



Inleiding

Het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) te Rijswijk huisvest apen voor biomedisch onderzoek aan ernstige en levensbedreigende ziekten. In 2010 is het nieuwe onderzoeksgebouw (OG) in gebruik genomen. In het OG wordt onder meer onderzoek gedaan naar nieuwe en verbeterde vaccins op het gebied van tuberculose (TBC). Het onderzoek wordt uitgevoerd met resusapen. TBC wordt door de lucht verspreid waardoor er extra veiligheidsmaatregelen moeten worden genomen om besmetting van diervverzorgers en onderzoekers te voorkomen. De arbeidsintensieve manier van diervverzorging is echt een vak apart - *het protocol is zo strikt als ware men op de maan* - en daarom vinden we het leuk om jullie hier wat meer over te vertellen.

Tuberculose

Tuberculose (TBC) is een infectieziekte die veroorzaakt wordt door *Mycobacterium tuberculosis*.



Wereldwijd zijn er ongeveer twee miljard mensen besmet met TBC wat leidt tot twee miljoen doden per jaar (Afb. 1a). Zeker in landen met een hoge HIV incidentie is TBC een extra risicofactor tot vroegtijdig overlijden. De meest voorkomende vorm is longtuberculose, »

Afbeelding 1a. Mondiale incidentie van TBC.



Afbeelding 1b.
Incidentie van
multiresistente TBC.

maar de ziekte kan ook andere delen van het lichaam aantasten, zoals gewrichten, nieren of hersenen. De tijd van infectie tot ontwikkeling van de ziekte (incubatietijd) varieert van enkele weken tot vele jaren. In 2011 werden in Nederland 1012

TBC-patiënten geregistreerd, waarvan 15 personen de multiresistente bacterie bij zich droegen (1); wereldwijd zijn er al meer dan 500.000 mensen waarbij de standaardmedicatie niet meer werkt (Afb. 1b). Mede hierom is het belangrijk dat er een nieuw werkend vaccin beschikbaar komt om verdere verspreiding een halt toe te kunnen roepen.

Resusapen

Resusapen komen in het wild voor in grote delen van Azië, van Afghanistan tot India en van Thailand tot China. Resusapen zijn een van de best bestudeerde apensoorten, zowel in hun natuurlijke omgeving als in het laboratorium. De gemeenschappelijke voorouder van mens en resusaap leefde ongeveer 25 miljoen jaar geleden. Door de anatomische en fysiologische overeenkomsten met mensen worden ze intensief gebruikt voor biomedisch onderzoek. Resusapen hebben een cruciale rol gespeeld in de ontwikkeling van hondsdolheid-, pokken- en polio-vaccins, de ontdekking van de resusfactor in het bloed, medicatie voor AIDS, beenmerg- en niertransplantatie-onderzoek en vruchtbaarheidsonderzoek en gedragsvraagstukken bij de mens.

Het BPRC fokt sedert de jaren '70 zijn eigen resusapen. Een fokgroep bestaat uit een fokman, meerdere vrouwtjes en hun kinderen en omvat 15-30 individuen. De fok is seizoensgebonden en vrouwtjes zijn ± 164 dagen zwanger van één jong (Afb. 2). Na minimaal vier jaar wordt een aantal dieren uit hun groep gehaald en gehuisvest in kleine sociale groepen om op termijn ingezet te worden bij experimenteel onderzoek.

Afbeelding 2.
Het buiten-
verblijf van
een fokgroep
resusapen
op het BPRC.





Afbeelding 3.
De experimentele huisvesting van de resusapen. Het vooruitstekend deel van de kooi is de 'balcony box', de plaats waar de dieren getraind worden.

