

Orale dosering bij muizen



Bea Zoer

Nederlands Kanker Instituut/Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis, bea_zoer@hotmail.com

Er is een aantal technieken waar regelmatig gebruik van wordt gemaakt binnen proefdierfaciliteiten waarbij het inschatten van het ongerief vooraf lastig is. In deze gevallen geeft ook bijlage VIII van de Europese Richtlijn geen uitsluitel. In dit artikel wordt ingegaan op de ongeriefinschatting bij herhaaldelijke orale dosering (gavage) in muizen.

Orale dosering wordt gezien als een 'eenvoudige' handeling, die bij correcte uitvoering geen groot of langdurig ongerief oplevert voor de muis. De vraag is of er redenen zijn om aan te nemen dat het ongerief hoger wordt wanneer dezelfde muis vaker een stof toegediend krijgt via orale toediening. Mogelijke risico's van orale toediening zijn beschadiging van het slokdarmepitheel/mucosa en/of de maag, inademing of injectie in de luchtpijp in plaats van in de slokdarm, slokdarm- of maagperforatie, irritatie van de slokdarm, gewichtsverlies (1-3) en gedragsverandering van de dieren ('kribbigheid', stress; mondelinge communicatie).

Verscheidenheid aan opvattingen

Diverse leden van Instanties voor Dierenwelzijn in Nederland geven aan dat het (vaker) optreden van deze complicaties te maken heeft met de (on)bekwaamheid van de uitvoerder, de kwaliteit (geen beschadigingen), maat en model van de gebruikte (geknopte) canule, de gebruikte muizenstam (meer coöperatieve stammen zullen eerder wennen aan fixatie en toediening), de toe te dienen substantie (bijvoorbeeld irriterend of ziekmakend), het toegediend volume en de afmeting van de muis.

Bij de verschillende proefdierfaciliteiten in Nederland is er een verscheidenheid aan opvattingen over wanneer het ongerief hoger dan licht ingeschat wordt bij chronische orale toediening. Hierbij volgt een aantal reacties: »

'Met niet te kleine muizen, een ervaren toediener en een compound die geen bijzondere effecten geeft, kan een weeklang orale gavage gegeven worden zonder dat het ongerief hoger dan licht wordt.'

'We weten wel dat muizen en ratten wat kribbig kunnen worden wanneer je ze dagelijks oraal doseert voor een maand of langer. Dan kun je die gedragsverandering gebruiken als argument: het natuurlijk gedrag is verstoord. Dan gaat om die reden de inschatting van licht naar matig ongerief als er langer dan een maand toegediend moet worden.'

'Bij correcte fixatie van het dier en correcte uitvoering van de orale toediening heeft het dier er vrij weinig last van en kan het ongerief ingeschaald worden als 'licht'. Ook als het dier meer dan één keer oraal wordt gedoseerd, met de juiste techniek, blijft het ongerief 'licht'. Wanneer de techniek niet correct wordt uitgevoerd of het dier niet goed wordt gefixeerd kan er schade optreden aan de slokdarm en/of maag, wat tot gevolg zou hebben dat het ongerief verhoogt.'

'Ervaring laat zien dat zelfs maandenlange dagelijkse toediening zonder problemen kan plaatsvinden (wel afhankelijk van de ervaring van de toediener, de coöperatieve instelling van de muizenstam en de toe te dienen stof). Maar als iemand onervaren is, kan het cumulatieve ongerief al na enkele toedieningen matig worden, of als de toe te dienen stof daar aanleiding toe geeft.'

'Voor ons is de belangrijkste conclusie dat de categorie licht of matig welke uiteindelijk gekozen wordt ondergeschikt is aan de discussie die hieraan vooraf gaat met de onderzoeker om te kijken of verfijning mogelijk is en de randvoorwaarden aanwezig zijn om het risico op schade door gavage te minimaliseren.'

'Gevoelsmatig, met mijn ervaringen, zou ik als alles netjes en vlekkeloos verloopt pas van matig spreken als er echt tientallen keren wordt toegediend. Maar als het worstelen wordt dan kan ik me voorstellen dat iemand die grens al bij zeven keer legt.'





