(uniek, betreft uitsluitend de hieronder aangemelde receptoren en hun liganden die betrokken zijn bij kanker en
dierproeven) andere ziektes
- c. Code t.b.v. registratie dierproeven en proefdieren. 01
Zie www.dec.uu.nl voor de lijst met codes (bij formulieren)
- d. Departement/Divisie/Anders: Biologie
- e. Sectie/Afdeling: [REDACTED]
- f. Projectleider: [REDACTED]
(Eindverantwoordelijke)
- g. Onderzoeker (met art.9 status): [REDACTED]
(Direct verantwoordelijke)
- h. Adres onderzoeker: [REDACTED]
Telefoonnr.: [REDACTED] E-mail adres: [REDACTED]
- i. Aanvang studie (zie 1b): 24 oktober 2006 Einde studie: 01 december 2007

2. a Deze aanvraag betreft (zie zonodig website voor toelichting):

- ☐ een nieuwe aanvraag
- ☐ een onderzoeksproject dat langer dan 5 jaren loopt en daarom als volledig nieuwe aanvraag wordt ingediend. Graag tevens toevoegen:
- een korte samenvatting (half A4'tje) van behaalde resultaten met vermelding van gepubliceerde artikelen;
- een argumentatie waarom u het onderzoek wil voortzetten.
- ☐ een vervolgaanvraag
- ☒ een herhaalde aanvraag: ☒ ongewijzigd
☐ gewijzigd

Indien bekend graag vermelden: DEC-nummer: 2007.III.01.013
Vervolnummer:
GDL reg.nr.:

Niet invullen door aanvrager

Datum binnenkomst: _____

Datum behandeling: _____

Vergaderstuk nr: _____

DEC nr: _____

Vervolnummer: _____



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



- b. In geval van een herhaalde aanvraag **MET** wijzigingen, geef hieronder duidelijk aan welke wijzigingen zijn aangebracht t.o.v. de eerdere aanvraag. (Maximaal 500 tekens beschikbaar)

- c. In geval van een herhaalde aanvraag **ZONDER** wijzigingen, geef hieronder duidelijk aan waarom u het onderzoek opnieuw aanvraagt. (Maximaal 500 tekens beschikbaar)

aanmelding nieuwe antigenen voor immunisaties

- d. In geval van een vervolgaanvraag, geef hieronder duidelijk aan op welke onderzoeksresultaten u deze vervolgaanvraag baseert. (Maximaal 500 tekens beschikbaar)

3. Overige medewerkers betrokken bij handelingen aan proefdieren:

onderzoekers

(art. 9 bevoegd)

dierversorger/biotechnici
Niet-GDL

(art. 12 bevoegd)

[redacted] (toezichthoudende dierenarts)
[redacted] (hoofd dierversorger), [redacted]
[redacted]

analisten

functie of bevoegdheid

stagiaires, studenten

(zonder bevoegdheid)

[redacted]

anderen

functie of bevoegdheid



4. Het betreft hier onderzoek uit de:

- ☐ 1e geldstroom;
- ☐ 2e geldstroom; via:
- ☒ 3e geldstroom; via: EU project (EMPRO)
- ☒ 4e geldstroom; via: [REDACTED]

Indien het een commercieel gesponsord onderzoek betreft, dat wordt uitgevoerd door een onderzoeker met een dienstverband met de UU of het UMC Utrecht, dient ook het formulier 'Interne doorbelasting' ingevuld en meegezonden te worden. U kunt dit formulier vinden op de website (www.dec.uu.nl) onder 'formulieren'. Zonder dit formulier wordt uw aanvraag niet in behandeling genomen.

