

2007.II.01.013/
vervolg 2

19/12
3H

ABC

Dierexperimentencommissie DGK/FSB

05 december 2007

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

DEC-nummer : 2007.III.01.013

Geachte commissie,

In antwoord op uw vragen en opmerkingen in uw brief van 30 november jl., het volgende:

- Lama's die gebruikt werden voor de immunisaties voldoen weliswaar niet aan microbiologische standaardisatie maar een hoge pre-immuunrespons tegen de gebruikte antigenen was zelden waargenomen in de dieren die voor het eerst werden geïmmuniseerd. Een verhoogde serumrespons tegen enkele antigenen werd wel waargenomen in dieren die in eerdere immunisaties complex antigenen zoals HEK293 cellen met overexpressie van ion-kanalen (4 dieren), en Alzheimer patiëntenmateriaal (2 dieren). Zuivere antigenen zijn ook een bron van kruisreactiviteit doordat de meeste zuivere recombinant immunogenen in werkelijk fusie eiwitten met de Fc-gedeelte van IgG of een andere tag (alle dieren). In de toekomst zullen meer antigenen als fusie met Fc en andere tags, die de zuivering vergemakkelijken, vaker gebruikt worden met het risico dat antilichamen alleen tegen de fusie gedeelte worden gemaakt en niet tegen het antigeen van interesse. Daarom denken wij dat vervanging van de dieren wenselijk en rechtvaardig is.
- Gelet op de interne hygiëne protocol van de [REDACTED] van faculteit diergeneeskunde tegen de verspreiding van infectieziektes, worden de dieren geëuthanaseerd. Punt 5 van Deel B is aangepast.
- Het immunisatieregime dat thans gevolgd wordt is overgenomen van de succesvolle immunisaties bij [REDACTED] (patents. [REDACTED]). Dit regime leidt tot het opwekken van een goede antilichaamrespons van de zware keten klasse. Uit de literatuur zijn er ook afwijkende immunisatieregimes te vinden waarin Lama's drie keer geboost worden. Wij zijn bereid dit immunisatieregime met weinig boosters en langer tussenperiodes te volgen in de toekomst als dit ook leidt tot het opwekken van een goede antilichaamrespons van de zware keten klasse.
- Bij verlenging van het immunisatieprotocol met 4 wekelijkse boosters bij een te laag immuunrespons, bedoel ik additioneel 4 weken na dag 43 (eind van de immunisatie). Een te lage immuunrespons tegelijkertijd tegen alle antigenen die geïnjecteerd werden is nooit voorgekomen. Bij het uitblijven van immuunrespons tegen een antigeen uit de cocktail van de antigenen, wordt het immunisatieprotocol niet verlengd.
- Welzijnsevaluatieformulieren worden doorgaans ingediend bij de proefdierdeskundige aan het eind van elke immunisatieproef. Ik zal ook een welzijnsevaluatieoverzicht maken van alle uitgevoerde immunisaties in het afgelopen jaar.

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

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]

ARCHIEF R.v.B. UMC	
corr.nr.	22793
datum ontv.	11 DEC 2007
behandeling:	DEC
afschrift:	



Dierexperimentencommissie Academisch Biomedisch Centrum

Het aanmeldingsformulier dient uiterlijk 12 dagen voor de eerstvolgende DEC vergadering ge-e-maild 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, Heelkunde, 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:

Niet invullen door aanvrager

Datum binnenkomst: _____
Datum behandeling: _____
Vergaderstuk nr: _____
DEC nr: _____
Vervolnummer: _____

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:** _____
- f. **Projectleider:** _____
(Eindverantwoordelijke)
- g. **Onderzoeker (met art.9 status):** _____
(Direct verantwoordelijke)
- h. **Adres onderzoeker:** _____
Telefoonnr.: _____ E-mail adres: _____
- i. **Aanvang studie (zie 1b):** 01 januari 2008 **Einde studie:** 31 december 2010
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.:



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!)

In dit aanvraag beperken we het aantal dieren tot 10, door ze te hergebruiken voor immunisatie experimenten. De dieren worden opnieuw geïmmuniseerd na een rustperiode van 1 maand. De dieren worden gebruikt zolang ze immunocompetent zijn. Bij het uitblijven van een goed immuunrespons, vragen wij toestemming om het betreffende dier(en) te mogen vervangen.

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

- 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)

dierverszorger/biotechnici (art. 12 bevoegd)
Niet-GDL

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

analisten functie of bevoegdheid

stagiaires, studenten (zonder bevoegdheid)

[redacted]

anderen functie of bevoegdheid



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



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 leestekens 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. 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 antigen. Bovendien bezitten VHHs door hun kleine maat additionele voordelen ten opzicht van conventionele 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 gespecificeerd worden in de C formulieren.



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



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 sleutelrol spelen bij dergelijke aandoeningen, worden opgewekt door Lama's te immuniseren met het antigen. Vervolgens, worden de VHHs gezuiverd en toegepast om de functie van dat antigen te moduleren en de aandoening te genezen. 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 worden deze VHHs voor verschillende doeleinden toegepast.

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 sleutelrol 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 indiener dat de projectleider kennis heeft genomen van en akkoord gaat met de inhoud van deze aanvraag.

Projectleider:

[Handwritten signature]

Onderzoeker/art.9. functionaris:

[Handwritten signature]

Datum:

05 december 2007

Datum:

05 december 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)?
15 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!)
9 Lama's. (Door beperkt geschikte ruimte bij vakgroep LHD van diergeneeskunde, hebben wij maar 9 dieren gebruikt).

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

Diersoort/stam	Aantal	Herkomst
1. Lama glama	10	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 de dieren niet meer immunocompetent zijn.

☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ Nee, omdat

4. a. Waar worden de dieren gehuisvest?

Diersoort/stam	Aantal	Locatie	Indien elders, waar? (Maximaal 45 leestekens beschikbaar!)
1. Lama glama	10	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 afdeling



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



b. Hoe worden de dieren gehuisvest?

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 gehuisvest. (Maximaal 450 leestekens beschikbaar!)

Groepshuisvesting, 2 kooien met stro bedding en buitenomloop.

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

Diersoort/stam	Bestemming	Euthanasiemethode:	Anderszins:
1. Lama glama	Euthanasie	T61	
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. celweek, 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 hun uiteindelijke toepassingen, vooral als het gaat om antilichamen die als antagonisten of agonisten van een cellulaire receptor moeten fungeren. Antilichamen met hoge affiniteit worden voornamelijk verkregen door immunisatie en de vervolg maturatie van de immune cellen in het lichaam. Dit mechanisme is moeilijk, en zelfs onmogelijk, na te bootsen in vitro. 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 immuunrespons van de dieren wensen wij twee lama's voor een enkel antigeen te gebruiken.

9. Betreft de aanvraag onderzoek met genetisch gemodificeerde dieren?

☐ ja ☒ nee



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF

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 zuivere eiwit antigenen

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 zuivere eiwit antigenen door intramusculaire injectie van het antigeen in de aanwezigheid van adjuvans [REDACTED]. 50 tot 100 ug antigeen wordt wekelijks geïnjecteerd gedurende 6 weken. Enkel antigeen of een cocktail van antigenen wordt gebruikt. Afhankelijk van het volume wordt er op 1 of 2 plekken geïnjecteerd (Max. injectie volume ~2 ml). Immunisatie schema is als volgt:

1. Dag 0, 10 ml pre-immune serum nemen uit halsader via een venoject systeem.
2. Dag 0, primaire immunisatie i.m. (hele dosis)
3. Dag 7, injectie (als in 2.).
4. Dag 14, boost met halve dosis.
5. Dag 21, 10 ml immune serum nemen (als in 1.).
6. Dag 21, boost (als in 4.).
7. Dag 28, boost (als in 4.).
8. Dag 35, boost (als in 4.).
9. Dag 43, 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.

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).



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



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/0	3	Ongerief door het vasthouden en tijdens injecties. Geen merkbaar ongerief door het gebruik van [REDACTED] als adjuvans	gering/matig
5	5 min/0	1		gering
6-8	5 min/0	3	Ongerief door het vasthouden en tijdens injecties. Geen merkbaar ongerief door het gebruik van [REDACTED] als adjuvans	gering/matig
9	10 min/0	1		gering
	/			maak een keuze

b. Duur gehele experiment 6-8 weken

Inschatting ongerief gehele experiment. gering/matig



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 : 4 ml oplossing i.m.
hoe lang: eenmalig

met welke intervallen:

☐ nee, omdat:

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

☐ ja, nl.:

☒ nee, omdat: er geen merkbaar ongerief is

**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.



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 (gering/matig)
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 Lama's worden hergebruikt voor immunisaties na de ingelaste rustperiode tussen 2 immunisaties van 1 maand.

Elke immunisatie en de bijbehorende antigenen wordt gemeld bij de proefdierdeskundige. Na toestemming van DEC wordt er gestart met de nieuwe immunisaties.



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



DEEL C: OMSCHRIJVING DIERPROEF

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 complex antigenen (cellen, weefsels) 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 complex antigenen in cellen en weefsels door subcutaan injectie van het antigeen (zonder adjuvans). Het antigeen wordt wekelijks geïnjecteerd gedurende 6 weken. Afhankelijk van het volume wordt er op 1 of 2 plekken geïnjecteerd (Max. injectie volume ~2 ml). Immunisatie schema is als volgt:

1. Dag 0, 10 ml pre-immune serum nemen uit halsader via een venoject systeem.
2. Dag 0, primaire immunisatie i.m. (hele dosis)
3. Dag 7, injectie (als in 2.).
4. Dag 14, boost met halve dosis.
5. Dag 21, 10 ml immune serum nemen (als in 1.).
6. Dag 21, boost (als in 4.).
7. Dag 28, boost (als in 4.).
8. Dag 35, boost (als in 4.).
9. Dag 43, 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.

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 (bloedaafname op dag 21). Bij lage antilichamentiter (niet hoger dan factor 5 ten opzicht van de pre-immune serum (bloedaafname 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).



Aanmeldingsformulier ten behoeve van ethische toetsing gebruik proefdieren
ONDERZOEK

2007



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 <u>tijdens</u> en <u>ten gevolge van de</u> procedure	Inschatting
1	5 min/0	1		gering
2-4	5 min/0	3	Ongerief door het vasthouden en tijdens injecties.	gering/matig
5	5 min/0	1		gering
6-8	5 min/0	3	Ongerief door het vasthouden en tijdens injecties.	gering/matig
9	10 min/0	1		gering
	/			maak een keuze

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

Inschatting ongerief gehele experiment. gering/matig



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 : 4 ml oplossing i.m.
hoe lang: eenmalig

met welke intervallen:

☐ nee, omdat:

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

☐ ja, nl.:

☒ nee, omdat: er geen merkbaar ongerief is

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.

Bij optreden van enige ongerief door overleving van de geïnjecteerde cellen worden de dieren geëuthanaseerd.



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 (gering/matig)
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 Lama's worden hergebruikt voor immunisaties na de ingelaste rustperiode tussen 2 immunisaties van 1 maand.

Elke immunisatie en de bijbehorende antigenen wordt gemeld bij de proefdierdeskundige. Na toestemming van DEC wordt er gestart met de nieuwe immunisaties.

Postadres:
Huispost D01.343, Heidelberglaan 100, 3584 CX UTRECHT



Academic Biomedical Centre Utrecht

DEC ABC

[Redacted address]

Ons kenmerk

[Redacted] /07/23383

Telefoon

(088) 75 59247

Faxnummer

(088) 75 55022

E-mail

dec-abc@umcutrecht.nl

Internet

www.dec.uu.nl

Contactpersoon

[Redacted] ambtelijk secretaris

Datum
20 december 2007
Bijlagen

Onderzoeksproject : Ontwikkelen van lama zware keten antilichamen tegen cellulaire receptoren en hun liganden betrokken bij kanker - vervolg2
DEC-nummer : 2007.III.01.013/vervolg2
Advies d.d. 19/12/2007 : Aanhouden
Aantal en soort dieren : Geen dieren
Geldstroom : Intern

Geachte heer [Redacted],

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

Advies en voorwaarde(n):

De DEC dankt u voor de gegeven antwoorden, maar kan helaas nog geen positief advies geven en ontvangt graag uw reactie op de volgende opmerkingen en vragen:

De DEC stelt, gezien uw antwoord over kruisreacties, als voorwaarde dat u uw immunisatieschema zo opstelt dat u begint met immunisaties die niet leiden tot kruisreagerende antistoffen, zoals bij gebruik van recombinant eiwitten of peptiden. Dit voorkomt dat u ongewenst veel lama's nodig heeft voor uw onderzoek en leidt daardoor tot vermindering van het aantal proefdieren. Zonder een goed strategisch plan waaruit blijkt dat de lama's zo optimaal mogelijk worden ingezet, bestaat de mogelijkheid dat de DEC uw aanvraag niet van een positief advies kan voorzien.

Verder stelt de DEC als voorwaarde bij al uw projecten met lama's dat u gezien uw antwoord inzake het aantal boosters, niet meer dan 3 boosters mag geven. De DEC wil daarom aangepaste C formulieren van u ontvangen omdat hier nog altijd meer dan 3 boosters staan genoemd.

U kunt voor bovenstaande voor meer informatie of hulp contact opnemen met de proefdierdeskundigen.

Conform het advies van de DEC wordt voornamelijk geen toestemming verleend tot het uitvoeren van deze dierproeven. 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.

Tenslotte merkt de DEC op dat u binnen 1 maand na het einde van de looptijd van het advies uw welzijnsevaluatie moet hebben ingediend bij het secretariaat van de proefdierdeskundige. Indien u dit niet doet, kan dit ertoe leiden dat u uw onderzoek niet kunt voortzetten.

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

ambtenaar secretaris DEC-ABC

C.c.: