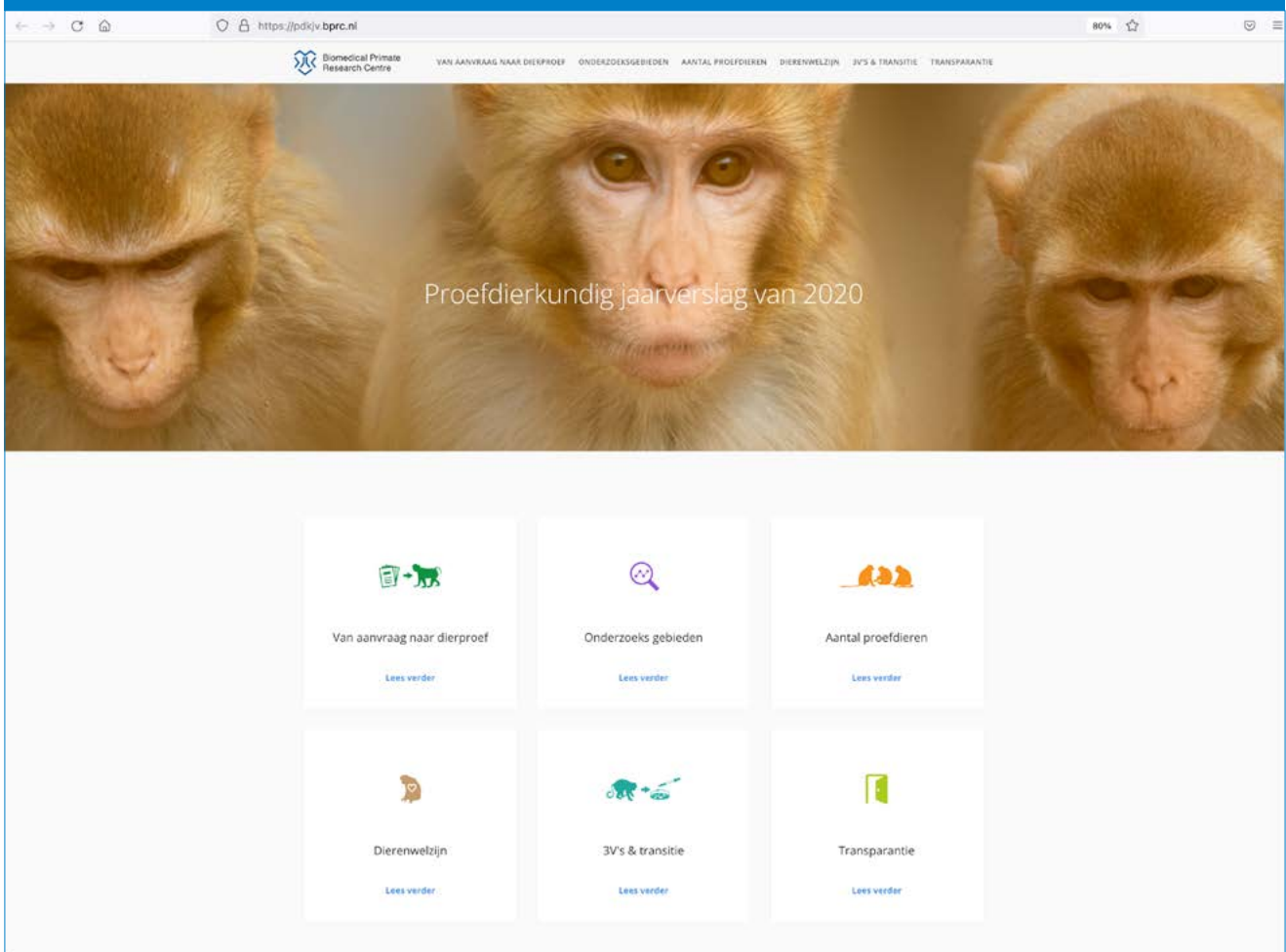


Proefdierkundig jaarverslag van 2020



Van aanvraag naar dierproef 2020



Een dierproef mag alleen als er geen alternatieve methodes zijn. Aan de daadwerkelijke uitvoering van een dierproef gaat een lange weg vooraf. Het onderzoek moet zo zijn opgezet dat het ongerief voor het dier zo laag mogelijk blijft. Verschillende instanties controleren of het verwachte ongerief opweegt tegen het wetenschappelijke belang. Hoe dit proces gaat leest u hier.

Definities & Afkortingen

IvD: Instantie voor Dierenwelzijn

Streeft op instituutniveau naar optimaal welzijn van onze proefdieren. De leden van de IvD-BPRC zijn onze kolonimanager, twee wetenschappers, een dierenarts en een biotechnicus.

DEC: Dierexperimentencommissie

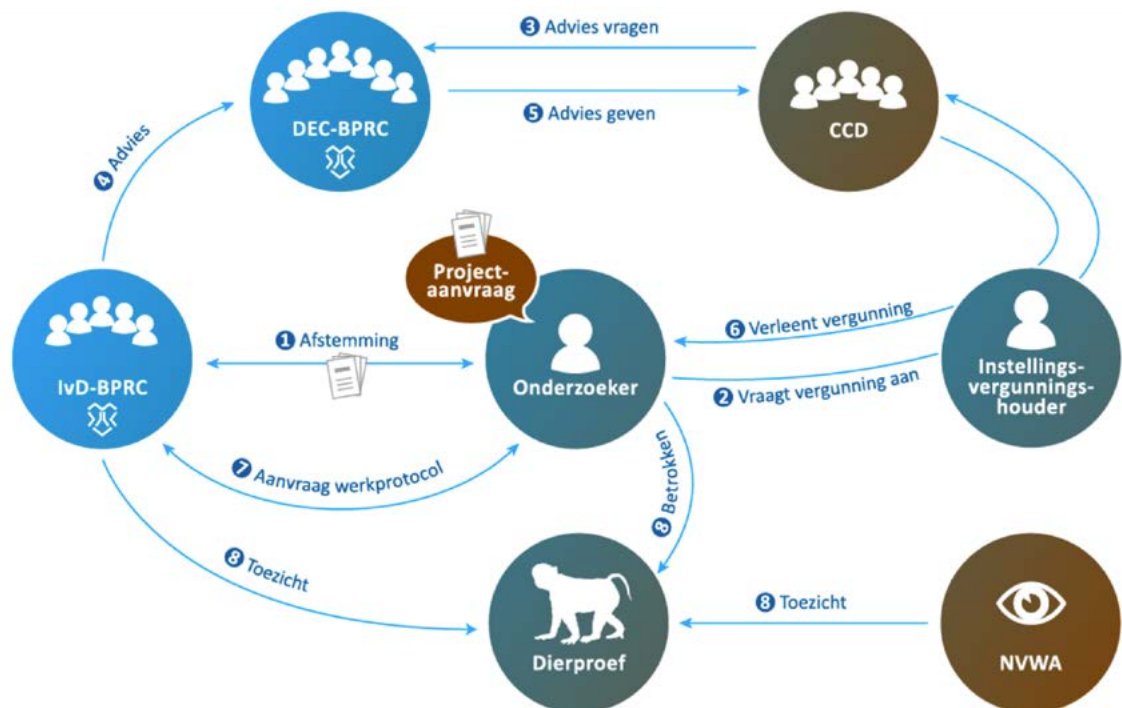
De DEC-BPRC bestaat uit deskundigen op het gebied van dierproeven, alternatieven voor dierproeven, dierenbescherming en-welzijn en toegepaste (bio-)ethiek, alsmede uit niet-deskundigen die uit verschillende geledingen van de samenleving afkomstig zijn. Om onafhankelijkheid te borgen, is de voorzitter van de DEC-BPRC géén BPRC werknemer, en is de meerderheid van de leden extern. Gezien onderzoeksvoorstellen die met primaten te maken hebben voor beoordeling specifieke expertise vereisen, wordt de DEC-BPRC voor het toetsingsproces vaak geraadpleegd door de CCD (zie hieronder). Maar de CCD kan er uiteraard ook voor kiezen om een andere DEC om advies te vragen.

CCD: Centrale Commissie Dierproeven

Is een landelijk orgaan dat een “projectvergunning” afgeeft aan de vergunninghouder.

NVWA: Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit

Is een landelijk orgaan dat toezicht houdt op dierenwelzijn en de uitvoering van dierproeven.



Proces

1. Aanvraag voorleggen aan de IvD ter beoordeling op helderheid en technische uitvoerbaarheid.
2. Na verwerking van de feedback dient de instellingsvergunningshouder de aanvraag in bij de CCD.
3. CCD kiest een DEC en legt de aanvraag daar voor ter advies. In 2019 heeft de CCD alle door het BPRC ingediende aanvragen voorgelegd aan de DEC-BPRC.
4. De IvD geeft eventueel advies aan de DEC.
5. DEC brengt advies uit aan de CCD.
6. CCD besluit over het afgeven van een "projectvergunning".
7. Nadat de vergunning is verleend (AVD-nummer) is het mogelijk aanvragen voor afzonderlijke dierproeven ("werkprotocollen": CCD-nummer) in te dienen bij de IvD.
8. Na toetsing door de IvD of de voorgestelde studie voldoet aan de door de CCD verleende vergunning, kan de aanvrager overgaan tot uitvoering van het experiment. De NVWA houdt toezicht op de uitvoering van de dierproef.

IvD: Instantie voor Dierenwelzijn

DEC: Dierexperimentencommissie

CCD: Centrale Commissie Dierproeven

NVWA: Nederlandse Voedsel en Waren Autoriteit

Projectvergunningen

Dierexperimentencommissie (DEC) en Instantie voor Dierenwelzijn (IvD)

De Dierexperimentencommissie (DEC) heeft als taak een ethische afweging te maken tussen de gevolgen voor de gezondheid en het welzijn van het proefdier en het wetenschappelijk en maatschappelijk belang van de voorgestelde dierproef.

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

Op 18 december 2014 is de gewijzigde Wet op de Dierproeven (WoD) in werking getreden. Hierdoor zijn de procedures voor het verkrijgen van toestemming voor het uitvoeren van een dierproef sterk gewijzigd. Er zijn nieuwe instellingen opgericht, namelijk de Centrale Commissie Dierproeven (CCD) op landelijk niveau, en de Instantie voor Dierenwelzijn (IvD) op instituutsniveau.

De IvD is een belangrijke schakel tussen de CCD en de onderzoeker. De IvD van BPRC bestaat nu uit: de beheerder van de fokkolonie (gedragsexpert), twee wetenschappers, een dierenarts en een biotechnicus, allen werkzaam bij BPRC. Verder zijn betrokken als adviseurs: een dierenarts met kennis van proefdiergeneeskunde, ook werkzaam bij BPRC, en een externe proefdierdeskundige.

De missie van de IvD-BPRC is om in alle opzichten te streven naar een optimaal welzijn van onze proefdieren. Op basis van de principes van de 3V's (Vervanging, Vermindering en Verfijning), de intrinsieke waarde van de dieren en de actuele wettelijke bepalingen. Verder bewaakt de IvD-BPRC de correcte, praktische uitvoering van de dierexperimenten op de werkvloer.

De WoD schrijft voor dat een experiment waarbij proefdieren ingezet worden pas mag worden uitgevoerd wanneer de CCD hiervoor een "projectvergunning" aan de vergunninghouder heeft afgegeven.

Aantallen projectvergunningaanvragen en werkprotocollen

- 5 Nieuwe aanvragen voor een projectvergunning ingediend bij CCD.
- 3 Voor drie aanvragen heeft de CCD een projectvergunning afgegeven.
- 23 De IvD heeft in 2020 23 werkprotocollen ontvangen en er zijn 21 studies verricht.

In 2020 was de IvD intensief betrokken bij het schrijven van 7 aanvragen voor een nieuwe projectvergunning, waaronder die van COVID-gerelateerde studies. 2 aanvragen waren eind 2020 nog in behandeling bij de IvD. Na indiening van de overige 5 aanvragen in 2020 bij de CCD zijn door de DEC diverse vragen gesteld aan de onderzoekers.

De DEC-BPRC heeft na aanpassingen een positief advies uitgebracht aan de CCD. De CCD heeft vervolgens voor 3 aanvragen een projectvergunning afgegeven. 2 aanvragen waren eind 2020 nog in behandeling bij de CCD.

Voor 3 aanvragen heeft de CCD een projectvergunning afgegeven:

- CCD 026, AVD5020020209247: Neonatale BCG vaccinatie in resusapen als model voor humane neonatale BCG vaccinatie
- CCD 027, AVD5020020209464: Testen van een nieuw, mild adjuvant ter vervanging van CFA, in een resusaap diermodel voor auto-immuun geïnduceerde neuroinflammatie
- CCD 028, AVD5020020209404: Evaluation of vaccines and antiviral compounds against emerging coronavirus infections

2 andere projectvergunningaanvragen waren eind 2020 nog in behandeling:

- CCD 025, AVD50200202010886 (Long acting antibiotics)
- CCD 029, AVD50200202017881 (Angelman's Syndrome)

De IvD heeft in 2020 23 werkprotocollen voor studies met experimentele handelingen ontvangen en er zijn 21 studies verricht:

- CCD 016A, AVD5020020186345 (PD)
- CCD 021A, AVD5020020198384 (bloedafnames)
- CCD 026A, AVD5020020209247 (neo BCG)
- CCD 027A, AVD5020020209464 (Mymic, niet uitgevoerd)
- CCD 028, AVD5020020209404 (COVID) A, B, C, D, E, F, G, I, J (on hold), K
- CCD 006A, AVD5020020171544 (HIV)
- CCD 011B, AVD5020020174224 (RVFV)
- CCD 015C, AVD5020020185885 (Bacteriofagen)
- CCD 010D, AVD5020020172884 E (Dengue)
- CCD 007G, AVD5020020172664 L, M, N (Malaria)

Over alle werkprotocollen is overleg geweest met de onderzoekers, voordat werd ingestemd met de uitvoering ervan.

Gedragsonderzoek

Binnen BPRC vindt ook veel gedragsonderzoek plaats, onder te verdelen in gedragsobservatiestudies en gedragstesten, en soms een combinatie daarvan, volgens de 'Leidraad gedragsonderzoek'. In 2020 heeft de IvD 6 protocollen voorgelegd gekregen ter beoordeling of die zich binnen de kaders van de Leidraad afspelen en de aanvragen zijn allemaal als zodanig goedgekeurd. De evaluatie achteraf heeft bij studies 016B, en IvD 22A geleid tot de conclusie dat de gedragsstudies inderdaad geen dierproeven waren. De andere protocollen zijn eind 2020 nog actief.

- IvD 016B, Using enrichment to determine dominance hierarchies in the BPRC breeding colony
- IvD 018A, De invloed van verschillende soorten brok op de consistentie van ontlasting bij resusmakaken met chronische diarree die niet hebben gereageerd op conventionele therapie.
- IvD 019B, Prosocial behaviour and cooperation in captive long-tailed macaques
- IvD 020A, Social tolerance and inhibitory control skills in macaque species
- IvD 021A, Welk gedrag bij de start van een introductie voorspelt de latere dominantie en affiliative relaties bij een nieuwgevormde groep Java-apen
- IvD 022A, The air quality of the indoor environment of the naturalistic housed breeding groups of macaques at the BPRC

Onderzoeksgebieden 2020



Welke vraag ging aan het onderzoek vooraf? Hoe hoog is de wetenschappelijke relevantie? Hoeveel apen hebben aan het onderzoek deelgenomen? Hoeveel ongerief bracht dit met zich mee? En hoe staat het met de proefdiervrije transitie?

BPRC en COVID-19 studies

In maart 2020 begonnen bij BPRC de eerste COVID-19 studies.

Hieronder staat een voorbeeldstudie die een representatief beeld geeft over de COVID-19-studies die lopen binnen de afdeling Virologie.

Onderzoek naar de werkzaamheid van vaccins en antivirale middelen tegen het nieuwe coronavirus SARS-CoV-2

In de afgelopen 20 jaar zijn er drie uitbraken geweest van nieuwe coronavirussen bij de mens. Het SARS-coronavirus dat in 2002-2003 opdook in China, het MERS-coronavirus dat in 2012 opdook in Saoedi-Arabië, en het virus dat in 2019 ernstige luchtweginfecties veroorzaakte in China. Dit laatste virus heeft de naam SARS-CoV-2 gekregen vanwege de grote genetische verwantschappen met het SARS-Coronavirus, terwijl de ziekte COVID-19 (Coronavirus disease 2019) genoemd wordt. Alle drie de virussen zijn afkomstig van dieren (zogeheten zoönose). Deze kunnen bij de mens zeer ernstige luchtweginfecties veroorzaken. De SARS uitbraak resulteerde in 8096 ziekenhuisopnames, waarvan 774 patiënten overleden (9.5%), terwijl van MERS 2499 ziektegevallen bekend zijn, met 861 doden als gevolg (34.5%). De huidige uitbraak van SARS-CoV-2 heeft geleid tot een wereldwijde pandemie met miljoenen doden. Op dit ogenblik (eind 2021) zijn er verschillende geregistreerde vaccins tegen coronavirussen in gebruik. Een van deze vaccines is ook bij BPRC getest in een van onze modellen. In dit project zullen wij de beschermende werking van nieuwe coronavirusvaccins en antivirale middelen onderzoeken in een model voor coronavirusinfecties in apen.

Wetenschap

Vaccins en antivirale middelen die gericht zijn tegen het coronavirus dat in december 2019 in China een uitbraak onder mensen veroorzaakte, SARS-CoV-2, zullen worden getest in dit project. Het grote doel is vaccins en antivirale middelen te ontwikkelen die bescherming kunnen bieden tegen verschillende bekende en nog onbekende coronavirussen. Afgaande op de recente coronavirusuitbraak, maar ook die van het SARS-coronavirus en het MERS-coronavirus, kunnen dergelijke vaccins en antivirale middelen veel levens redden bij een toekomstige uitbraken van coronavirussen.

Projectvergunningen

AVD5020020209404

Dierproeven

Aantallen voor deze studie:

- 77 Resusapen
- 16 Java-apen
- 92 matig, 1 ernstig

Meerdere SARS-CoV-2-studies zijn in 2020 gestart maar lopen door in 2021. De rapportage hiervan vindt plaats in het jaarverslag over 2021.

Resultaten

Er zijn in 2020 4 verschillende CoV vaccins en 1 anti-CoV therapeutica geevalueerd in onze modellen. Dit heeft geresulteerd in uiteindelijk 4 publicaties in wetenschappelijke top bladen (Science 2020, 369(6504):643-650; Curr Biol. 2020, 30(18): R1014-R1018; Nature 2021, 590(7845): 320-325; J Exp Med 2021, 218(7): e20202756).

In vitro werkzaamheden

Bloedcellen zijn geïsoleerd en bloedplasma/-serum is verzameld. Hierop zijn metingen/bepalingen (hematologie en klinische chemie) gedaan om de invloed van het toegediende vaccin of antivirale compound en het virus op verschillende parameters te toetsen. Bovendien zijn celmetingen uitgevoerd, om te onderzoeken of de infecties veranderingen in bepaalde celpopulaties hebben veroorzaakt. Tevens zijn er diverse immunologische testen uitgevoerd om deze responses te meten welke geïnduceerd zijn door SARS-CoV-2 virusinfecties.

Virologie

De afdeling Virologie doet onderzoek naar verschillende virussen die gevaarlijk zijn voor de mens. Het huidige onderzoek richt zich op HIV, influenza en virussen die worden overgedragen door muggen.

Hieronder staan twee voorbeeldstudies die een representatief beeld geeft over de studies die lopen binnen de afdeling Virologie.

Werkzaamheid van antiviraal compound tegen experimentele infectie van resusapen met DENV-3 (POC-studie)

Dengue is een door muggen overgedragen infectie die wordt veroorzaakt door het denguevirus. Dengue gaat gepaard met ernstige, griepachtige verschijnselen, en is in een deel van de patiënten levensbedreigend. De Nederlandse term voor dengue, knokkelkoorts, verwijst naar één van de kenmerkende symptomen: hevige gewrichtspijn. Het aantal gevallen van dengue is sterk toegenomen in de laatste decennia. Meer dan 2,5 miljard mensen (meer dan 40% van de wereldbevolking) lopen het risico op dengue. Jaarlijks zijn er 390 miljoen dengue infecties wereldwijd, waarvan circa 100 miljoen infecties resulteren in ziekteverschijnselen. Per jaar resulteert dit in een half miljoen ziekenhuis opnames en 25 duizend sterfgevallen.

Dengue komt vooral voor in tropische en subtropische gebieden over de hele wereld. In de afgelopen jaren is er een sterke toename van dengue. Vóór 1970 hadden slechts negen landen ernstige dengue-epidemieën meegemaakt. De ziekte wordt nu echter aangetroffen in meer dan 100 landen in Afrika, Amerika, het oostelijke Middellandse Zeegebied, zuidoost Azië, en de westelijke Stille Oceaan, en het blijft zich verspreiden naar nieuwe gebieden, mede door de opwarming van de aarde en de toename in internationale handel en reizen.

Momenteel is slechts één denguevaccin beschikbaar. Dit vaccin biedt echter geen volledige bescherming tegen alle denguevirusvarianten. Het geeft slechts bescherming voor een periode van 5-6 jaar, en daarnaast moet het vaccin meerdere malen worden toegediend voor optimale bescherming. Ook is het niet geschikt voor gebruik bij kinderen jonger dan 9 jaar.

Antivirale middelen zijn daarom van grote (aanvullende) waarde voor de bestrijding van dengue. Echter, antivirale middelen zijn voor de behandeling van dengue nog niet beschikbaar. Het doel van deze studie is om een antiviraal middel te testen in makaken, die kunnen worden gebruikt om dengue virusinfecties te voorkomen (profylactisch gebruik), of te genezen (therapeutisch gebruik).

Wetenschap

Het uiteindelijke doel van dit experiment is om de antivirale activiteit tegen het denguevirus te evalueren. Bij profylactisch gebruik zou dit middel bescherming kunnen bieden tegen denguevirusinfecties die worden opgelopen tijdens (kortdurende) bezoeken aan denguegebieden, bijvoorbeeld voor vakantie of werk. Therapeutisch gebruik van dit middel zal het mogelijk maken om denguevirusinfecties te genezen,

of om ernstige ziekteverschijnselen of overlijden te voorkomen.

Projectvergunningen

AVD5020020172884

Dierproeven

Aantallen voor deze studie:

- 14 Resusapen
- 14 matig ongerief

In vitro werkzaamheden

Bloedcellen zijn geïsoleerd en bloedplasma/-serum is verzameld. Hierop zijn metingen/bepalingen (hematologie en klinische chemie) gedaan om de invloed van het toegediende antivirale compound en het virus op verschillende parameters te toetsen. Bovendien zijn celmetingen uitgevoerd om te onderzoeken of de infecties, veranderingen in bepaalde cel populaties hebben veroorzaakt. Tevens zijn er diverse immunologische testen uitgevoerd om deze responses te meten welke geïnduceerd zijn door denguevirusinfecties.

Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley fever virus vaccins in penseelapen.

Rift Valley fever (RVF) is een infectieziekte die wordt veroorzaakt door het Rift Valley fever virus (RVFV). RVF is een ernstige ziekte bij vee die ook op mens kan worden overgedragen (zoönose). RVF bij mensen kenmerkt zich meestal door 'griepachtige' ziekteverschijnselen, maar 1-3% van de geïnfecteerden ontwikkelt ernstige ziekte waaraan tot 50% van deze mensen overlijdt. RVF komt momenteel voornamelijk voor in Afrika, maar gevreesd wordt dat RVFV Europa zal binnenkomen via geïnfecteerde muggen, of via geïnfecteerde dieren of mensen. De Wereldgezondheidsorganisatie is groot pleitbezorger voor de ontwikkeling van een zogeheten 'One Health vaccin', een vaccin dat kan worden gebruikt om zowel mensen als dieren te beschermen tegen RVFV infectie. In dit project zullen we de beschermende werking van dit type vaccins testen in vaccinatie-infectie experimenten in penseelapen.

Wetenschap

Op het ogenblik zijn er nog geen RVFV vaccins beschikbaar voor gebruik in de mens. In dit project zullen wij nieuwe vaccins, bestemd voor gebruik in de mens en dier, testen op hun vermogen om penseelapen te beschermen tegen infectie met RVF. Wij verwachten dat dit onderzoek zal bijdragen aan de ontwikkeling van een toekomstig 'One Health' vaccin tegen RVF, dat kan worden gebruikt om nieuwe epidemieën bij mens en dier te voorkomen.

Projectvergunningen

AVD5020020174224

Dierproeven

Aantallen voor deze studie:

- 25 Penseelapen
- 25 matig ongerief

In vitro werkzaamheden

Bloedcellen zijn geïsoleerd en bloedplasma/-serum is verzameld. Hierop zijn metingen/bepalingen (hematologie en klinische chemie) gedaan om de invloed van het toegediende vaccin en het virus op verschillende parameters te toetsen. Bovendien zijn celmetingen uitgevoerd om te onderzoeken of de infecties, veranderingen in bepaalde celpopulaties hebben veroorzaakt. Tevens zijn er diverse immunologische testen uitgevoerd om deze responses te meten die geïnduceerd zijn door de vaccins.

Parasitologie

Binnen de afdeling Parasitologie werken we aan malaria en tuberculose.

Onze malariastudie van 2019 loopt door in 2020 en voor 2020 zijn er geen updates. Vandaar dat we voor 2020 alleen een update geven van de tuberculosestudie.

Herhaalde BCG vaccinatie via alternatieve toedieningsroute voor een betere bescherming tegen tuberculose

Tuberculose (TB) wordt veroorzaakt door de bacterie *Mycobacterium tuberculosis* en heeft de kwalijke reputatie dat zij moeilijk met antibiotica is te bestrijden. Ofschoon op dit moment ingehaald door COVID, eist TB al jaren de meeste slachtoffers van alle infectieziektes ter wereld: circa 4000 doden per dag! Reeds sinds 1921 is de stam *Mycobacterium bovis* Bacille Calmette-Guérin- kortweg: BCG- beschikbaar voor preventieve vaccinatie. En ofschoon BCG vele kinderlevens redt, is ernstige long-tuberculose en haar verdere verspreiding door (jong-)volwassenen in grote delen van de wereld nog steeds een probleem voor de volksgezondheid. Door gebrek aan inzicht hoe effectieve afweer (immunitet) bij TB precies werkt, is de ontwikkeling van een betere vaccinatiestrategie geen eenvoudige opgave.

Vele onderzoekers wereldwijd spannen zich in om tuberculose en effectieve afweer tegen infectie en ziekte beter te begrijpen. Het gebruik van proefdieren is hierbij vooralsnog onvermijdelijk, omdat alternatieven die dergelijke hoog-complexe interacties nabootsen nog niet beschikbaar zijn en omdat er beperkingen zijn aan wat aan onderzoek in mensen mogelijk is. BPRC zet zijn expertise en capaciteit in voor een beter begrip van TB en immuniteit in het algemeen, en de ontwikkeling van verbeterde TB-therapieën (m.n. vaccins) in het bijzonder.

Niet-humane primaten (NHP) en in dit geval makaken (*Macaca species*) zijn bij uitstek geschikt voor tuberculose-onderzoek. Ze zijn van nature gevoelig voor infectie, de ontwikkeling van ziekte lijkt sterk op die bij de mens, en hun afweersysteem vertoont grote overeenkomsten met dat van de mens. Op grond daarvan wordt aan experimenteel onderzoek in NHP een grote voorspellende waarde voor klinische uitkomst toegekend.

Wetenschap

De tuberculose-bacterie kan zich in vele weefsels in het lichaam nestelen en schade aanrichten. De meest voorkomende en veelal ernstigste manifestatie van TB is een chronische longontsteking in (jong) volwassenen, die er vervolgens toe leidt dat TB via de lucht wordt verspreid. Het levende, verzwakte tuberculose-vaccin, BCG, wordt volgens protocol en om goede en praktische redenen in de huid ingespoten. Mede op basis van ons onderzoek in Rijswijk, echter, is vastgesteld dat BCG beter werkt als het via een andere route, bijvoorbeeld direct in de luchtwegen wordt toegediend. Zo'n alternatieve toediening van BCG is weliswaar niet één-twee-drie te vertalen naar de kliniek, maar in een experimentele

omgeving stelt het ons wel in de gelegenheid om te onderzoeken hoe die versterkte afweer tot stand komt. Met die kennis hopen we uiteindelijk een betere en veilige TB vaccinatiestrategie te kunnen formuleren waarmee in de toekomst veel menselijk lijden en dodelijke slachtoffers voorkomen kunnen worden.

De algemene opvatting is dat een tweede vaccinatie met BCG via de huid- in elk geval op korte termijn - niets aan afweer of bescherming tegen TB toevoegt. Ons eerdere onderzoek, echter, liet zien dat BCG via de luchtwegen beter beschermt en gepaard gaat met een uniek patroon van afweersignalen die grotendeels lokaal, in de longen, zijn waar te nemen. Aldus rijst de vraag of het voordeel van mucosale luchtweg-vaccinatie met BCG ook optreedt na een eerdere huid-vaccinatie.

Om deze vraag te kunnen beantwoorden zijn wij in 2019 een experiment gestart waarin BCG-injectie via de huid al dan niet wordt gevolgd door een extra dosis BCG via de luchtwegen korte tijd later. Uit deze studie hebben we nu vastgesteld dat het specifieke reactieprofiel na luchtweg-vaccinatie niet (meetbaar) wordt beïnvloed door eerdere immunisatie via de huid.

Als proef op de som zijn vervolgens alle gevaccineerde dieren plus niet gevaccineerde controles aan herhaalde experimentele infectie blootgesteld. Hieruit bleek dat de dieren die een tweede BCG-vaccinatie via de luchtweg hadden ontvangen, minder ziekte vertoonden dan de groep die slechts eenmaal via de huid was gevaccineerd. Dit biedt dus het perspectief en de hoop dat ook in de kliniek het verschil tegen TB gemaakt kan worden, als we vaccinatie na geboorte via de huid op latere leeftijd zouden kunnen versterken door revaccinatie via een alternatieve toedieningsroute.

Bovendien wijzen deze resultaten ons op het belang van de lokale afweer zoals we die na luchtweg-vaccinatie in de longen kunnen meten. We zullen deze lokale afweer in volgende experimenten nog dieper willen onderzoeken. De te vergaren kennis kan ons helpen bij het ontwikkelen van betere TB-vaccins.

Door nadere analyse van de tuberculose-bacteriën die na afloop van het experiment uit de weefsels werden geïsoleerd, konden we - in samenwerking met collega's van Harvard Medical School in de VS - de toegevoegde waarde van dit nieuwe, herhaalde experimentele infectie-model vaststellen. Waar we eerst meenden dat luchtweg-vaccinatie bescherming gaf tegen infectie omdat positiviteit in diagnostische tests uitbleef, bleken alle dieren, op één na, toch geïnfecteerd te zijn geraakt. De infectie had zich dus latent, onopgemerkt, gemanifesteerd. Ons vernieuwende TB-vaccinatieschema blijkt dus in resusapen bescherming tegen ziekte - niet infectie als zodanig - te geven. Daarmee werpt dit werk ook een interessant licht op recente pogingen om preventie tegen tuberculose infectie in klinische vaccinstudies te meten.

Projectvergunningen

AVD5020020172645

Dierproeven

Met de nodige controlegroepen telt deze studie in totaal 32 volwassen resusapen.

De genoemde handelingen in deze studie betroffen vaccinatie en bemonstering van bloed en luchtwegen, allemaal onder verdoving. In totaal 16 van 32 dieren zijn éénmaal gevaccineerd, 8 van 32 tweemaal. Het geregistreerde humane TB-vaccin, BCG, is ofwel in de huid geïnjecteerd (de standaard toedieningsroute

bij de mens) of via de bronchus in de luchtwegen geïnstilleerd. Bemonstering van bloed is maximaal 24x uitgevoerd door middel van venepunctie; van luchtwegen maximaal 9x door middel van longspoeling. Bij longspoeling is het strottenklepje lokaal verdoofd met een spray. Alle dieren zijn 8x blootgesteld aan experimentele infectie d.m.v. endobronchiale blootstelling aan een berekend gemiddelde van slechts 1 enkele tuberculose-bacterie per blootstelling. Semi-invasieve TB diagnostiek m.b.v. PET-CT is in de niet-gevaccineerde controle groep tot 8x onder narcose uitgevoerd.

Voor deze studie was een ongeriefsscore matig voorzien op basis van handelingen en het optreden van ziekte ten gevolge van experimentele infectie. Na afloop kon worden vastgesteld dat deze inschatting van ongerief voor geen enkel dier is overschreden.

In vitro werkzaamheden

Het effect van vaccinatie en de beschermende immuniteit tijdens de infectieuze blootstellingsfase worden gemeten aan de hand immunologische en/of diagnostische tests die ex vivo of in vitro worden uitgevoerd op monsters van bloed en longspoelingen die onder verdoving zijn verkregen. We zetten diverse technieken in om een zo breed mogelijk beeld te krijgen van de diverse componenten van het afweersysteem, zowel in de bloedbaan als lokaal in de luchtwegen. Zo hopen we een bijdrage te leveren aan het ontrafelen van de werking van vaccin-geïnduceerde immuniteit tegen TB.

Waar de mogelijkheid zich voordoet maar expertise op het BPRC ontbreekt, werken we samen met externe partners om optimaal gebruik te maken van het materiaal en de gelegenheid om van deze dierproef te leren. Overigens worden zo veel mogelijk weefselmonsters bewaard en relevante restanten van in vitro tests opgeslagen voor mogelijk retrospectief onderzoek. Deze staan ter beschikking van de wetenschappelijke gemeenschap.

Alternatieven

Binnen de Unit Alternatieven vindt wetenschappelijk onderzoek plaats met als doel het vervangen, verminderen of verfijnen (de 3V's) van dierexperimenteel onderzoek. Het onderzoek binnen de Unit Alternatieven is georganiseerd langs twee hoofdlijnen. Daarnaast fungeert de Unit Alternatieven als centrale communicatiebron voor de onderwerpen die te maken hebben met alternatieven voor dierproeven binnen BPRC. Tevens draagt deze Unit actief bij aan het publieke debat over dierproeven en de alternatieven daarvoor. In 2020 zijn er binnen de Unit Alternatieven geen dierproeven uitgevoerd.

In vitro kweekmethoden

De eerste onderzoekslijn binnen de Unit is gericht op het ontwikkelen van nieuwe *in vitro*-methoden. Door, bijvoorbeeld, kweekmethoden op te zetten voor verschillende celtypen (via primaire celkweek of stamceltechnologie) kunnen we kandidaat-teststoffen of strategieën op deze celkweken testen op werkzaamheid, voordat we ze eventueel in een proefdier testen. Binnen het instituut noemen we dit de pre *in vivo*-testfase. We hebben hiermee al verschillende kandidaat-stoffen uitgeselecteerd, waardoor minder dierproeven nodig waren.

Onze celkweken worden meestal opgezet vanuit bloed, of stukjes dierlijk of menselijk materiaal, verkregen uit biopten, of van overleden donoren. Belangrijk uitgangspunt daarbij is dieren nooit specifiek geofferd worden voor de start van deze kweken, maar dat het altijd gaat om dieren die vanwege ouderdom of beëindiging van een ander experiment geëuthanaseerd zijn. In tegenstelling tot cellijnen zijn deze kweeksystemen vaak kortdurend en eindig. Toch hebben deze primaire celkweken vaak een betere voorspellende waarde dan cellijnen. Daarom is het de tijd en moeite waard deze kweken bij herhaling op te zetten. Het belangrijkste voordeel van cellijnen, hun onsterfelijkheid, is namelijk tevens hun belangrijkste nadeel. Onsterfelijke cellijnen verliezen na verloop van tijd hun cel-specifieke eigenschappen. En dan lijken ze nog het meest op tumorcellen, waardoor het testen van bepaalde ideeën of behandelingsmethoden niet goed meer mogelijk is. Het ultieme doel is de diermodellen uiteindelijk geheel te kunnen vervangen door *in vitro*-methoden.

Wij hebben de afgelopen jaren technologieën ontwikkeld die het mogelijk maken om met name cellen op te kweken uit het centraal zenuwstelsel (astrocyten en microglia) én cellen die een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem (macrofagen en dendritische cellen uit bloed en beenmerg). Een van de belangrijke voordelen van deze technieken is dat we cellen van verschillende oorsprong, maar wel uit dezelfde donor, op deze manier met elkaar kunnen vergelijken.

Binnen de Unit werkt een promovendus aan het ontwikkelen van nieuwe, betere celweekmethoden voor cellen uit het brein (en dan met name de microglia, de afweercellen van het brein). De afgelopen jaren hebben we enorm veel geleerd over de oorsprong en ontwikkeling van deze microglia. Ook zijn vanuit verschillende laboratoria data gekomen die laten zien dat microglia in het gezonde brein een heel specifiek, karakteristiek RNA- en eiwitexpressiepatroon bevatten. Dit heeft ons geholpen om grote stappen vooruit te zetten in onze celweekmethoden die sterk veranderd zijn. In 2020 hebben we daarnaast een review geschreven dat onze resultaten in een breder perspectief plaatst en de invloed van het brein micromilieu op aangeboren immuunresponsen beschrijft.

Vaccins & Adjuvantia

De tweede onderzoekslijn is gericht op verfijning van dierexperimenteel onderzoek binnen het instituut. Om het immuunsysteem extra te activeren, wordt bij mensen en proefdieren vaak gebruik gemaakt van hulpstoffen (adjuvantia). Helaas gaat het injecteren van adjuvantia vaak gepaard met ongewenste bijwerkingen, zoals ontstekingen van de huid op de injectieplaatsen. Binnen de Unit werken we op verschillende manieren aan de ontwikkeling van nieuwe adjuvantia met vergelijkbare immuunstimulerende werking, maar met minder of geen bijwerkingen.

Om de gewenste immuunstimulerende effecten van adjuvantia te bestuderen, hebben we in vitro biologische testsystemen ontwikkeld, op basis van menselijke cellijnen: bioassays. Om de ongewenste bijwerkingen van adjuvantia te bestuderen, hebben wij in de afgelopen jaren een in vitro kweekmodel opgezet, waarvoor we menselijk bloed gebruiken. Beide technieken zijn volledig proefdiervrij en hebben ertoe geleid dat we zelf een nieuw adjuvant konden samenstellen ("MiMyc"), dat een zeer krachtig immuunstimulerend effect zou moeten geven, zonder de bijwerkingen die we bij andere adjuvantia zien.

In 2020 hebben we onze hierboven beschreven bioassays ook gebruikt in een Europees onderzoeksproject dat erop is gericht dierproeven in het vaccinonderzoek te vervangen, VAC2VAC. In samenwerking met verschillende vaccinproducenten, hebben wij vaccins en vaccincomponenten dankzij onze bioassays zeer uitgebreid gekarakteriseerd. Op één van de vaccincomponenten reageren onze bioassays bijzonder sterk. Wij hebben ondertussen aan kunnen tonen dat deze reactie specifiek is voor deze component, omdat het ook lukt om deze component in vaccins van andere leveranciers aan te tonen. In 2020 hebben wij, samen met de leveranciers verschillende studies uitgevoerd met als doel om de specificiteit van onze bioassays vergaand te testen, met positieve resultaten. Deze kunnen mogelijk een startpunt vormen voor het vervangen van de dierproeven die nu plaatsvinden in de kwaliteitscontrole en vrijgifteprocedures. Daarnaast participeren we, met dezelfde bioassays, in een ander Europees onderzoeksproject, met als doel het vaccinonderzoek vooruit te brengen (TRANSVAC2). Als onderdeel van dit project zijn we in 2020, samen met onderzoekers uit Montpellier, een studie begonnen naar de manier waarop adenovirussen het aangeboren immuunsysteem activeren.

Vergelijkende Genetica en Verfijning

Met als doel het verfijnen van proefdierkundig onderzoek doet de afdeling Vergelijkende Genetica en Verfijning (CG&R) onderzoek naar genetische kenmerken van verschillende apensoorten. Voor dit onderzoek gebruikten we DNA (deoxyribonucleic acid), de stof waaruit de chromosomen zijn opgebouwd.

DNA-moleculen zijn lange ketens, die worden gevormd door vier verschillende chemische bouwstenen, de nucleotiden genoemd. Dit zijn adenine (A), cytosine (C), guanine (G), en thymine (T). Een gen is een deel van het DNA, dat binnen een cel wordt vertaald naar een eiwit. De eiwitten vormen het besturingssysteem van de chemische processen in een cel en bepalen daarmee alle kenmerken van een organisme. De nucleotidevolgorde van genen kunnen per individu verschillen, en worden over het algemeen overgeërfd van generatie op generatie.

De onderzoeksvragen van de afdeling CG&R richten zich voornamelijk op het bepalen van de nucleotidevolgorde van het major histocompatibility complex (MHC), de killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR), en leukocyte immunoglobulin-like receptor (LILR) genen. Eiwitten van MHC, KIR en LILR komen tot expressie op het celmembraan van verschillende soorten immunologische cellen, en spelen een belangrijke rol in de afweer tegen ziekteverwekkers. MHC-eiwitten binden lichaamsvreemde stoffen en presenteren deze aan cellen van het immuunsysteem. Eiwitten van KIR scannen voor de aanwezigheid of afwezigheid van MHC-eiwitten op de cellen, bijvoorbeeld als gevolg van kanker of virusinfectie, en zorgen dat deze 'afwijkende' of geïnfecteerde cellen worden opgeruimd uit het lichaam. LILR-eiwitten, op hun beurt, kunnen ook een interactie aangaan met MHC-eiwitten en zijn betrokken bij een breed spectrum aan immunologische reacties, waaronder het reguleren van de immuuncelactiviteit, het afgeven van cytokines en de productie van antistoffen. Daarnaast doen we ook onderzoek naar de functionele karakteristieken van MHC, KIR en LILR-eiwitten. De genetische en functionele informatie over het MHC, KIR en LILR gebruiken we om dieren te selecteren voor biomedisch onderzoek, en ze dragen zo derhalve bij aan de verfijning van proefdiermodellen.

Het DNA wordt geïsoleerd uit bloedmonsters die tijdens de jaarlijkse gezondheidscontrole bij de dieren worden afgenomen. De afdeling CG&R verricht ook regelmatig genetisch onderzoek voor andere instituten en dierentuinen, waarbij DNA verkregen kan worden op niet-invasieve wijze (b.v. uit haarwortels of ontlasting). Zo kunnen we onderzoek doen voor met uitsterven bedreigde diersoorten (conservatiebiologie). Met de gegevens kunnen we antwoord geven op vragen over ouderschap, inteelt, en de afname van genetische variatie van bepaalde genen. Dit laatste is van belang omdat dit een oorzaak kan zijn van, bijvoorbeeld, de toename van bepaalde ziektes binnen een primatenpopulatie. De kwaliteit van niet-invasief verkregen DNA, en de hoeveelheid informatie die eruit wordt verkregen, kan echter beperkt zijn.

KIR onderzoek in resus- en cynomolgus makaakpopulaties

Voor preklinisch onderzoek naar infectie en complexe immuun gerelateerde ziekten worden resus- en cynomolgus makaken wereldwijd ingezet als proefdiermodel. Het natuurlijk leefgebied van deze twee makaaksoorten is uitgestrekt. Resusmakaken vind je bijvoorbeeld in Noord-India, Afghanistan, Zuid-China, en cynomolgus makaken leven in delen van Cambodja, Vietnam, Thailand, het vaste land en de eilanden van Indonesië en de Filipijnen.

De uitkomsten van infecties en immuunreacties binnen een model kunnen worden beïnvloed door de selectie van een makaaksoort en zelfs door de selectie van een bepaalde geografische populatie. Een goed voorbeeld hiervan is het verschil in immuunreactie in resusmakaken van Indiase of Chinese origine bij een SIV-infectie (een HIV-1-achtig virus dat de ontwikkeling van de ziekte AIDS nabootst). Genetisch factoren kunnen mogelijk een rol spelen in de verschillende uitkomsten die waargenomen worden.

Met behulp van het grote arsenaal aan Bio-bankmonster dat we bezitten en het toepassen van nieuwe sequencing technieken hebben we de KIR genen in resus- en cynomolgus makaken en hun verschillende populaties in kaart gebracht. In beide soorten zien we veel variatie voor de verschillende genen. Sommige KIR genen worden gedeeld en zijn dus aanwezig in beide makaaksoorten. Een groot deel van de KIR genen is echter specifiek voor een soort. De sequentievariëaties binnen een bepaald KIR gen zijn meestal soort specifiek. Daarbij komt dat beide soorten veel relatief nieuwe KIR genen hebben, die hoogstwaarschijnlijk ontstaan zijn door recombinatie. De grote diversiteit die we zien duidt op een snelle evolutie van het makaak KIR gen systeem.

De opgedane kennis over het KIR in de resus en cynomolgus makaak en hun populaties maakt het mogelijk om de impact van het repertoire in de verschillende proefdiermodellen voor menselijke gezondheid en ziekte te bestuderen. Ook kan deze kennis helpen bij het selecteren van dieren met een bepaalde genetische merker voor het verfijnen van een proefdiermodel.

[Lees meer op de BPRC website >](#)

[Lees meer in de publicatie >](#)

Mens, chimpansee en bonobo delen bepaalde MHC-A eiwitten met zeer gelijken functionele karaktereigenschaften: implicaties voor bescherming tegen retrovirale infecties

Ook een kleine groep mensen blijkt op een natuurlijke manier een HIV-1 infectie onder controle te kunnen houden. Grootchalig onderzoek heeft aangetoond dat bepaalde MHC eiwitten hierin een belangrijke rol spelen. In het verleden hebben wij laten zien dat chimpansees en bonobo's voor hun MHC door een selectie zijn gegaan. In vergelijking met de mens hebben deze twee diersoorten een zeer beperkte MHC variatie. Wij denken dat dit mogelijk in een ver verleden veroorzaakt is door een infectie met een retrovirus, zoals b.v. het HIV-1. Met het MHC onderzoek in chimpansees en bonobo's hopen we een betere kijk te krijgen op hoe hun immuunrepertoire gevormd is.

Er is vooral veel onderzoek gedaan aan de MHC-B eiwitten. Recent hebben we de functionele karaktereigenschaften van de MHC-A eiwitten in mens, chimpansee en bonobo met elkaar vergeleken. Daarbij hebben we gebruik gemaakt van materiaal uit onze Bio-bank en van verschillende computermodellen. Uit de analyses kunnen we concluderen dat de mens, chimpansee en bonobo bepaalde MHC-A eiwitten hebben die op een zeer gelijken manier kunnen functioneren. Juist deze MHC-A eiwitten komen in alle drie de soorten heel veel voor, wat suggereert dat zij mogelijk een belangrijke rol spelen in het afweersysteem van deze soorten en bij de bescherming tegen retrovirale infecties.

[Lees meer op de BPRC website >](#)

[Lees meer in de publicatie >](#)

Animal Science Department

Onze afdeling Animal Science Department (ASD) streeft naar een optimaal welzijn van de apen binnen BPRC in de breedste zin van het woord.

Dierwetenschap

ASD monitort continu de fysieke en mentale gezondheid van de apen. Hiervoor hebben we dierenartsen, diervverzorgers, en diertrainers in dienst. Om dit goed te kunnen doen moeten we veel weten van het natuurlijke gedrag en levenswijze van de apen. Daarom doen we ook gedragsstudies, in nauwe samenwerking met de Universiteit van Utrecht.

Huisvesting en verzorging

In 2020 zijn in de verschillende fokkolonies 45 resusapen geboren, 14 Java-apen en 17 witoorpenseelapen. De grootte van de fokkolonies is afgestemd op het onderzoeksprogramma. Mede door de beleidsmaatregel om vanaf 2025 minder dan 150 dierproeven per jaar uit te voeren wordt momenteel de grootte van de kolonie langzaam verminderd. De vermindering vindt plaats door gerichte geboortebepijking. Om zwangerschappen te voorkomen krijgen vrouwen implanon geïmplanteerd of worden volwassen mannen uit de groep gehaald. In enkele specifieke gevallen kunnen we besluiten mannen te vasectomeren. Hierbij is het wel belangrijk dat de groepsstructuren, waarbij vrouwen met name bepalend zijn, in belangrijke mate in stand gehouden worden.

Een van de belangrijke aandachtspunten van BPRC in de fokkolonies is de minimale leeftijdsgrens van de dieren. Makaken worden pas ingezet als ze minimaal vier jaar oud zijn, bij witoorpenseelapen is dit twee jaar. Dit houdt in dat we ongeveer vijf jaar vooruit moeten denken. Animal Science Department, de verantwoordelijke afdeling voor het huisvesten en verzorgen van de dieren, en de diverse onderzoeksgroepen van BPRC voeren daarom nauw overleg om het fokbeleid goed vast te leggen. De kolonie Java-apen beheren we grotendeels voor het wetenschappelijk onderzoek naar gedragsaspecten in samenwerking met de afdeling Animale Ecologie van de Universiteit van Utrecht.

Een aantal dieren blijft gedurende het hele leven in de fokgroep. Zodra dieren zijn geselecteerd voor studies, verhuizen ze naar daartoe geschikte faciliteiten. Om te voorkomen dat de fokkolonies te maken krijgen met inteelt is nauwgezet overleg nodig. De samenwerking tussen kolonimanager (gedragsdeskundige), dierenartsen en genetici zorgt er voor dat de fok optimaal verloopt, inteelt wordt voorkomen en dat de best mogelijke selectie van dieren voor het onderzoek gewaarborgd wordt. In de fok zijn de dieren gehuisvest in grote, zo natuurgetrouw mogelijke groepen. Op deze manier probeert BPRC de natuurlijke patronen zo veel mogelijk na te bootsen. Alle dieren bij BPRC zijn sociaal gehuisvest. We hebben veel aandacht voor verrijking van de leefomgeving. Daarnaast besteden we specifieke aandacht aan diertraining. Voor het waarborgen van het dierenwelzijn heeft BPRC twee dierenwelzijnsexperts in dienst.

Het optimaal verzorgen van deze grote groepen apen, met een grote diversiteit aan leeftijden, vereist specifieke expertise. De dieren worden verzorgd door gediplomeerde diervverzorgers. Zij hebben een meerjarige opleiding voltooid, gevolgd door een interne opleiding om de specifieke kenmerken van apengedrag en verzorging te leren.

Diertraining en welzijn

Om stress en stereotypisch gedrag van de dieren maximaal te voorkomen heeft BPRC enkele specifieke programma's opgezet. Een daarvan is het zo veel mogelijk vrijwillig laten meewerken van de dieren aan een aantal handelingen, middels positive reinforcement training (PRT). De dierenwelzijnsexperts van BPRC ontwikkelen continu methoden om die handelingen zo optimaal mogelijk te laten verlopen. In internationaal verband zijn ze ook betrokken bij het verder ontwikkelen van die trainingen. Ze delen hun kennis met andere instituten, onder andere door het geven van lezingen of workshops. BPRC heeft een verrijkingsprogramma waarin we nieuwe en innovatieve verrijkingen ontwikkelen. De diervverzorgers worden ook aangemoedigd om continu nieuwe verrijkingssystemen te ontwikkelen. Daartoe bezoeken we op regelmatige basis specifieke (inter)nationale opleidingen op het gebied van dierenwelzijn, diertraining en voeding, om nieuwe inzichten op dit gebied bij BPRC te implementeren.

Diergeneeskunde

De groep diergeneeskundige zorg is verantwoordelijk voor de controle op de gezondheid van alle dieren, zowel in de fok als in studies. Deze groep bestaat uit vier dierenartsen, een veterinaire patholoog en vijf ondersteunende medewerkers. Om gezondheids- en gedragsproblemen bij de dieren beter te monitoren, werken de dierenartsen, kolonimanagers en diertrainers nauw samen.

BPRC streeft naar een continue verbetering op het gebied van veterinaire zorg en het houden van apen. Het diergeneeskundige team werkt, naast de reguliere diergeneeskundige aspecten in de kolonie, voortdurend aan verdere verfijning van methoden.

Naast de aandacht voor het welzijn van de dieren doet BPRC ook veel onderzoek naar verschillende aspecten die effect kunnen hebben op de gezondheid van de dieren. Zo wordt er in het kader van een diergeneeskundig promotietraject onderzoek gedaan naar betere behandelingsmethoden om diarree bij apen te voorkomen en genezen. Daarnaast lopen er trajecten naar het voorkomen van specifieke micro-organismen in de kolonie, het vaststellen van een gezond gewicht bij resus- en Java-apen en wordt specifiek aandacht besteed aan het verbeteren van het antibioticagebruik bij zieke dieren.

Ethologie

BPRC voert ethologisch onderzoek uit in nauwe samenwerking met de Universiteit van Utrecht. Dit (niet-invasieve) fundamentele onderzoek richt zich op de evolutie van sociaal gedrag van primaten, ook in vergelijking met dat van de mens. Belangrijke onderzoekslijnen hierbij zijn seksueel gedrag, vriendschapsbanden, samenwerking, intelligentie en communicatie en voedingspatronen.

Bij dit onderzoek speelt de sociale capaciteit van de onderzochte soorten een belangrijke rol. Het kunnen omgaan met verschillende niveaus van complexiteit van deze sociale groepen is een belangrijke determinant in de evolutie van de intelligentie van primaten. In 2020 hebben we verder gewerkt aan de specifieke aspecten van introducties van nieuwe fokmannen bij de resus- en Java-apen. In 2020 heeft een van onze promovendi een proefschrift hierover succesvol verdedigd aan de Universiteit Utrecht. Kennis over introducties draagt bij aan het verbeteren van het houden en fokken van deze dieren.

Neurodegeneratieve ziekten

BPRC doet onderzoek aan neurodegeneratieve ziekten, zoals Alzheimer en de ziekte van Parkinson. In het model voor de ziekte van Parkinson in witoorpenseelapen hebben we hierbij nieuwe verbindingen tussen hersengebieden gevonden die de oorzaak van de symptomen kunnen compenseren. Zo wordt het potentieel mogelijk symptomen van Parkinson te voorkomen. Deze kennis draagt bij aan het ontwikkelen van nieuwe behandelingsmethodes tegen de ziekte van Parkinson. Ook is een model in marmosets opgezet om het ontstaan van de ziekte van Alzheimer beter te gaan begrijpen. Daarnaast kan dit model gebruikt gaan worden om nieuwe kandidaat medicijnen te ontwikkelen en te testen op werkzaamheid en veiligheid. BPRC heeft een aantal niet-invasieve gedragstesten geïntroduceerd waarmee de ontwikkeling van deze ziektes en effecten van behandeling gevolgd kunnen worden.

In 2020 zijn er hiervoor geen proefdieren ingezet.

Aantal proefdieren 2020



- In totaal heeft BPRC in 2020 16 studies verricht.
- Hiervoor hebben we in totaal 200 proefdieren ingezet.

Meer specifiek zijn er 155 resusapen ingezet in 13 studies en 20 Java-apen in 3 studies, waarbij in 1 studie zowel resusapen als Java-apen werden ingezet. Er zijn 25 witoorpenseelapen ingezet in 1 studie.

De experimenten bij BPRC dienen de volgende doelen: fundamenteel wetenschappelijk onderzoek met als doel een antwoord te krijgen op wetenschappelijke vragen. En toegepast translationeel onderzoek, preklinisch onderzoek zoals de ontwikkeling van vaccins en geneesmiddelen.

Apen mogen onder de Wet op de Dierproeven alleen gebruikt worden voor onderzoek op essentiële biomedische gebieden betreffende ernstige of levensbedreigende ziekten van de mens, mits daarvoor nog geen alternatieven beschikbaar zijn.

De tabel hieronder geeft weer hoeveel dieren we voor de verschillende onderzoeksdoelen hebben ingezet.

<i>Doelen</i>	<i>Resusapen</i>	<i>Java-apen</i>	<i>Witoorpenseelapen</i>
Toegepast translationeel onderzoek	155	20	25
Fundamenteel wetenschappelijk onderzoek	0	0	0

16 studies met 200 apen in 2020

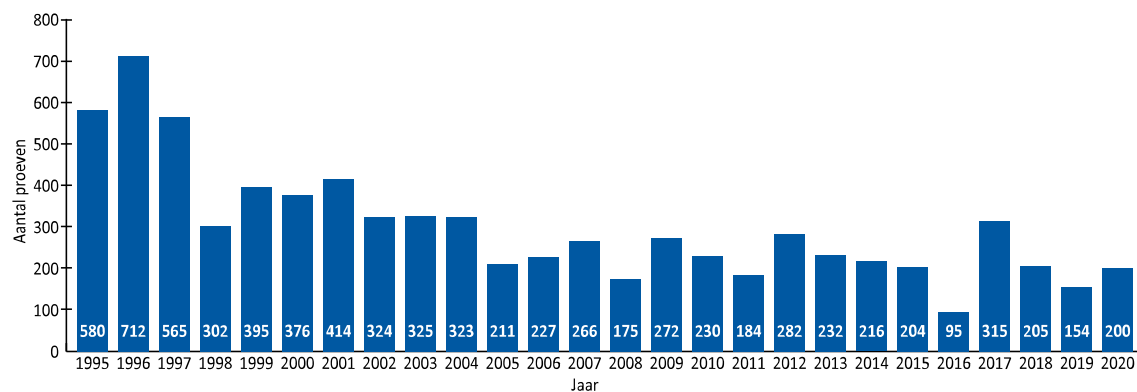
De tabel hieronder toont welke studies dit zijn, hoeveel dieren er per studie zijn ingezet en de vergunning van de CCD.

<i>Titel van de studie</i>	<i>Aantal apen</i>	<i>Mate van ongerief</i>	<i>CCD vergunning</i>
Onderzoek naar de werkzaamheid van vaccins en antivirale middelen tegen nieuwe coronavirussen	77 resusapen, 16 Java-apen	92 matig, 1 ernstig	AVD9404
Efficacy of anti Dengue compound against Dengue infection (POC study)	14 resusapen	14 matig	AVD2884
Onderzoek naar de werkzaamheid van Rift Valley Fever virus in penseelapen	25 penseelapen	25 matig	AVD4224
Zika subunit vaccine efficacy study in rhesus macaques	16 resusapen	16 matig	AVD496
De ontwikkeling van geneesmiddelen tegen malaria inclusief slapende lever stadia	13 resusapen	13 licht	AVD2664
Herhaalde BCG vaccinatie via alternatieve toedieningsroute voor een betere bescherming tegen tuberculose.	32 resusapen	32 matig	AVD2645
Neonatale BCG vaccinatie in resusapen als model voor humane neonatale BCG vaccinatie	3 resusapen	3 licht	AVD9247
Identification, isolation and enrichment of peptides that can pass the blood-brain barrier and be used for the development of new brain cancer therapies	4 Java-apen	4 licht	AVD5885

Aantal dierproeven door de jaren heen

Bij BPRC leven 1055 apen (31 december 2020). Zij worden bij BPRC geboren in fokkolonies die zo natuurgetrouw mogelijk leven. Een beperkt aantal apen binnen BPRC neemt deel aan experimenten. Omdat sommige onderzoekstrajecten meerdere jaren beslaan is er in bepaalde jaren sprake van hogere of juist lagere aantallen. In de tabel hieronder is per jaar zichtbaar hoeveel apen voor onderzoek zijn ingezet.

Aantal experimenten met apen per jaar



Mate van ongerief in getallen over 2020

Ingeschat ontvangen ongerief door:	Resusapen	Java-apen	Witoorpenseelapen
Terminaal onder anesthesie	0	0	0
Licht	16	4	0
Matig	138	16	25
Ernstig	1	0	0
Totaal	55	20	25

Mate van ongerief toegelicht

Een belangrijke factor voor het advies dat de CCD/DEC geeft, is het te verwachten ongerief voor de ingezette proefdieren (zie: Dierexperimenten Commissie). Daarnaast houdt de CCD/DEC bij het bepalen van het advies ook rekening met de duur van het ongerief. Beiden zijn afhankelijk van de aard van het experiment. Hoe hoger en langer het te verwachten ongerief, des te zwaarwegender moeten de wetenschappelijke en volksgezondheid belangen zijn om het experiment te mogen uitvoeren. Ondanks dat ongerief moeilijk is te kwantificeren blijken de volgende categorieën in de praktijk goed bruikbaar (Annex VIII van Directive 2010/63/EU):

Terminaal

Voor registratie van het ongerief van dierproeven die worden uitgevoerd onder volledige anesthesie en waarbij het dier aansluitend wordt gedood.

Licht

Zoals een enkele bloedafname, malaria, maar ook onnatuurlijke huisvesting.

Matig

Zoals vaccinaties, PET/CT scan, meerdere bloedafnames en milde ziekteverschijnselen.

Ernstig

Zoals ernstige ziekteverschijnselen van aids of tuberculose.

Apensoorten bij BPRC



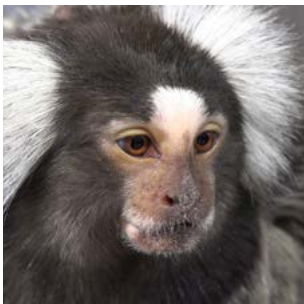
Resusapen (*Macaca mulatta*)

Resusapen hebben een rossige, gele vacht en een veel lichtere buik. Hun gezichten zijn kaal en roze. Het gezicht van vrouwen kan in de vruchtbare periode rood kleuren. Volwassen dieren zijn tot 64 cm lang en hebben een staart van 18 tot 30 cm. Mannen wegen rond de tien kilo, vrouwen vaak maar de helft.



Java-apen (*Macaca fascicularis*)

Java-apen hebben een grijsbruine vacht en een veel lichtere buik. Hun deels behaarde gezichten zijn bruin. Verder zijn ze te herkennen aan het kleine kuifje op hun hoofd. De vrouwen krijgen op volwassen leeftijd soms baarden. Volwassen dieren zijn tot 50 cm lang, met een staart van 50- 60 cm. Mannen wegen rond de 6-8 kilo, vrouwen vaak maar de helft.



Witoorpenseelapen (*Callithrix jacchus*)

Deze kleine aapjes staan ook wel bekend als common marmosets. Hun vacht is veelkleurig; bruin, grijs, geel en wit. Hun lange staart is gestreept en ze hebben witte kwastjes rondom hun oren. Hun snuit is roze tot donkerbruin bij de neus, wanneer ze veel in de zon hebben gezeten. Volwassen dieren zijn tot 19 cm lang en hebben een staart van 20- 25 cm. Deze dieren wegen rond de 300-400 gram.

Dierenwelzijn 2020



Welzijn van proefdieren is heel belangrijk. Natuurlijk voor de dieren zelf, maar ook voor het onderzoek. Goede huisvesting en verzorging spreken voor zich. Maar net zo belangrijk is training. Zodat ze vertrouwd raken met medische handelingen, zelfs zo dat ze vrijwillig meewerken voor een beloning. Daarnaast kunnen ze rekenen op een goede gezondheidszorg.

Huisvesting & verzorging

Voor het onderzoeksprogramma heeft BPRC eigen fokkolonies van resusapen (*Macaca mulatta*), Java-apen (*Macaca fascicularis*) en witoorpenseelapen (*Callithrix jacchus*).

In 2020 zijn in deze fokkolonies 45 resusapen, 14 Java-apen en 17 witoorpenseelapen geboren. BPRC heeft een stabiele kolonie, waarvan de grootte is afgestemd op het onderzoeksprogramma. De grootte van de fokkolonie reguleren we voornamelijk door het plaatsen van Implanon in vrouwelijke dieren ter voorkoming van zwangerschappen. In enkele gevallen besluiten we tot vasectomie van mannen. In beide gevallen kunnen we de groepsstructuur in belangrijke mate in stand houden. Animal Science Department, de verantwoordelijke afdeling voor het huisvesten en verzorgen van de dieren, en de diverse onderzoeksgroepen van BPRC, voeren nauw overleg om het fokbeleid goed vast te leggen. De kolonie Java-apen beheren we grotendeels voor het wetenschappelijk onderzoek naar gedragsaspecten in samenwerking met de afdeling Animale Ecologie van de Universiteit van Utrecht.

Koloniemanagement

De nauwe samenwerking tussen koloniemanager (gedragsdeskundige), dierenartsen en genetici kent drie speerpunten: de fok optimaal laten verlopen, inteelt voorkomen en de best mogelijke selectie van dieren voor het onderzoek waarborgen. In de fok zijn de dieren gehuisvest in grote, natuurgetrouwe groepen. De dieren blijven in principe minimaal gedurende de eerste anderhalf (voor de witoorpenseelapen) of vier (voor de beide makaaksoorten) jaar van hun leven in hun geboortegroep. Op deze manier probeert BPRC de natuurlijke patronen zo veel mogelijk na te bootsen. Uit recent onderzoek van BPRC in samenwerking met de Universiteit van Utrecht blijkt dat deze wijze van huisvesten een positief effect heeft op toekomstige groepssamenstellingen in de fok. Een aantal dieren blijft gedurende het hele leven in de fokgroep. Zodra dieren zijn geselecteerd voor studies, verhuizen ze naar daartoe geschikte faciliteiten.

Sociale groepen en gedrag

Alle dieren bij BPRC zijn sociaal gehuisvest. We hebben veel aandacht voor verrijking van de leefomgeving. Daarnaast besteden we specifieke aandacht aan diertaining. Daartoe heeft BPRC twee diertainers in dienst. Het optimaal verzorgen van deze grote groepen apen, met een grote diversiteit aan leeftijden, vereist specifieke expertise. De dieren worden verzorgd door gediplomeerde diervverzorgers. Zij hebben een meerjarige opleiding voltooid, gevolgd door een interne opleiding om de specifieke kenmerken van apengedrag en verzorging te leren.

Diertraining & welzijn

BPRC houdt zich al een aantal jaren bezig met diertraining gericht op het zo veel mogelijk vrijwillig laten meewerken van de dieren aan een aantal handelingen.

Een voorbeeld is het vrijwillig aanbieden van een been bij een bloedafname. De diertrainers van BPRC ontwikkelen continu methodes om die handelingen zo optimaal mogelijk te laten verlopen. In internationaal verband zijn ze ook betrokken bij het verder ontwikkelen van die trainingen. Ze delen hun kennis met andere instituten, onder andere door het geven van lezingen of workshops. BPRC moedigt de diervverzorgers aan om continu nieuwe verrijkingsitems te ontwikkelen. Hiervoor volgen verschillende diervverzorgers regelmatig specifieke (inter)nationale opleidingen op het gebied van dierenwelzijn, diertraining en voeding.

Gezondheidsbewaking

De groep diergeneeskundige zorg is verantwoordelijk voor de controle op de gezondheid van alle dieren, zowel in de fok als in studies. De groep kan gelijk handelen in geval van plotselinge ziekte of verwonding door bijvoorbeeld gevechten en voeren ook jaarlijks gezondheidscontroles uit bij alle apen. Dit komt het welzijn van de gehele kolonie ten goede.

De groep diergeneeskundige zorg bestaat uit vier dierenartsen, een veterinaire patholoog en vijf ondersteunende medewerkers. Om gezondheids- en gedragsproblemen bij de dieren beter te monitoren, werken de dierenartsen, kolonimanager en diertrainers nauw samen. BPRC beschikt over een gedegen handleiding. BPRC streeft naar een continue verbetering op het gebied van veterinaire zorg en het houden van apen. Het diergeneeskundige team werkt, naast de reguliere diergeneeskundige aspecten in de kolonie, voortdurend aan verdere verfijning van methodes.

Naast de aandacht voor het welzijn van de dieren doet BPRC ook veel onderzoek naar verschillende aspecten die effect kunnen hebben op de gezondheid van de dieren. In het kader van een diergeneeskundig promotietraject, doen we onderzoek naar betere behandelingsmethodes om diarree bij apen te voorkomen en genezen. Daarnaast lopen er trajecten naar het voorkomen van specifieke micro-organismen in de kolonie, het voorkomen van diabetes in Java-apen, het vaststellen van gezonde gewichten bij resusapen en Java-apen.

3V's & transitie 2020



Door het doen van biomedisch onderzoek naar diverse soms levensbedreigende ziektes probeert BPRC een bijdrage te leveren aan de verbetering van de menselijke gezondheid wereldwijd. Hiervoor werken we met apen, maar alleen wanneer er geen andere manier is om het onderzoek uit te voeren. Wij zijn ons ervan bewust dat het werken met dieren een maatschappelijke verantwoordelijkheid met zich mee brengt. Daarom zien wij het ontwikkelen van alternatieve manieren om biomedisch onderzoek te doen als een onderdeel van onze missie. We dragen bij aan het transitieprogramma Proefdiervrije innovatie en volgen daarbij het principe van de 3V's. Vervanging is uiteraard het hoogste doel, maar ook vermindering en verfijning staan op het programma.

Vervanging

Niet specifiek voor één bepaalde ziekte, maar meer in zijn algemeenheid proberen we dieren te vervangen door zogeheten 'in-vitro'-technieken te gebruiken. Letterlijk betekent dit 'in glas'. Dus onderzoek met cellen-op het lab- als proefdiervrije innovatie. Soms kan een celweekmethode daadwerkelijk een dier overbodig maken.

Vaak is het echter zo dat celweekmethodes geschikt zijn om bepaalde vragen te beantwoorden die deel uitmaken van een groter onderzoek. Zo kan het totaal aantal dieren verminderen zoals bijvoorbeeld bij onderzoek naar het brein en het afweersysteem.

Een goed voorbeeld van een bijna één-op-één vervanging zijn sommige malariastudies. Vroeger waren voor het ontdekken van nieuwe geneesmiddelen heel veel apen nodig. Ieder mogelijk nieuw middel werd in minstens 1 aap getest. Met de ontwikkeling van onze nieuwe kweektechnieken kunnen we nu met het bloed van 1 besmette aap honderden nieuwe middelen tegelijkertijd testen op hun werking. We laten muggen op het lab van dit besmette bloed drinken. De malariaparasieten maken dan in de muggen een cyclus door. Hierna kunnen we levercellen die we hebben opgekweekt, in een kweekschaal besmetten met deze parasieten en daarop heel veel mogelijk nieuwe geneesmiddelen testen. Op deze manier kunnen we dus veel efficiënter nieuwe geneesmiddelen ontdekken en hebben we tegelijkertijd veel minder apen nodig.

Vermindering

Onderzoek naar het brein

Een goed voorbeeld van vermindering is onderzoek naar het brein. Uit de hersenen van overleden apen kweken we iedere keer opnieuw cellen op die betrokken zijn bij bijvoorbeeld neurologische ziektes zoals multiple sclerose, de ziekte van Parkinson en dementie. Maar ook virussen zoals het Zika en het West Nijl Virus kunnen ziekte in de hersenen veroorzaken. Het opkweken van cellen uit hersenweefsel is een ingewikkeld proces, waarvoor wij veel technologische know-how hebben opgebouwd met name op het gebied van de immuuncellen van het brein, de zogenaamde microglia.

Overleden apen zijn niet alleen hersendonor, ook andere weefsels zijn bruikbaar voor onderzoek. Daarom worden de apen bij ons na het overlijden weefseldonor. Hun materiaal slaan we op in onze zogeheten bio-bank. Onderzoekers binnen en buiten BPRC doen onderzoek met dit materiaal dat onderzoek met levende dieren vermindert.

Onderzoek naar het afweersysteem

Een ander voorbeeld van vermindering is onderzoek naar het afweersysteem. Vaccins 'trainen' ons afweersysteem om binnendringende ziekteverwekkers op te ruimen. Ze zijn essentieel voor de bescherming van de volksgezondheid. De productie van vaccins gebeurt iedere keer in verse porties, zogeheten batches. De veiligheid en werkzaamheid van nieuwe batches moeten nu iedere keer opnieuw getest worden in dieren.

BPRC doet deze tests zelf niet, maar helpt wel mee om voor deze repetitieve testen alternatieven te ontwikkelen. We hebben b.v. eeuwig delende cellijnen ontworpen die we in kunnen zetten als 'bioassay'. Deze cellijnen hebben wij voorzien van allerlei moleculen en lichtgevende eiwitten. Op deze manier kunnen we zonder proefdieren, toch gedetailleerde informatie krijgen over de werking van onderdelen van vaccins.

BPRC is samen met andere Europese instituten betrokken bij de verdere ontwikkeling van dit concept, zodat niet steeds opnieuw dieren nodig zijn.

Verfijning

Verfijning is de minst bekende van de 3V's. Waar Vervanging en Vermindering de meest duidelijke alternatieven lijken, kan Verfijning tot een veel directer effect voor de dieren zelf leiden. Verfijning omvat alles wat het leven van proefdieren aangenamer maakt of hun lijden vermindert.

Bijwerkingsarme adjuvantia

Binnen het BPRC werken we hard aan de ontwikkeling van een adjuvant dat geen bijverschijnselen geeft. Om het afweersysteem extra te activeren maken we bij mensen en proefdieren vaak gebruik van hulpstoffen, zogeheten adjuvantia. Het injecteren van sommige adjuvantia is voor apen, maar ook voor veel andere proefdieren, vervelend vanwege ontstekingen van de huid op de injectieplaatsen. De ontwikkeling van nieuwe adjuvantia met minder of geen bijwerkingen betekent zo een aanzienlijke verfijning voor veel proefdieren.

Genetische karakterisering

Alle apen van het BPRC worden genetisch in kaart gebracht. Dit stelt ons in staat om de fokgroepen zo samen te stellen dat er genoeg genetische diversiteit is. Dit levert sterke en gezonde dieren op. Daarnaast stelt het ons ook in staat om voor specifieke studies dieren te selecteren, die de meeste kans hebben te reageren met het product dat we willen onderzoeken. Naast verfijning betekent dit ook vermindering van het aantal dieren dat nodig is voor studies.

Verrijking en training

Verfijning reikt verder dan alleen het biomedisch onderzoek. Zo zorgen we voor omgevingsverrijking. De apen leven in grote groepen in een zo natuurlijk mogelijke omgeving. Ze kunnen hier naar hartenlust klimmen, slingeren, rennen en spelen en ze zijn nooit alleen. Ook het eten kunnen we leuker voor ze maken door het aan te bieden als verrijking. We laten ze op allerlei manieren naar het eten zoeken. Net zoals ze dat in de natuur zouden doen. Verder is ons trainingsprogramma ook een onderdeel van verfijning. Door training werken de dieren vrijwillig mee aan bepaalde handelingen, omdat ze daarvoor een beloning krijgen. Zo wennen ze aan situaties, wat stress tijdens het onderzoek zo veel mogelijk bij ze wegneemt.

Transparantie 2020



Als proefdierorganisatie vinden het belangrijk om uit te leggen wat we doen, waarom we het doen, en hoe. Daarom streven we naar een zo hoog mogelijke transparantie. Dit doen we op verschillende manieren.

Digitaal kijkje achter de schermen

[Linkt naar videopagina op bprc.nl](#)

Poorten open

BPRC heeft de blik naar buiten gericht en gunt de buitenwereld ook een blik naar binnen. Daarom zetten we de poorten letterlijk en figuurlijk open. Belangstellenden kunnen informatie verkrijgen via verschillende wegen. Vanwege corona kunnen we op dit moment helaas geen bezoekers ontvangen.

“Het is heel anders dan ik had gedacht”, is de veelgehoorde, positieve reactie van mensen die bij ons op bezoek zijn geweest. Ieder jaar ontvangen we bijna duizend bezoekers die een kijkje komen nemen. We organiseren rondleidingen voor bijvoorbeeld scholen, clubs, politici, familieleden, buurtbewoners en andere belangstellenden. Het bezoek begint meestal met een inleidend praatje over ons wetenschappelijk onderzoek. Daarna volgt een rondleiding langs de buitenverblijven met de fokkolonies van resusapen, penseelapen en Java-apen.

Open transparant

Ook de media weet ons te vinden. De afgelopen jaren hebben we verschillende journalisten mogen ontvangen. Zo hebben Vice, Nu.nl, BBC, Zapp Buitendienst en NEMO Kennislink al een kijkje achter de schermen genomen.

Stage

Een hele andere manier van informatie delen is het opleiden van (internationale) studenten en professionals. De combinatie van wetenschappelijk biomedisch onderzoek en apen vraagt om vakmensen. Hierdoor krijgen we vaak verzoeken voor stages en werkbezoeken. De kennis en ervaring die zij bij ons opdoen houden ze niet voor zichzelf, maar delen ze met vakgenoten van over de hele wereld.

Outreach

Naast het inpassen van de 3V-principes binnen de eigen organisatie, participeert BPRC in verschillende (inter)nationale gremia die zich bezighouden met proefdiergebruik.

Onze diervverzorgers, diertrainers, dierenartsen en koloniemanager nemen actief deel aan verschillende (inter)nationale meetings en congressen waarbij ze ervaringen uitwisselen met vakgenoten. Ook zijn ze actief betrokken bij organisaties zoals de Biotechnische Vereniging, de Nederlandse Vereniging voor Proefdierkunde en de Europese Vereniging voor Dierenartsen. Door het uitwisselen van ervaringen met vakgenoten, is het mogelijk methodes en protocollen van verschillende instituten op het gebied van voeding, huisvesting en verzorging te standaardiseren; een belangrijke bijdrage aan de 3V's en dus aan het dierenwelzijn.

Rondleidingen

Door het geven van rondleidingen, open dagen en voorlichtingen probeert BPRC zo transparant mogelijk te zijn. Vanzelfsprekend kan dit alleen met inachtneming van het waarborgen van de veiligheid en gezondheid van dier en mens. BPRC biedt studenten de mogelijkheid hun (afstudeer) stage bij BPRC uit te voeren. Studenten van vmbo-, mbo-, hbo-opleidingen en van universiteiten maken hier veelvuldig gebruik van. Verder verzorgen wij regelmatig rondleidingen aan geïnteresseerden, zoals scholieren en studenten, uit binnen- en buitenland. Vanwege corona kunnen we op dit moment geen bezoekers ontvangen.

Delen van informatie

Daarnaast hebben onze diertrainers en koloniemanager lezingen verzorgd bij verschillende gelegenheden en geeft BPRC op vaktechnische gebieden workshops. Verder verschaft BPRC op verzoek informatie aan de Stichting Informatie Dierproeven en leveren wij sprekers voor debatten over proefdiergebruik. Het hoofd van de Unit Alternatieven is sinds 2010 lid van de redactieraad die de brochure "Dierproeven: Zo doen ze dat!" toetst op inhoud.