5. Hoe heeft de beoordeling van de wetenschappelijke kwaliteit van het onderzoeksproject plaatsgevonden?

- ☐ Interne wetenschappelijke commissie(s), te weten:
- ☐ Extern, te weten: EU
- ☐ Collectebusfondsen, namelijk:
- ☐ Industrie, namelijk:
- ☒ Anders, nl: Projectleider

6. Korte omschrijving van vraagstelling, doel en belang van het onderzoek, mede in het licht van het voorgestelde proefdiergebruik en resultaten tot op heden behaald in het onderzoekstraject:

Achtergrond (Maximaal 2000 leestakens beschikbaar, indien u onvoldoende ruimte heeft, kunt u een bijlage toevoegen): Kameelachtigen zoals lama's en kamelen beschikken over een IgG klasse die uitsluitend uit twee zware ketens bestaat, in tegenstelling tot de conventionele IgG die gevormd zijn door twee zware en twee lichte polypeptideketens. Het functionele antigeen bindend domein van deze zware keten antilichaam (VHH) is als gevolg hiervan een klein polypeptide van ~15 kDa. Door hun kleine maat en hun hoge recombinant expressie in verschillende micro-organismen, hebben de VHHs een hoge potentie om gebruikt te worden in diagnostiek en therapie voor menige ziektes voor mens en dier. Uit de literatuur zijn verschillende voorbeelden bekend van het opwekken van een geschikte immuunrepons in lama's tegen antigenen van diverse oorsprong en vervolgens het isoleren van specifieke VHHs tegen deze antigenen zijn bekend. De verkregen VHHs bleken geschikt te zijn voor diverse toepassingen. VHHs bezitten alle eigenschappen en capaciteit van een monokonaal antilichaam wat betreft herkenning en binding aan het antigeen. Bovendien bezitten VHHs door hun kleine maat additionele voordelen ten opzicht van conventioneel monoklonale antilichamen. Zodoende zijn er bijvoorbeeld VHHs geselecteerd die als enzym inhibitor fungeren. In deze studie, willen wij voor de duur van een periode van drie jaar VHHs genereren tegen eiwitten, receptoren en hun liganden uit humaan cellen en hun pathogenen. De bijdrage van de geselecteerde VHHs in de strijd tegen infectieziektes en chronische ziektes (bv. Kanker) wordt onderzocht. Het aantal immunisatie experimenten en het aantal dieren dat gebruikt zal worden per experiment zal worden gespecificeerd in de C formulieren.



Doel/Hypothese (Maximaal 650 leestekens beschikbaar):

VHHs kunnen een bijdrag leveren in de strijd tegen acute en chronische aandoeningen. VHHs tegen specifiek antigenen, die een sleutel rol spelen bij dergelijke aandoeningen, worden opgewekt door Lama's te immuniseren met het antigeen. Vervolgens, worden de VHHs gezuiverd en toegepast om de functie van dat antigeen tegen te werken en de aandoening te genzen. Doel van elke experiment is het verkrijgen van een goede immuunrespons in lama's tegen de gebruikte antigenen. VHHs, die agonistische of antagonistische functies hebben, worden geselecteerd in vitro door middel van display en hun diagnostisch en therapeutisch belang wordt onderzocht.

Belang (Maximaal 325 leestekens beschikbaar)

wetenschappelijk:

Monoklonale zware keten antilichamen zijn goede instrumenten om de processen in cellen en organismen te bestuderen en te manipuleren. VHHs kunnen hun doel moleculen vinden zelfs als ze zich diep in weefsels of binnenin de cellen bevinden. Door hun hoge stabiliteit kunnen deze VHHs verschillende toepassingen hebben.

Maatschappelijk (Maximaal 325 leestekens beschikbaar)

Kanker en infectieziekten vormen een grote bedreiging voor de maatschappij. VHHs kunnen kanker stoppen doordat ze als antagonisten van groeireceptoren kunnen fungeren. VHHs kunnen een waardige alternatief in de strijd tegen pathogenen, die resistent worden tegen de huidige medicijnen.

Samenvatting doel en belang van deze studie, bedoeld voor het openbaar jaarverslag van de DEC:

Deze tekst wordt opgenomen in het openbaar jaarverslag van de DEC en dient begrijpelijk te zijn voor de geïnteresseerde leek. (Maximaal 1000 leestekens beschikbaar)

Door Lama's te immuniseren met antigenen, die een sleutel rol spelen bij acute en chronische aandoeningen, hopen wij zware keten antilichamen te ontwikkelen, die toegepast zullen worden in diagnostiek en therapie van verschillende ziektes bij mens en dier.