Huisvesting, dagelijkse verzorging en training

Per dierkamer in OG kunnen maximaal twaalf dieren worden gehuisvest. De sociaal gehuisveste dieren zitten als koppel in kooien van 2.0 x 1.0 x 2.5 m (Afb. 3). Een kooi is onderverdeeld in een aantal compartimenten. Dieren krijgen dagelijks, op verschillende tijdstippen van de dag, brood, brokken, fruit en voedselverrijking (2). In de kooi bevindt zich ook een bak met zaagsel en kooiverrijking (2). Minimaal eenmaal per week worden de verblijven schoongemaakt. Alle dieren worden intensief getraind middels 'positive reinforcement training' (PRT). Hierbij wordt het dier aangeleerd om al het aangeboden voedsel aan te nemen in de 'balcony box', een wat vooruitstekend deel van de kooi (Afb. 3). Ook bij de targettraining wordt intensief gebruik gemaakt van dit compartiment. Door training van de dieren wordt de interactie tussen dier en verzorger bevordert en zijn ze makkelijker te hanteren voor experimentele handelingen. Een belangrijke indicator voor het welzijn is de eetlust van het dier, zeker na TBC infectie, maar eetlust is moeilijk te registreren als dieren sociaal gehuisvest zijn. Daarom worden de koppels tijdens hun voertijd tijdelijk van elkaar gescheiden zodat elk dier rustig kan eten. Ook het gedrag van de dieren wordt genoteerd en vervolgens worden ze weer bij elkaar gelaten. TBC tast vooral de longen aan en heeft dus direct invloed op de fysieke conditie van het dier. Luisteren naar de ademhaling van het dier is moeilijk omdat de diervorzorger adembescherming moet dragen. Het is daarom uiterst belangrijk dat door klinische observatie goed in kaart wordt gebracht wat de toestand van het dier is, zodat bij problemen tijdig kan worden ingegrepen om onnodig ongerief te voorkomen.

PBM's en desinfectie

In tegenstelling tot kleinere diersoorten die je tijdens het experiment van de werkomgeving kunt isoleren, is dit bij apen zeer omslachtig zo niet onwerkbaar. Daarnaast zijn resusapen erg gevoelig voor TBC. Mede hierom wordt al het personeel op het BPRC jaarlijks gescreend op afwezigheid van TBC en is voor mensen van buiten het bedrijf een recente GGD verklaring nodig voordat ze zich in ruimtes mogen bevinden waar ook dieren komen. Binnen het OG staan de dierkamers op onderdruk waarbij de ingezogen lucht via absoluut filters weer naar buiten wordt geblazen. Op deze manier worden alle andere dieren (en mensen) op het BPRC terrein en daar buiten beschermd tegen infectie. »

Tijdens een experiment worden de dieren na hun vaccinaties actief besmet met TBC, dat is de methode om de effectiviteit van een vaccin proefondervindelijk vast te stellen. De aap wordt besmet door een katheter in te brengen die via de luchtpijp naar de longen gaat. Je draait hierna het dier op zijn rechterzij en spuit de bacteriesuspensie in. Nadeel van deze methode is dat je niet exact weet hoeveel bacteriën in welke long terecht komen. Met behulp van bronchoscoopie, waarbij de bacterie zo diep mogelijk in de rechterlong lokaal ingebracht wordt, is dit wel bekend. De diervverzorgers die zich hierna in de kamer begeven, moeten speciale kleding dragen om van de infectieuze omgeving geïsoleerd te worden. Dit gebeurt op het BPRC op twee manieren. De eerste manier is het dragen van een 'proflow' (Afb. 4), de tweede manier is een leeflucht- of overdrakpak (Afb. 5). Bij het verlaten van de kamer wordt een desinfectiedouche met Trigene genomen, waarna alle kleding ter sterilisatie wordt aangeboden. Hierna neem je een conventionele douche en doe je schone kleding aan alvorens de kamer te verlaten.



