

CODE OF PRACTICE
VOOR HET HERKENNEN EN OPSPOREN VAN
ZIEKTEN MET BEHULP VAN DIERPROEVEN

CODE OF PRACTICE

VOOR HET HERKENNEN EN OPSPOREN VAN ZIEKTEN

MET BEHULP VAN DIERPROEVEN

**Codecommissie Diagnostisch Onderzoek
Veterinaire Hoofdinspectie
september 1991**

VOORWOORD

Voor de routinematige diagnostiek ten behoeve van het herkennen of opsporen van ziekten werden in Nederland in 1989 ongeveer vijftwintigduizend proefdieren gebruikt. Het aantal gebruikte proefdieren is in de afgelopen jaren sterk verminderd door verbetering van de laboratorium-diagnostiek.

Door de Veterinaire Hoofdinspectie (VHI) is de Codecommissie Diagnostisch Onderzoek ingesteld met als opdracht:

- een evaluatie uit te voeren van de waarde van de bestaande diertesten en in vitro methoden voor diagnostisch onderzoek;
- inzicht te verkrijgen in de mogelijkheid van een verdere beperking van het proefdiergebruik;
- regels op te stellen die een verdere beperking van het proefdiergebruik zullen bewerkstelligen.

In dit rapport worden voor de diagnostiek van tuberculose, toxoplasmose en rabiës de indicatiegebieden aangegeven waarvoor naar de huidige inzichten nog dierproeven noodzakelijk (kunnen) zijn.

Voor de diagnostiek van botulinum-toxinen wordt aangegeven dat veel aandacht dient te worden geschonken aan het ontwikkelen van alternatieve testen.

Voor de diagnostiek van een aantal andere microbiële ziekteverwekkers kan het voorkomen dat zeer incidenteel een dierproef geïndiceerd is.

DEEL I: CODE OF PRACTICE VOOR HET HERKENNEN EN OPSPOREN VAN ZIEKTEN MET BEHULP VAN PROEFDIEREN

Ten behoeve van de diagnostiek van tuberculose, toxoplasmose, rabiës en botulinumtoxine worden in Nederland routinematig proefdieren gebruikt.

TUBERCULOSE

Voor de diagnostiek dient het gebruik van cavia's te worden beperkt tot de volgende situaties:

- wanneer het onderzoeksmateriaal betreft dat moeilijk voor een tweede maal kan worden verkregen;
- bij een klinisch duidelijke indicatie voor tuberculose terwijl bij herhaald onderzoek het Ziehl-Neelsen preparaat en de in vitro kweek negatief zijn.
In een dergelijke situatie wordt de cavia gebruikt om Mycobacterium spp. op te hopen of om in zeer verdachte gevallen een infectie met deze bacterie te kunnen uitsluiten.

TOXOPLASMOSE

Voor de diagnostiek is het gebruik van muizen nog slechts geïndiceerd in de volgende situaties:

- diagnostisch onderzoek naar congenitale toxoplasmose waarbij direct na de geboorte placentamateriaal wordt onderzocht;
- onderzoek op toxoplasmose bij patiënten met een ernstig verminderd afweermechanisme.

RABIËS

Het gebruik van pasgeboren muizen voor de diagnostiek dient te worden beperkt tot uitsluitend de gevallen waarbij sprake is van direct contact van de mens met een van rabiës verdacht dier en waarbij de IFT¹ negatief is.

BOTULINUM TOXINE

Voor het diagnostisch onderzoek is geen alternatieve methode beschikbaar. Kritisch dient steeds vooraf te worden gewogen waartoe een positieve of negatieve bevinding leidt.

¹ Immuno Fluorescentie Test

DEEL II: AANVULLENDE INFORMATIE

INLEIDING

In 1989 werden voor het herkennen of opsporen van ziekten en hun verwekkers in Nederland bijna vijftienduizend dieren gebruikt in streeklaboratoria, ziekenhuizen, academische ziekenhuizen en andere wetenschappelijke instellingen.