7. Gezien door de proefdierdeskundige:

☒ Ja ☐ Nee, omdat

8. Hierbij verklaart indelner dat de projectleider kennis heeft genomen van en akkoord gaat met de inhoud van deze aanvraag.

Projectleider:

[Redacted signature]

Onderzoeker/art.9. functionaris:

[Redacted signature]

Datum:

08 januari 2007

Datum:

08 januari 2007



DEEL B: GEGEVENS PROEFDIEREN

1. In geval van herhaalde of vervolgaanvraag: hoeveel dieren heeft u voor deze studie (zie 1b) in de afgelopen twaalf maanden aangevraagd (s.v.p. gebruik per diersoort aangeven)?
27 Lama's (Lama glama)

Hoeveel dieren heeft u daadwerkelijk gebruikt (s.v.p. gebruik per diersoort aangeven)?
Verklaar een afwijking tussen aantal aangevraagd en aantal gebruikt. (Maximaal 285 leestekens beschikbaar)
6 Lama's (vanaf november 2008). 27 Lama's werden bepaald aan de hand van elke dier wordt eenmalig gebruikt voor een experiment. Nu we de toestemming hebben om de dieren te hergebruiken, zullen wij de benodigde aantal dieren aanpassen.

2. Aantal te gebruiken dieren per soort/stam in de komende twaalf maanden.

Diersoort/stam	Aantal	Herkomst
1. Lama glama	15	3 (niet geregistreerde fok/aflevering Nederl
2.		maak een keuze
3.		maak een keuze
4.		maak een keuze
5.		maak een keuze
6.		maak een keuze

3. Worden surplusdieren gebruikt of dieren die al eerder als proefdier zijn ingezet?

Diersoort/stam

1 2 3 4 5 6

(Maximaal 75 leestekens beschikbaar)

☒ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ Ja, tenzij

er geen toestemming is voor hergebruik van de dieren

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ Nee, omdat

4. a. Waar worden de dieren gehuisvest?

Diersoort/stam	Aantal	Locatie	Indien elders, waar? (Maximaal 45 leestekens beschikbaar)
1. Lama glama	4	maak een keuze	
2.		maak een keuze	
3.		maak een keuze	
4.		maak een keuze	
5.		maak een keuze	
6.		maak een keuze	

Indien elders: wie verzorgt de dieren? (Maximaal 60 leestekens beschikbaar)

Dierenverzorgers van



b. Hoe worden de dieren gehulsvest?

Diersoort/ stam	Alleen/ groeps verband	Bedding	Kool verrijking	Specificeer koolverrijking (Maximaal 25 leestekens beschikbaar!)
1.	groep	ja	nee	
2.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
3.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
4.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
5.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	
6.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	

c. Indien van toepassing, motiveer waarom dieren solitair en/of zonder bedding en/of zonder koolverrijking worden gehulsvest. (Maximaal 450 leestekens beschikbaar!)

geen specifiek koolverrijking anders dan hooi. Wel buitenomloop.

5. Wat is de bestemming van de dieren na afloop van het experiment?

Diersoort/stam	Bestemming	Euthanasiemethode:	Anderszins:
1. Lama glama	Anderszins		Hergebruik (immunisaties)
2.	maak een keuze		
3.	maak een keuze		
4.	maak een keuze		
5.	maak een keuze		
6.	maak een keuze		

6. Geef een korte argumentatie waarom de vraagstelling niet met minder dieren of anders dan d.m.v. dierproeven (bijvoorbeeld m.b.v. celkweek, computermodellen, etc.) beantwoord kan worden. Waar heeft u advies hierover ingewonnen? (Maximaal 1000 leestekens beschikbaar!)

Het verkrijgen van antilichamen met hoge affiniteit is van groot belang voor de uiteindelijke toepassingen, vooral als het gaat om antilichamen die als antagonisten of agonisten voor een cellulaire receptor moeten functioneren. Antilichamen met hoge affiniteit worden voornamelijk verkregen door immunisatie en de vervolg maturatie van de immune cellen in een het lichaam. Dit mechanisme is moeilijk, en zelfs onmogelijk, in vitro na te bootsen. Om die redenen zijn immunisatie experimenten in dieren noodzakelijk.