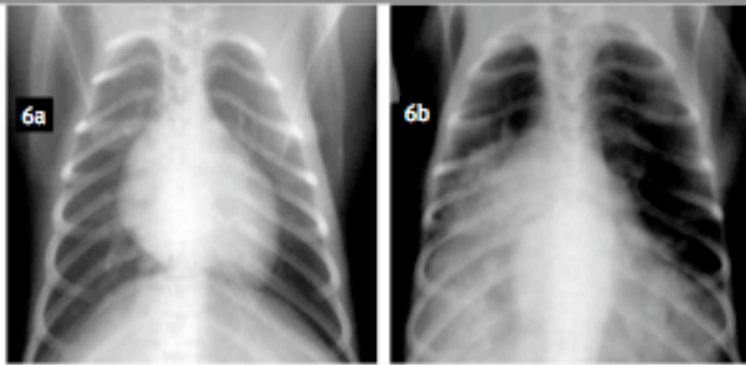
Afbeelding 4.
De proflow-uitrusting.

Afbeelding 5.
De leefluchtpakuitrusting.

Op een 'normale werkdag' moet je voor de standaardverzorging minimaal vier keer een dierkamer in waar maximaal twaalf dieren gehuisvest zitten, zodat je soms wel 15 tot 20 keer per dag deze procedure moet doorlopen. Een diervverzorger kan zodoende maar voor een beperkt aantal dieren zorgen, zodat dit soort studies erg kostbaar is. Een extra fysieke belasting voor de diervverzorgers is dat er tijdens de TBC infectieperiode periodiek röntgenfoto's van de longen worden

genomen (Afb. 6a en 6b). Hiertoe moeten naast de standaardkleding ook nog een schildklierbeschermmer, loodhandschoenen en een loodschort van ±15 kilo worden gedragen. Voor het maken van een twaalfstal foto's zijn twee personen al snel 2 tot 3 uur bezig en moet je, met je hele uitrusting, ook nog de verdoofde dieren, die 6 tot 15 kg wegen, van en naar de kooien brengen. Je kunt je voorstellen dat het moeilijk kan zijn om juist in deze situaties de concentratie vast te houden. Ook hierom zijn de mensen die hier werken extra gemotiveerd en opgeleid.

Zowel de dieren als de materialen worden middels speciale poorten en transportisolatoren naar de plaats van bestemming vervoerd. Desinfectie van biologisch materiaal voor de laboratoria zoals bloed of feces gebeurt in een 'rapid cycle' container d.m.v. waterstofperoxide (Afb.



Afbeelding 6a.
Thoraxfoto van een
gezonde resusaap.

Afbeelding 6b.
Thoraxfoto van een
resusaap vijftien we-
ken na TBC infectie.

7a); kleding en afval worden geautoclaveerd in stalen containers waar een HEPA-filter op zit. Dieren worden onder narcose naar de behandelkamer gebracht middels een transportisolator (Afb. 7b). Sectie op overleden dieren gebeurt in een speciale sectieblaas (Afb. 7c), waarna het dierlijk materiaal in afvaltonnen via de waterstofperoxide sluis (Afb. 7d) wordt afgevoerd naar een gespecialiseerd destructiebedrijf.



Afbeelding 7a. 'Rapid cycle' container voor biologische materialen.
Afbeelding 7b. Transportisolator voor de dieren.
Afbeelding 7c. Sectieblaas voor sectie op geïnfecteerde dieren.
Afbeelding 7d. Desinfectiesluis met de H₂O₂ desinfectie-robot.

Slotwoord

We hopen dat jullie een indruk hebben gekregen van ons dagelijks werk op de infectieafdeling. We denken een positieve bijdrage te kunnen leveren aan de ontwikkeling van een nieuw vaccin tegen multiresistente TBC aangezien steeds meer mensen ernstig ziek worden en steeds vaker overlijden. In de toekomst biedt onze faciliteit ook de mogelijkheid om studies uit te voeren aan andere infectieziekten zoals bv. influenza (griep) en pneumonie (longontsteking).

Literatuur

1. www.ggd.nl/actueel/nieuws/.../24-maart-wereld-stop-tuberculose-dag
2. BPRC's Enrichment manual for Macaques & Marmosets. 2010. Eds. M.K. Vernes and A.L. Louwse. pp. 9-53.
3. Resusapen factsheet, http://pin.primat.wisc.edu/factsheets/entry/rhesus_macaque