Om inzicht te krijgen in de mogelijkheden van beperking en vervanging van dierproeven, welke in dit kader worden verricht, stelde de Veterinaire Hoofdinspectie op 2 juli 1990 de Codecommissie Diagnostisch Onderzoek in.

Deze commissie kreeg de opdracht een zogenoemde "Code of practice" op te stellen voor het herkennen of opsporen van ziekten met behulp van proefdieren.

Onder een "Code of practice" wordt verstaan een gedragslijn opgesteld naar de stand van de wetenschap, welke aan de betrokken onderzoekers aanwijzingen geeft hoe ten aanzien van bepaalde proeven te handelen.

In overleg met de besturen van de Nederlandse Vereniging voor Microbiologie en de Nederlandse Vereniging voor Infectieziekten werd de Codecommissie als volgt samengesteld:

- drs. A.E.J.M. van den Bogaard, dierenarts-microbioloog en proefdierdeskundige bij de Rijksuniversiteit Limburg te Maastricht
- dr. C.F.M. Hendriksen, proefdierdeskundige bij het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne (RIVM) te Bilthoven
- dr. P.L. van Putten, arts-microbioloog in het Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid bij het St. Elisabeth Ziekenhuis te Tilburg
- drs. J.M.J. Sturm, toegevoegd veterinaire inspecteur bij de Veterinaire Inspectie te 's-Hertogenbosch, secretaris.

Dit rapport beperkt zich tot het gebruik van proefdieren voor de diagnostiek van tuberculose, toxoplasmose, rabiës en botulisme. Het gebruik van proefdieren voor levering van bloed of organen ten behoeve van de diagnostiek van infectieziekten wordt buiten beschouwing gelaten.

OMVANG VAN HET PROEFDIERGEBRUIK

Voor het herkennen of opsporen van ziekten worden dieren gebruikt in laboratoria, ziekenhuizen, academische ziekenhuizen en andere (wetenschappelijke) instellingen.

De Codecommissie Diagnostisch Onderzoek heeft zich een oordeel gevormd over het gebruik van proefdieren voor de routinematige diagnostiek bij de volgende ziekten:

- . tuberculose
- . toxoplasmose
- . rabiës
- . botulisme en andere ziekten als gevolg van Clostridium-toxinen.

De keuze voor deze genoemde ziekten werd bepaald doordat nog uitsluitend voor deze ziekten in Nederland regelmatig dierproeven worden verricht ten behoeve van de diagnostiek.

Uit de registratiegegevens dierproeven en proefdieren blijkt dat er voor wat betreft het gebruik van proefdieren grote verschillen bestaan tussen de instellingen. Deze zijn veelal terug te voeren op verschillen in inzicht en beleid.

Met betrekking tot het ongerief voor proefdieren wordt er op gewezen dat het onderzoek naar het voorkomen van het rabiësvirus en de botulinum-toxinen gepaard gaat met ernstig ongerief voor de proefdieren.

HET LABORATORIUMONDERZOEK VAN INFECTIEZIEKTEN

In het algemeen berust de klassieke microbiologische laboratoriumdiagnostiek op het aantonen van het oorzakelijke agens of op het herkennen van een specifieke gastheer-respons na infectie (sero-diagnostiek).

De afgelopen jaren is veel aandacht besteed aan de ontwikkeling van de in vitro technieken, welke zijn gebaseerd op het herkennen van het infecterende organisme. Te noemen zijn in dit verband antigeendetectie door immunoassays, snelculturen, het aantonen van bacteriële metabolieten of specifieke bacteriële bouwstoffen en het gebruik van nucleïnezuurprobes met of zonder aanvulling van de polymerase chain reaction (PCR).

Ondanks de hoge verwachtingen zijn op dit moment veel van de nieuwe testen nog niet gevoelig en specifiek genoeg, waardoor de praktische toepassing beperkt blijft.