7. Geef een motivering van de keuze van de diersoorten en stammen. (Maximaal 1000 leestekens beschikbaar)

Functionele zware keten IgG komt alleen bij kameelachtigen, zoals lama's en kamelen voor. Aangezien lama's in relatief kleiner ruimtes kunnen gehouden worden en aangezien dat ze beter handelbaar zijn in vergelijking met kamelen, hebben wij voor lama's gekozen. Bovendien hebben wij in de afgelopen jaren veel ervaringen opgebouwd in het werken met lama VHHs.

8. Welke methodologische maatregelen (proefopzet, statistiek) worden er genomen om het aantal dieren (zowel het aantal groepen als het aantal dieren per proefgroep) te berekenen en te beperken? Motiveer uw antwoord met uitkomsten van berekeningen (bijvoorbeeld power analyse) en een gedetailleerde methodologische opzet. (Maximaal 1000 leestekens beschikbaar)

Het aantal dieren dat gebruikt wordt voor elke immunisatie experiment zal in de meeste gevallen tot een minimum beperkt gehouden worden (1 lama voor 1 of meerdere antigenen). Door de variaties in de immunrespons van de dieren willen wij de mogelijkheid open houden dat we meerdere lama's voor een enkel antigeen gebruiken.

9. Betreft de aanvraag onderzoek met genetisch gemodificeerde dieren?

☐ ja ☒ nee



DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF

Per diersoort en per procedure DEEL C apart beantwoorden en doornummeren. Dit is exemplaar 2.

Naam onderzoeker [REDACTED]

Afdeling [REDACTED]

Titel van deze studie: zware keten antilichamen tegen HIV coreceptor CCR5

Indien bekend:

DEC nr

2007.III.01.013

1. Diersoort: Lama glama
Aantal dieren: 2

2. a. Geef puntsgewijze omschrijving van de experimentele procedure (nummeren) waaraan de dieren worden onderworpen. Vermeld hierbij tevens frequentie, klinische effecten etc. aard, duur ingreep en, indien van toepassing, lengte van het interval tussen de ingrepen.

Graag protocol/werkplan/behandelschema bijvoegen!

Zware keten antilichamen worden opgewekt tegen gezuiverde CCR5 en membraanblaasjes uit cellen die CCR5 tot overexpressie brengen. Immunisatie met gezuiverde CCR5 (50 ug) in aanwezigheid van [REDACTED] (1ml injectie). Intramusculair. Membraanblaasjes uit 10^8 cellen worden subcutaan in 1 ml PBS geïnjecteerd.

1. Dag 0, 10 ml pre-immune serum nemen uit halsader via een venoject systeem.
2. Dag 0, primaire immunisatie i.m. in de nek (hele dosis).
3. Dag 7, herhaling van immunisatie (hele dosis).
4. Dag 14, boost met halve dosis.
5. Dag 21, 10 ml immune serum nemen (als in 1.).
6. Dag 21, boost met halve dosis (als in 4.).
7. Dag 28, boost met halve dosis (als in 6.).
8. Dag 35, boost met halve dosis (als in 7.).
9. Dag 45, 150 ml bloed nemen.

- b. Worden er binnen de procedure farmaca (anders dan pijnstillers) gebruikt? Ja ☐ / ☒ Nee
Zo ja, geef aard, wijze, frequentie en plaats van toediening en dosering aan en mogelijke bijwerkingen.

Immunisaties met weefsels, cellen en celfracties vinden plaats door subcutaan injecties in de afwezigheid van adjuvants.

De beslissing om met de bloedcollectie op dag 43 (2a) door te gaan zal afhangen van de titer van antilichamen tegen de gebruikte antigenen in de immune serum (bloedafname op dag 21). Bij lage antilichamentiter (niet hoger dan factor 5 ten opzicht van de pre-immune serum (bloedafname op dag 0)), zal het immunisatie experiment met vier weken verlengd worden. In die vier weken zullen wekelijkse boost gegeven worden (zoals beschreven onder 2a).



3. a **Schatting van het ongerief dat als gevolg van het experiment bij de dieren optreedt per handeling en per bijbehorend interval.**

Gebruik uw opsomming uit vraag 2a als basis maar beschrijf niet alleen ongerief dat wordt veroorzaakt door de handeling zelf maar ook ongerief dat op termijn kan ontstaan als gevolg van die handeling. Neem ook de euthanasie op in de tabel inclusief bijbehorend ongerief.

Procedure			Ongerief	
Nr.	Duur procedure/ duur gevolg	Frequentie	Beschrijving van het ongerief tijdens en ten gevolge van de procedure	Inschatting
1	5 min/0	1		gering
2-4	5 min/?	2	Adjuvans [redacted] kan ongerief veroorzaken [redacted] i.m. heeft een ongerief score van 4 (code of practice voor het immuniseren van proefdieren; aangepaste versie augustus 2000).	matig/ernstig
5	5 min/0	1		gering
6-8	5 min/?	2	Adjuvans [redacted] kan ongerief veroorzaken [redacted] i.m. heeft een ongerief score van 4 (code of practice voor het immuniseren van proefdieren; aangepaste versie augustus 2000).	matig/ernstig
9	10 min/0	1		gering
	/			maak een keuze

b. **Duur gehele experiment** 6 tot 8 weken

Inschatting ongerief gehele experiment. matig/ernstig



4. a. Wordt anesthesie toegepast?

☐ ja, nl.:

in welke vorm en
dosering:
hoe lang:

met welke intervallen:

☒ nee, omdat: de verrichte handelingen geen anesthesie behoeven. Als de dieren onhandelbaar worden, wordt, in overleg met de dierenarts, anesthesie gebruikt.

b. Wordt pijnbestrijding toegepast?

☐ pre-operatief ☐ peri-operatief ☒ post-operatief ☐ peri- en postoperatief

nl.: Finadyne

In welke vorm en
dosering : oplossing 4 ml i.m.
hoe lang: eenmalige

met welke intervallen:

☐ nee, omdat:

c. Worden andere methoden gebruikt om het ongerief voor de proefdieren zo veel mogelijk te beperken?

☒ ja, nl.: -Stress wordt tot het minimum beperkt.
-Adjuvans [redacted] wordt in beperkte maat gebruikt.

☐ nee, omdat:

d. Wanneer acht u het noodzakelijk om het dier te euthanaseren (humaan eindpunt)?
Wilt u deze duidelijk specificeren?

De welzijn en gezondheidstoestand van de dieren wordt regelmatig gecontroleerd door een dierenarts. Als blijkt dat een van de dieren lijdt, dan wordt het geëuthanaseerd.

Een mogelijk humaan eindpunt is bij onthouding van een dier van voedsel en/of wateropname voor lange tijd en als gevolg daarvan meer dan 20% gewichtverlies optreedt in 2 dagen.



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



5. a. Zijn er proefdieren bij die reeds eerder gebruikt zijn in andere experimenten?

☒ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en 2007.III.01.013 (matig/ernstig)
met welk ongerief:

☐ nee

b. Worden dezelfde dieren ook nog aan andere experimentele procedures onderworpen?

☐ ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en
met welk ongerief:

☒ nee

6. Uitsluitend voor genetisch gemodificeerde dieren:

a. Specificeer het fenotype en beschrijf eventueel gerelateerd ongerief.

b. Hoe wordt dit ongerief ingeschat?
Maak een keuze

7. Opmerkingen:

De 2 Lama's worden geïmmuniseerd na de gelaste rustperiode tussen 2 immunisaties. De vorige immunisatie beëindigde op 29 maart 2007.



DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF Universitair Medisch Centrum
Utrecht

Per diersoort en per procedure DEEL C apart beantwoorden en doornummeren. Dit is exemplaar 1.