Publicaties over orale toediening

In de schaarse directe literatuur over de effecten van orale toediening, worden de eerder genoemde risicofactoren voor meer ongerief bij het toepassen van deze handeling ook genoemd (1-4). Gewichtsverlies is een belangrijke indicator van complicaties (2). In een studie werden muizen veertien dagen dagelijks oraal gedoseerd. Daarna werd onder meer gekeken naar schade aan de slokdarm, die volledig intact en onbeschadigd bleek (1). Er was ook geen duidelijke ontsteking aanwezig, hoewel niet uitgesloten werd dat er een immunologische reactie in gang gezet was (1). Andere studies wijzen erop dat niet de chronische orale dosering tot de meeste problemen leidt, maar dat problemen vaak een acuut gevolg van een orale dosering zijn (2-4). Dit is af te lezen uit de plotselinge gewichtsafname van deze dieren. Bij deze dieren was de slokdarm geperforeerd en was er sprake van ontstoken borstvliezen (2, 3). Er waren ook dieren met een bloeditstorting in de speekselklier en verwijding van de slokdarm (2). In een muis die geen klinische symptomen had, werd achteraf een geheelde, gedeeltelijke slokdarmperforatie gevonden (2). Bij het overgrote deel van de dieren werden geen aanwijzingen voor slokdarmontstekingen gevonden na twee tot vier weken orale dosering (2, 3).

In een onderzoek waarin orale dosering met of zonder anesthesie uitgevoerd werd, werden meer muizen uit de wakkere orale dosering groep vroegtijdig uit het experiment gehaald dan in de geanestheerde groep (2). Er is discussie of orale dosering onder anesthesie minder ongerief geeft dan orale dosering zonder anesthesie. Nadeel van uitvoeren onder anesthesie is dat het dier niet slikt, wat de procedure bemoeilijkt en daardoor tot beschadiging van de bek kan leiden. Voordeel van oraal toedienen onder anesthesie is dat er wel minder uitval is. Verder wordt de toegediende dosis genoemd als factor die bijdraagt aan de ongeriefinschatting. Diehl et al. (5) geeft aan dat onder 'good practice' bij orale toediening een volume van maximaal 10 mL/kg zou moeten worden aangehouden. Bij toediening van een hoger volume (tot maximaal 50mL/kg) bestaat de kans op overvullen van de maag en zal de toegediende substantie direct in de dunne darm lopen. Daardoor is de dosering minder nauwkeurig. Ook »



is er risico op overlopen via de luchtpijp naar de longen, met snelle dood door verstikking of longontsteking tot gevolg.

Conclusie

Uit ervaring binnen de proefdiercentra in Nederland, alsmede uit wetenschappelijke publicaties komt naar voren dat langdurige (minstens tot 4 weken) orale toediening niet of nauwelijks leidt tot beschadigingen aan de slokdarm of maag en niet leidt tot bovenmatige stress, wanneer de toediener ervaren is en de toegediende stof niet irriterend.

Uitval is bij uitstek het gevolg van perforatie van de slokdarm, een acute vorm van beschadiging, leidend tot acuut gewichtsverlies bij de muis. Of en hoe vaak dit gebeurt, wordt vooral bepaald door de mate van ervaring van de uitvoerende persoon. Daarnaast is het toe te dienen volume een belangrijke bepalende factor als het gaat om ongeriefinschatting. In principe kan orale toediening dus als licht ongerief worden ingeschaald, tenzij de hiervoor genoemde factoren de kans op inwendige beschadigingen bij het dier verhogen. In die gevallen kan het ongerief beter ingeschaald worden op matig.

Aanbevelingen

De belangrijkste factor die het ongerief bij orale toediening beïnvloedt is de bekwaamheid van de uitvoerder. Daarom is en blijft adequate training heel belangrijk. Daarnaast is het aan te bevelen het gewicht van muizen die gedurende langere tijd oraal toegediend worden, te monitoren. Bij gewichtsafname die niet logischerwijs gerelateerd is aan de toegediende substantie, wordt slokdarmschade vermoed, wat een humaan eindpunt is voor het dier. Op deze manier kan onnodig leed worden voorkomen. Verder wordt aanbevolen om een maximaal volume van 10mL/kg aan te houden als standaard. Wordt er meer toegediend, wat alleen zou moeten gebeuren vanwege zwaarwegende argumenten, dan is dat reden om de inschatting van het ongerief op te schalen en extra waakzaam te zijn op overlopen van de toegediende substantie naar de longen.

Literatuur

- 1 Kinder JM *et al.* (2014). *Long-term repeated daily use of intragastric gavage hinders induction of oral tolerance to ovalbumin in mice.* *Comparative Medicine* 64 (5): 369-376.
- 2 Jones CP ,Boyd KL, Wallace JM (2016). *Evaluation of mice undergoing serial oral gavage while awake or anesthetized.* *Journal of the American Association for Lab Animal Science* 55(6): 805-810.
- 3 Arantes-Rodrigues R *et al.* (2012). *The effects of repeated oral gavage on the health of male CD-1 mice.* *Lab animal* 41(5):129-134.
- 4 Smith D *et al.* (2018). *Experienced by animals used in scientific procedures: FELASA/ECLAM/ESLAV Working Group report, Laboratory Animals* 52(1S): 5–57.
- 5 Diehl K-H *et al.* (2001). *A good practice guide to the administration of substances and removal of blood including routes and volumes.* *Journal of Applied Toxicology* 21: 15-23.

«