TUBERCULOSE

De diagnostiek van tuberculose vindt in de regel plaats door het rechtstreeks aantonen van zuurvaste staafjes in een uitstrijkje en door isolatie van mycobacteriën uit patiëntenmateriaal. In een aantal gevallen worden cavia's gebruikt voor isolatie en soms voor determinatie van de diverse mycobacterium-soorten. Voor de isolatie van Mycobacterium tuberculosis, M. africanum en M. bovis was de cavia traditioneel een veel gebruikt proefdier. Het gebruik van cavia's voor de diagnostiek is de laatste decennia enorm afgenomen.

Gezien de ontwikkelingen op het terrein van de diagnostische detectiemethoden kan binnen enkele jaren het gebruik van cavia's ten behoeve van de diagnostiek van tuberculose aanzienlijk verder afnemen.

Voor de determinatie van Mycobacterium spp. is op termijn het gebruik van de cavia naar verwachting niet meer noodzakelijk. Het RIVM heeft voor typering de RFLP² test ontwikkeld welke nu wordt gevalideerd.

De Codecommissie is van mening, dat het gebruik van cavia's in de volgende situaties is geïndiceerd:

- wanneer het onderzoeksmateriaal betreft dat moeilijk voor een tweede maal kan worden verkregen;
- bij een klinisch duidelijke indicatie voor tuberculose terwijl bij herhaald onderzoek het Ziehl-Neelsen preparaat en de in vitro kweek negatief zijn.

In een dergelijke situatie wordt de cavia gebruikt om Mycobacterium spp. op te hopen of om in zeer verdachte gevallen een infectie met deze bacterie te kunnen uitsluiten.

² Restriction Fragment Length Polymorphism

Het onderzoeksplan voor het gebruik van cavia's ten behoeve van de tuberculose diagnostiek dient er als volgt uit te zien:

- registreren van de indicatie voor het gebruik van een cavia;
- inspuiten van slechts één cavia per monster;
- subcutaan injecteren van 1 ml materiaal (evt. na suspenderen in fysiologische zoutoplossing) in linker achterpoot of linkerlies;
- na het injecteren van verdacht materiaal de cavia individueel huisvesten om ieder risico van verwisseling, likken en/of bijten te voorkomen en voorts om risico's van kruisbesmetting met mogelijk andere pathogene kiemen uit het uitgangsmateriaal uit te sluiten;
- controleren van de injectieplaats op zwelling minstens twee maal per week;
- doden van de cavia bij zwelling, ziekte of anders binnen 6 à 8 weken na het injecteren van het verdachte materiaal, en daarna de cavia seceren;
- registreren van het resultaat per cavia gecombineerd met resultaten van de in vitro kweek en van eventueel andere toegepaste diagnostische methoden.

TOXOPLASMOSE

Voor de routinediagnostiek van toxoplasmose zijn twee in vitro methoden beschikbaar: de ELISA³ test en de IFT.

Commerciële toxoplasma-kits (ELISA) maken het gebruik van muizen voor de diagnostiek steeds minder noodzakelijk. Tussen de kits bestaan echter nog verschillen in gevoeligheid en specificiteit.

De Codecommissie is van mening dat het gebruik van muizen is geïndiceerd in de situaties waarin het aantonen van afweerstoffen onvoldoende of niet correspondeert met het voorkomen van toxoplasma:

- diagnostisch onderzoek naar congenitale toxoplasmose waarbij direct na de geboorte placentamateriaal wordt onderzocht;
- onderzoek op toxoplasmose bij patiënten met een ernstig verminderd afweermecanisme.

RABIËS

Voor de routinediagnostiek van rabiës is IFT de aanbevolen test; de betrouwbaarheid van de IFT-test is aanzienlijk groter dan die van de muizentest.

Wanneer sprake is van bijten of van direct contact tussen mens (of dier) met een verdacht dier dient de diagnose te worden gesteld met zo maximaal mogelijk betrouwbaarheid.

Gelet op de betrouwbaarheid van de IFT test is de Codecommissie van mening dat het gebruik van pasgeboren muizen voor de routinediagnostiek van rabiës dient te worden beperkt tot uitsluitend die gevallen waarbij sprake is van direct contact van de mens met een van rabiës verdacht dier en waarbij de IFT-test negatief is.

BOTULISME (CLOSTRIDIUM BOTULINUM - TOXINEN)

De diverse Clostridium botulinum-stammen of -typen produceren verschillende specifieke

³ Enzyme - Linked - Immunosorbent Assay

ke toxinen, waarvan de meeste toxinen zelfs in zeer lage concentraties zeer toxisch zijn voor mens en/of dier.

Voor zover bekend zijn de botulinum-toxinen de meest potente toxinen.

Voor alle botulinum-toxinen bestaan ELISA testen. De gevoeligheid van deze testen laat echter te wensen over, zodat vooralsnog de muizentest noodzakelijk blijft. Het in vivo onderzoek naar botulinum-toxinen vindt plaats in muizen door het aantonen van het betreffende toxine zodanig na concentratie van filtratietechnieken. Bij muizen worden de ademhalingszenuwen verlamd hetgeen leidt tot de zogenoemde wespetaille. Na een positief verlopen test vindt vervolgens in muizen een toxine-neutralisatietest plaats voor het typeren van het toxine.

In Nederland waar vergiftigingen met toxinen van Clostridium spp. regelmatig voorkomen, vindt routinediagnostiek plaats naar botulinum-toxine bij watervogels en landbouwhuisdieren en incidenteel bij de mens.

Daarnaast vindt botulinum toxine onderzoek plaats ten behoeve van de levensmiddelenindustrie en bij voeders voor nertsen.

Naast toxine onderzoek vindt ook onderzoek plaats door middel van in vitro kweekmethoden van Clostridium spp. Voor de verdere determinatie van de verschillende stammen of typen van Clostridium botulinum dient het toxine te worden getypeerd met behulp van muizen.

Het Centraal Diergeneeskundig Instituut (CDI) te Lelystad en het RIVM werken samen aan de ontwikkeling van probes om via een PCR techniek de specifieke toxinevormende Cl. botulinum-stammen aan te tonen. Het is niet bekend of er alternatieven voor de toxinetest in ontwikkeling zijn.

De Codecommissie is van mening dat het diagnostisch botulinum-toxine onderzoek steeds kritisch dient te worden beoordeeld op de indicaties en de consequenties van een positieve bevinding.

Daar voor het zeer belastende botulinum-toxine onderzoek geen alternatieve methode beschikbaar is, is de Codecommissie van mening, dat veel aandacht dient te worden geschonken aan het ontwikkelen van alternatieven voor de diagnostiek van botulinum-toxinen. Het botulinum-toxine onderzoek vindt niet alleen plaats ten behoeve van de diagnostiek maar ook ter voorkoming van botulinum-toxine in levensmiddelen en voeders en bij potentiële testen bij de vaccincontrole.

SAMENVATTING

- Het gebruik van proefdieren voor de routinediagnostiek van ziekten betrof in 1989 ongeveer vijftigduizend dieren. Hierbij zijn niet betrokken de proefdieren, die voor de levering van bloed of organen ten behoeve van diagnostisch onderzoek worden gebruikt.
- De determinatie van Mycobacterium sp. kan te zijner tijd zonder gebruik van cavia's plaatsvinden. Het RIVM heeft de RFLP typeringsmethodiek beschikbaar, doch deze is nog niet gevalideerd.
- De Codecommissies wil wijzen op het relatief grote aantal vergunninghouders dat slechts geringe aantallen proefdieren gebruikt. De voorkeur gaat uit naar een

verdergaande concentratie van de dierproefonderzoeken op enkele gespecialiseerde locaties in Nederland om daardoor enerzijds te komen tot een concentratie van kennis en ervaring en anderzijds tot een optimaal benutten van de noodzakelijk aanwezige proefdieren.

Dit laatste zal zeker ook leiden tot minder overtollige dieren.

CONCLUSIES

- Voor de isolatie van mycobacterium spp. is op beperkte schaal het gebruik van cavia's nog geïndiceerd.
Er zijn goede in vitro kweekmethoden beschikbaar, die bijna altijd voldoen. Naar het zich laat aanzien zal op termijn de PCR tot een aanzienlijk verdere reductie van het gebruik van cavia's kunnen leiden.
- Voor het toxoplasma-onderzoek zijn er nog een tweetal indicatiegebieden die het gebruik van proefdieren rechtvaardigen.
- Met betrekking tot het gebruik van muizen voor het routinematig diagnostisch rabiësonderzoek is de Codecommissie van mening dat dit dient te worden beperkt tot uitsluitend die gevallen waarbij sprake is van direct menselijk contact met een van rabiës verdacht dier en waarbij de IFT negatief is.
- De Codecommissie is van mening, dat veel aandacht dient te worden geschonken aan het ontwikkelen van alternatieven voor de diagnostiek van botulinum-toxinen. Het botulinum-toxine onderzoek vindt niet alleen plaats ten behoeve van de diagnostiek maar ook ter preventie van botulisme en bij potentietesten voor vaccincontrole.



STAATSTOEZICHT OP DE VOLKSGEZONDHEID

VETERINAIRE HOOFDINSPECTIE

Secretaris NVP
Mw. drs. M. Ritskes-Hoitinga
Unilever
Postbus 114
3130 AC VLAARDINGEN

Postbus 5406
2280 HK Rijswijk
Telefoon 070-340 7031
Telex 31680 WVC RW NL
Telefax 070-3407080

Bezoekadres:
Sir Winston Churchilllaan 362
gebouw Hoogvoorde
8^e etage
Rijswijk

Uw brief :
Uw kenmerk :
Ons kenmerk: VHI/u-638551
Onderwerp :
Bijl. : 1

RIJSWIJK, 22 november 1991

*als mededeling
met mailing mee in feb. '92.*

Geacht Bestuur,

Hierbij verzoek ik uw aandacht voor het volgende.

Voor de routinediagnostiek ten behoeve van het herkennen of opsporen van ziekten werden in Nederland in 1989 ongeveer vijfentwintigduizend proefdieren gebruikt. Het aantal gebruikte proefdieren is in de afgelopen jaren sterk verminderd door verbetering van de laboratorium-diagnostiek.

Door de Veterinaire Hoofdinspectie is een Codecommissie Diagnostisch Onderzoek ingesteld met als opdracht:

- een evaluatie uit te voeren naar de waarde van de bestaande diertesten en in vitro methoden in het diagnostisch onderzoek;
- inzicht te verkrijgen in de mogelijkheid van een verdere beperking van het proefdiergebruik;
- regels op te stellen die een verdere beperking van het proefdiergebruik zullen bewerkstelligen.

In het uitgebrachte rapport worden voor de diagnostiek van tuberculose, toxoplasmose en rabiës de indicatiegebieden aangegeven, waarvoor naar de huidige inzichten nog dierproeven noodzakelijk (kunnen) zijn.

De aanbevelingen zijn vervat in een zogenoemde Code of practice voor het herkennen en opsporen van ziekten met behulp van proefdieren.

Voor de diagnostiek van botulinum-toxinen wordt aangegeven dat veel aandacht dient te worden geschonken aan het ontwikkelen van alternatieve testen.

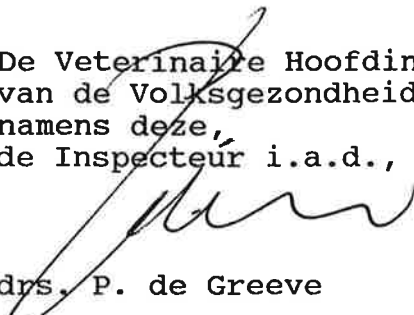
VHI
bellen { Bijgaand ontvangt u een exemplaar van het rapport.

Ik verzoek u de leden van uw vereniging te informeren over het rapport en in het bijzonder over de voorgestelde Code of practice.

Gaarne ben ik bereid u nadere informatie te verstrekken.

U bij voorbaat dankend voor uw medewerking,
tekent met hoogachting,

De Veterinaire Hoofdinspecteur
van de Volksgezondheid,
namens deze,
de Inspecteur i.a.d.,


drs. P. de Greeve

→ alleen hierover informeren dat het bij de VHI
op te vragen is