Naam onderzoeker [REDACTED]

Afdeling [REDACTED]

Titel van deze studie: zware keten antilichamen tegen complement C3, ApoE, ApoJ en LDL. Indien bekend:
DEC nr
2007.III.01.013

1. Diersoort: Lama glama
Aantal dieren: 2

2. a. Geef puntsgewijze omschrijving van de experimentele procedure (nummers) waaraan de dieren worden onderworpen. Vermeld hierbij tevens frequentie, klinische effecten etc. aard, duur Ingreep en, indien van toepassing, lengte van het interval tussen de Ingrepen.

Graag protocol/werkplan/behandelschema bijvoegen!

Zware keten antilichamen worden opgewekt tegen complement C3, apolipoproteïne E (ApoE), clusterin (ApoJ) en LDL. immunisatie met een cocktail van de antigenen (50-100 ug) intramusculair, in de aanwezigheid van adjuvans [REDACTED] (1:1).

1. Dag 0, 10 ml pre-immune serum nemen uit halsader via een venoject systeem.
2. Dag 0, primaire immunisatie i.m. in de nek (hele dosis).
3. Dag 7, herhaling van immunisatie (hele dosis).
4. Dag 14, boost met halve dosis.
5. Dag 21, 10 ml immune serum nemen (als in 1.).
6. Dag 21, boost met halve dosis (als in 4.).
7. Dag 28, boost met halve dosis (als in 6.).
8. Dag 35, boost met halve dosis (als in 7.).
9. Dag 45, 150 ml bloed nemen.

- b. Worden er binnen de procedure farmaca (anders dan pijnstillers) gebruikt? Ja ☐ / ☒ Nee
Zo ja, geef aard, wijze, frequentie en plaats van toediening en dosering aan en mogelijke bijwerkingen.

Bij een cocktail van antigenen wordt de gewenste concentratie van de afzonderlijke antigenen samengevoegd in een oplossing van 2 ml steriele PBS. Voor de immunisatie wordt er 2 ml Adjuvans [REDACTED] toegevoegd. De totaal oplossing wordt intramusculaire geïnjecteerd op 2 plaatsen.

De beslissing om met de bloedcollectie op dag 43 (2a) door te gaan zal afhangen van de titer van antilichamen tegen de gebruikte antigenen in de immune serum (bloedafname op dag 21). Bij lage antilichamentiter (niet hoger dan factor 5 ten opzicht van de pre-immune serum (bloedafname op dag 0)), zal het immunisatie experiment met vier weken verlengd worden. In die vier weken zullen wekelijkse boost gegeven worden (zoals beschreven onder 2a).

3. a **Schatting van het ongerief dat als gevolg van het experiment bij de dieren optreedt per handeling en per bijbehorend interval.**

Gebruik uw opsomming uit vraag 2a als basis maar beschrijf niet alleen ongerief dat wordt veroorzaakt door de handeling zelf maar ook ongerief dat op termijn kan ontstaan als gevolg van die handeling. Neem ook de euthanasie op in de tabel inclusief bijbehorend ongerief.

Procedure			Ongerief	
Nr.	Duur procedure/ duur gevolg	Frequentie	Beschrijving van het ongerief tijdens en ten gevolge van de procedure	Inschatting
1	5 min/0	1		gering
2-4	5 min/?	2	Adjuvans [redacted] kan ongerief veroorzaken [redacted] i.m. heeft een ongerief score van 4 (code of practice voor het immuniseren van proefdieren; aangepaste versie augustus 2000).	matig/ernstig
5	5 min/0	1		gering
6-8	5 min/?	2	Adjuvans [redacted] kan ongerief veroorzaken [redacted] i.m. heeft een ongerief score van 4 (code of practice voor het immuniseren van proefdieren; aangepaste versie augustus 2000).	matig/ernstig
9	10 min/0	1		gering
	/			maak een keuze

b. **Duur gehele experiment** 6 tot 8 weken

Inschatting ongerief gehele experiment. matig/ernstig



Universitair Medisch Centrum
Utrecht

4. a. Wordt anesthesie toegepast?

☐ ja, nl.:

In welke vorm en
dosering:
hoe lang:

met welke intervallen:

☒ nee, omdat: de verrichte handelingen geen anesthesie behoeven. Als de dieren onhandelbaar worden, wordt, in overleg met de dierenarts, anesthesie gebruikt.

b. Wordt pijnbestrijding toegepast?

☐ pre-operatief ☐ peri-operatief ☒ post-operatief ☐ peri- en postoperatief

nl.: Finadyne

In welke vorm en
dosering : oplossing 4 ml i.m.
hoe lang: eenmalige

met welke intervallen:

☐ nee, omdat:

c. Worden andere methoden gebruikt om het ongerief voor de proefdieren zo veel mogelijk te beperken?

☒ ja, nl.: -Stress wordt tot het minimum beperkt.
-Adjuvans [redacted] wordt in beperkte maat gebruikt.

☐ nee, omdat:

d. Wanneer acht u het noodzakelijk om het dier te euthanaseren (humaan eindpunt)?
Wilt u deze duidelijk specificeren?

De welzijn en gezondheidstoestand van de dieren wordt regelmatig gecontroleerd door een dierenarts. Als blijkt dat een van de dieren lijdt, dan wordt het geëuthanaseerd.
Een mogelijk humaan eindpunt is bij onthouding van een dier van voedsel en/of wateropname voor lange tijd en als gevolg daarvan meer dan 20% gewichtverlies optreedt in 2 dagen.



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK



Universitair Medisch Centrum

~~Ottrecht~~

5. a. Zijn er proefdieren bij die reeds eerder gebruikt zijn in andere experimenten?

☒ Ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en 2007.III.01.013 (matig/emstig)
met welk ongerief:

☐ nee

- b. Worden dezelfde dieren ook nog aan andere experimentele procedures onderworpen?

☐ Ja Zo ja, bij welk project (DEC nr.) en
met welk ongerief:

☒ nee

6. Uitsluitend voor genetisch gemodificeerde dieren:

- a. Specificeer het fenotype en beschrijf eventueel gerelateerd ongerief.

- b. Hoe wordt dit ongerief ingeschat?
Maak een keuze

7. Opmerkingen:

De 2 Lama's worden geïmmuniseerd na de gelaste rustperiode tussen 2 immunisaties. De vorige immunisatie beëindigd op 29 maart 2007.



Universiteit Utrecht

Academisch Biomedisch Centrum
DEC-ABC

ambtelijk secretaris
Telefoon 030 250 9247
Fax 030 250 5022
Huispost D 01.343
E-mail dec-abc@umcutrecht.nl

29 juni 2007

07/12059

Onderzoeksproject : Ontwikkelen van lama zware keten antilichamen tegen
cellulaire receptoren en hun liganden betrokken bij kanker
DEC-nummer : 2007.III.01.013/vervolg1
GDL-nummer : Onbekend
Advies d.d. 27/06/2007 : Positief advies (met opmerking) tot 1 mei 2008
Aantal en soort dieren : 4 lama's (toegestaan bij brief d.d. 26 april 2007)
Geldstroom : Intern

Geachte heer

De DierExperimentenCommissie (DEC-ABC) heeft het door u ingediende bovenvermelde onderzoeksproject besproken.

Advies en voorwaarde(n):

De DEC dankt u voor het beantwoorden van de vragen en geeft een definitief positief advies af voor het gebruik van 4 lama's (toegestaan bij brief d.d. 26 april 2007).

Inzake uw opmerking over het mogelijk ontstane ernstig ongerief merkt de DEC op uw antwoord te lezen als dat u om die reden geen gebruik wil maken van het adjuvans. Uit belangstelling wil de DEC graag van u weten op welk ernstig ongerief u doelt. Moet de DEC dan denken aan systemische ziekten als bijvoorbeeld auto-immuunziekten?

Conform het advies van de DEC wordt toestemming verleend tot het uitvoeren van deze dierproef. De DEC verzoekt u in geval van vragen en/of opmerkingen deze te beantwoorden in een brief en zo nodig aangepaste formulieren als bijlage mee te zenden.

Namens de vergunninghouders,
het College van Bestuur UU en/of Raad van Bestuur UMC Utrecht,

ambtelijk secretaris DEC-ABC

C.c.: