

Informatiedag seniordierenartsen op 24 april 2012 te Utrecht

Na de ontvangst met koffie, waarbij gelegenheid was om oud-collega's en vrienden te begroeten, werden we in de grote zaal welkom geheten door de dagvoorzitter Jan Peelen. Vervolgens gaf Hylke Jorritsma, voorzitter van de Commissie Senioren van de KNMvD, een overzicht van de activiteiten voor het komend jaar in verband met het 150-jarig jubileum van de KNMvD. Hij vroeg speciale aandacht voor de promotiefilm van het diergeneeskundig beroep waarin de duurzaamheid en het dierenwelzijn een belangrijke plaats innemen. Tevens vroeg hij aandacht voor de introductie van het nieuwe logo van de KNMvD. Gezien de reactie van de zaal was men hiervan niet bepaald onder de indruk.

Als onderdeel van het wetenschappelijke programma werd de eerste lezing met als titel '**Emerging en parasitaire zoönosen: van signalering naar bestrijding**' gehouden door dr. Joke van der Giessen. Als wetenschappelijk medewerker werkzaam op RIVM te Bilthoven en CVI te Lelystad heeft mevrouw van der Giessen nationaal en internationaal haar sporen verdiend op dit vakgebied. Zij gaf een zeer interessante inleiding over welke zoönosen voor Nederland nu van belang zijn.

Binnen het Emzoo onderzoeksprogramma (consortium van RIVM, CVI, FD en GD) is een inventarisatie en prioritering van emerging zoönosen gemaakt, waar onder andere ook de parasitaire zoönosen zijn geprioriteerd. Prioritering is nodig om te weten waar we in Nederland een vinger aan de pols moeten houden en voor welke zoönosen bijvoorbeeld early warning systemen ontwikkeld moeten worden. De prioritering is uitgevoerd door middel van het kwantitatief analyseren van zowel de wetenschappelijke kennis als de weging van deze criteria voor een geselecteerde lijst van 86 zoönosen, die als mogelijk relevant voor Nederland werden bevonden door het EmZoo consortium.

De criteria die gebruikt zijn voor de prioritering zijn 1. kans op introductie, 2. transmissie tussen dieren, 3. transmissie tussen dier en mens, 4. transmissie tussen mensen, 5. morbiditeit en 6. mortaliteit en economische schade bij dieren. Door o.a. ons reis- en consumptiegedrag en de mondiale mobiliteit van voedsel en mensen is de kans dat nu pathogenen Nederland bereiken veel groter dan in het verleden.

Deze geprioriteerde lijst geeft aan welke zoönosen we het belangrijkste vinden voor Nederland. De lijst wordt nu gebruikt om te bepalen voor welke zoönosen nog bijvoorbeeld aanvullende monitoringsystemen ontwikkeld moeten worden. Vervolgens behandelde mevrouw van der Giessen de drie belangrijkste parasitaire zoönosen te weten:

Toxoplasmose, Echinococcosis en Trichinellose.

Toxoplasmose

De eindgastheer van *Toxoplasma gondii* is de kat. We onderscheiden congenitale en verworven toxoplasmose. De verschijnselen van congenitale toxoplasmose zijn: oogaandoeningen, chorioretinitis, mentale retardatie en subklinische verschijnselen, die later in het leven zich kunnen manifesteren als bv. oculaire toxoplasmose.

Verworven toxoplasmose verloopt vaak asymptomatisch, hoewel ook acute verschijnselen met koorts en lymfeklierzwellingen kunnen voorkomen en het blijkt dat een *Toxoplasma* infectie na de geboorte later ook kan leiden tot oogafwijkingen.

De seroprevalentie van *Toxoplasma* infecties bij de Nederlandse bevolking neemt af. In 1996 was deze 40,5% en in 2006 26,5%. Er wordt wel een toename gezien in de leeftijdscategorie waarin vrouwen zwanger worden. Uit een pilot onderzoek van hielprikbloedjes van

pasgeboren baby's is gebleken dat van de 1000 kinderen die in 2006 waren geboren er 2 antilichamen hadden, die wijzen op een congenitale besmetting. Dit is veel meer dan we eerst dachten, dit betreft dan circa 388 kinderen per jaar. Hierdoor is de ziektelast van toxoplasmose één van de hoogste van alle enterale parasitaire pathogenen.

Risico's vormen de consumptie van rauw en onvoldoende verhit vlees van besmette consumptiedieren zoals rund, schaap en varken en grond contact. Uit een epidemiologische studie in Europa (niet in Nederland) blijkt dat de infectie voor 70% afkomstig is van vlees en voor 30% afkomstig van het milieu (oöcysten opname vanuit het milieu bv. via grond contact).

Recent promotieonderzoek van Marieke Opsteegh (2011) heeft het mogelijk gemaakt om 1 weefselcyste per 100 gram vlees aan te tonen en hierdoor is met een kwantitatief risicomodel de blootstellingsroute via vlees bepaald. De bijdragen van rund, varken en schaap aan de humane infecties zijn met dit QMRA model berekend op resp. 67, 11 en 14%. Hoewel de prevalentie bij runderen slechts 2% is, wordt er veel onverhit of rauw rundvlees geconsumeerd en is het risico dus groot.

Voorstellen voor toekomstige aanpak zijn: voorlichting aan zwangere vrouwen, het invriezen van rauw te consumeren vlees en de vaccinatie van katten.

Echinococcose

De voor de mens van belang zijnde *Echinococcus* soorten zijn: *Echinococcus granulosus* (3-11 mm) en *Echinococcus multilocularis* (1,5 - 4,5 mm). De eieren lijken op de gewone lintworm eieren, die afkomstig zijn van *Taenia* lintwormen.

Voor *E. granulosus* is de hond de eindgastheer en mensen infecteren zich door orale opname van eieren, die van besmette honden afkomstig zijn. Er ontwikkelt zich dan net als bij andere tussengastheren (schaap, rund, varken, etc.) een blaaswormstadium met name in de lever of longen.

Er zijn verschillende stammen van *E. granulosus* waarvan de schapenstam het meest infectieus is voor de mens. Indien bij de mens een enkele blaasworm (hydatide cyste) voorkomt in de lever, kan deze behandeld worden door het aanprikken van de blaas en de blaas te punteren en daarna vol te spuiten met fysiologisch zout of alcohol, zodat de parasiet wordt geïnactiveerd.

Jaarlijks worden 30 à 40 patiënten met *E. granulosus* gediagnosticeerd. Meestal zijn deze patiënten afkomstig van endemische landen rond de Middellandse zee zoals Marokko en Turkije. Het RIVM zal altijd proberen om de bron van echinococcose patiënten te onderzoeken, omdat een endemische echinococcose cyclus zo vroeg mogelijk moet worden opgespoord.

In 2004 is bij een vrouw een infectie met een runderstam vastgesteld; diezelfde stam is ook eerder bij een jonge patiënt gevonden. In 2007 werd in het slachthuis plotseling een groot aantal levers van koeien aangetroffen met blaaswormen. Dit bleek de schapenstam te zijn, van koeien die uit Roemenië werden geïmporteerd.

Uit de risicoanalyse bleek dat sinds 2007 een groot aantal koeien uit Roemenië werd geïmporteerd, die hier werden afgemest en geslacht. De prevalentie bij deze Roemeense import runderen is heel hoog, in sommige delen van Roemenië zelfs 100%.

Slachthuiscontrole dient dus voor deze categorie geïntensiveerd te worden.

Bij *E. multilocularis* is de vos eindgastheer. Alveolaire echinococcose wordt veroorzaakt door *E. multilocularis*. Deze parasiet komt endemisch voor in centraal en Oost-Europa. Het is een

aangifteplichtige ziekte. De orale rabiësvaccinatie bij vossen heeft mogelijk bijgedragen aan de verdere verspreiding van deze parasiet in Europa.

Alveolaire echinococcose is een veel ernstigere ziekte waarbij de blaaswormen zich als een maligne tumor gedragen en door bloedvaten en weefsel heen groeien. Dit is ook veel moeilijker te behandelen dan de ziekte veroorzaakt door *E. granulosus*. In Europa komen circa 600 à 700 patiënten voor met alveolaire echinococcose.

In Nederland doet het RIVM onderzoek naar het voorkomen van *E. multilocularis* bij vossen en het blijkt dat besmette vossen voorkomen in Oost-Groningen en Zuid-Limburg. In Zuid-Limburg en Groningen is modelmatig berekend dat de parasiet zich verder verspreidt in vossen en in 2008 is de eerste patiënt gediagnosticeerd, die de infectie mogelijk in Nederland heeft opgelopen; nadien zijn nog twee patiënten gediagnosticeerd.

Bestrijding van *E. multilocularis* bij vossen is heel lastig. Er is geen vaccin zoals bij rabiës. Pilot onderzoek heeft aangetoond dat door het uitgooien van baits met anthelmintica vanuit een vliegtuig het mogelijk is de prevalentie bij vossen te verlagen. Dit zou echter om de 6 à 8 weken herhaald moeten omdat herinfectie al snel na behandeling kan plaatsvinden, waardoor een duurzame bestrijding praktisch onhaalbaar lijkt. In de buurt van steden waar besmette vossen rondlopen zou men kunnen overwegen om de vossen te behandelen. Handen wassen na bos bezoek en geen ongewassen bosvruchten eten, waarop eieren kunnen voorkomen zijn belangrijke maatregelen om infecties te voorkomen.

Trichinellose

Trichinella spiralis infecties kunnen verkregen worden door de consumptie van rauw vlees van besmette varkens, wilde zwijnen en paarden. In Italië en Frankrijk kwamen circa 20 jaar geleden veel infecties bij mensen voor veroorzaakt door het eten van besmet paardenvlees. Ook meer exotische dieren zoals krokodillen kunnen geïnfecteerd zijn.

Men kan de *Trichinella* species onderscheiden in varianten die ingekapselde larven en niet ingekapselde larven hebben. In het Poolgebied komt een *Trichinella* soort voor (*T. nativa*) met ingekapselde larven, die ongevoelig is voor invriezen.

De klassieke methode voor het aantonen van de spierlarven bestond uit de zogenaamde digestiemethode waarbij een bepaalde hoeveelheid vlees van het diafragma werd gedigereerd. Tegenwoordig worden moderne moleculaire technieken toegepast om *Trichinella* larven te identificeren.

In Nederland komt trichinellose sporadisch tot niet meer voor bij varkens. Trichinellose is endemisch in onder andere Polen, Finland, Spanje en Roemenië. Er zijn epidemiologisch grote verschillen in Europa, hoewel de controle overal hetzelfde is: individuele karkascontrole van gevoelige consumptiedieren.

In de EU bestaat sinds 2006 nieuwe wetgeving, die een op risico gebaseerde controle mogelijk maakt. In 2008 werd in Nederland bij een humane patiënt trichinellose vastgesteld, waarbij de bron niet kon worden opgespoord.

Uit recent onderzoek blijkt dat mensen heel gevoelig zijn voor *Trichinella* larven en dat slechts twee larven al trichinellose kunnen veroorzaken. In Nederland wordt monitoring gedaan bij vossen en wilde zwijnen.

In de jaren negentig van de vorige eeuw zag men een toename van de *Trichinella* infecties bij wilde zwijnen en vossen, maar nu lijkt er weer een afname in de wildcyclus te zijn.

In de discussie kwam naar voren dat ten aanzien van toxoplasmose de kat op jonge leeftijd slechts gedurende drie weken oöcysten uitscheidt.

Maandelijks is er een signaleringsoverleg voor zoönosen, waarbij experts van RIVM, GD, CVI en FD nieuwe signalen op het gebied van zoönosen doorspreken en een risico inschatting maken voor de volksgezondheid. De ervaring met de aanpak van de Q-koorts heeft kennelijk veel leermomenten opgeleverd.

De middaglezing werd verzorgd door prof. dr. Coenraad F.M. Hendriksen met als titel: **Biomedisch onderzoek in de 21^e eeuw: van laboratoriumrat naar computermuis'**. Prof. Hendriksen is werkzaam bij het Nederlands Vaccin Instituut (Bilthoven) en is hoogleraar aan de UU, Faculteit Diergeneeskunde. Hij geniet nationale en internationale bekendheid op het gebied van alternatieve dierproeven en heeft hiervoor diverse onderscheidingen ontvangen.

Het gebruik van proefdieren heeft een ingrijpende ontwikkeling doorgemaakt. Reinier de Graaf voerde in de zeventiende eeuw zijn dierproeven nog uit op niet verdoofde honden. Om geluidsoverlast te voorkomen, ondergingen de dieren een tracheotomie!

In 1977 werd de Wet op de dierproeven van kracht. Onder de wet vallen de gewervelde dieren. Per 1-1-13 vallen ook de ongewervelde dieren zoals de inktvis onder deze wet. Proefdieren worden gebruikt voor toxicologisch-diagnostisch onderzoek en om antwoord te geven op wetenschappelijke vragen. Het merendeel van de dierproeven wordt verricht in het kader van fundamenteel onderzoek: 55,3%; voor geneesmiddelen onderzoek 17%; voor vaccinontwikkeling 17%; voor toxicologisch onderzoek 6%; voor diagnostische doeleinden 1,5% en voor diversen 3,4%.

Van alle bestaande mens-dier relaties is het gebruik van proefdieren voor biomedisch onderzoek één van de meest controversiële. Aan gezondheid en veiligheid wordt in onze maatschappij hoge prioriteit toegekend. Dat vraagt om biomedisch onderzoek waarvoor het proefdier onmisbaar is. Aan de andere kant echter bestaat er ook een breed gedragen weerstand tegen het gebruik van proefdieren voor dat onderzoek.

Die maatschappelijke weerstand heeft zich vertaald in specifieke wetgeving waarbij onze Wet op de dierproeven onderliggend is aan de Europese Richtlijn 2010/63/EU. De bestaande wetgeving bepaalt onder andere dat proefdieren moeten worden verzorgd en behandeld door mensen die daarvoor speciaal zijn opgeleid; dat instellingen die dierproeven uitvoeren iemand in dienst moeten hebben die toezicht houdt op het welzijn van de dieren en dat experimenten op dieren vooraf worden getoetst door een dierexperimentencommissie. In het biomedisch onderzoek is in het verleden veel vooruitgang geboekt met behulp van dierproeven (ontwikkeling van tetanus antisera en difterie vaccins, gedragsstudies (Pavlov), de ontdekking van insuline, monoclonale antilichamen en transgene dieren). De voor de Nobelprijs ontwikkelde kennis was in 68 gevallen gebaseerd op gegevens uit dierexperimenten.

In 2010 werden in Nederland 563.789 dieren voor onderzoeksdoeleinden gebruikt, voornamelijk muizen en ratten (70%), vogels (17%) en vissen (5%), maar daarnaast ook landbouwhuisdieren (3,7%), honden (0,3%), primaten (0,1%) en andere gewervelde diersoorten (3,9%).

Een belangrijk aspect in het overheidsbeleid ten aanzien van dierexperimenteel onderzoek is de ontwikkeling en toepassing van alternatieven voor dierproeven. Onder alternatieven wordt het streven verstaan om het proefdiergebruik in het onderzoek te **Vervangen** door ongewervelde organismen of niet biologisch materiaal en als dit niet mogelijk is het gebruik van dieren in een experiment daar waar mogelijk te **Verminderen** en/of te **Verfijnen**. In het

recente verleden waren het vooral morele overwegingen om aan deze 3V methoden te werken. Maar in toenemende mate wordt ook gerefereerd aan andere nadelen van dierproeven.

Dierexperimenteel onderzoek is duur, vaak tijdrovend en heeft bovenal veel wetenschappelijke beperkingen, zoals de problemen rondom standaardisatie en de twijfels bij extrapolatie van onderzoeksresultaten naar de mens. Niet dat met de huidige alternatieve methoden deze problemen kunnen worden opgelost. Ze hebben wel de potentie om dat op termijn te doen.

Belangrijke categorieën vervangingsalternatieven zijn *in vitro* weefselkweek methoden, computermodellen (zoals simulatie modellen, slimme datasystemen, interactieve onderwijs programma's), moleculairbiologische technieken als bio-informatica, ongewervelde organismen en fysisch/immuno-chemische technieken. Deze methoden en technieken zijn nu nog relatief simpel en zijn vaak niet in staat de diertest volledig te vervangen, maar de ontwikkelingen gaan snel.

Zo staat het gebruik van pluripotente menselijke stamcellen die gedifferentieerd kunnen worden naar specifieke cellen als hartspiercellen in het centrum van de belangstelling. Ook worden op het gebied van weefselkweekmethoden vorderingen geboekt in het omvormen van monoculturen in complexe culturen van meerdere celtypen die in een organische structuur gekweekt worden (tissue engineering). Vervangingsalternatieven zijn daarmee alleen al uit innovatief oogpunt interessant. Ze bieden inzicht in mechanismen achter ziekteprocessen waar het dierexperimentele resultaat vaak beperkt blijft tot fenomenologische kennis.

Mocht er geen vervangingsalternatief beschikbaar zijn dan is het gebruik van proefdieren voor specifieke onderzoeksvragen gelegitimeerd, echter op voorwaarde dat het aantal dieren tot een noodzakelijk minimum wordt beperkt en het ongerief binnen het experiment wordt gereduceerd. Bij vermindering kan worden gedacht aan hergebruik van dieren, aan een goede experimentele opzet en relevante statistische bewerking of aan een standaardisatie van de proef waardoor de spreiding in onderzoeksresultaten beperkt wordt. Mogelijkheden tot verfijning liggen op het vlak van goede anesthesie en pijnbestrijding, op kennis en kunde van het personeel, op een wijze van huisvesting waarbij dieren aspecten van soortspecifiek gedrag kunnen vertonen, etc. In de praktijk komt het er vaak op neer dat ontwikkelingen op het terrein van de alternatieven een verandering van onderzoeksstrategie betreffen: beginnen met *in vitro* methoden en op basis van de resultaten gericht dierexperimenteel onderzoek opzetten met een nadruk op de **V's** van vermindering en verfijning.

Proefdieren gebruiken we al eeuwen voor het biomedisch onderzoek; alternatieve methoden zijn we pas de laatste decennia gaan gebruiken. Dat maakt dat veel alternatieven nog de last van de traditie in het biomedisch onderzoek meedragen: het diermodel als gouden standaard waar elke nieuwe methode tegen moet worden afgezet, hoe goed of slecht het diermodel ook is. Verandering vereist een 'mind-shift', waarbij het idee van *in vivo veritas* moet worden losgelaten. Dat is precies de fase waarin we momenteel zitten. Het proefdiergebruik in Nederland, dat in 1978 circa 1,7 miljoen dieren betrof, is tot medio jaren 90 van de vorige eeuw tot de helft gereduceerd. Vanaf 1995 is het proefdiergebruik nog maar beperkt afgenomen. De makkelijke successen op het gebied van de 3 V's waren gerealiseerd, de moleculaire biologie zorgde voor de komst van genetisch gemodificeerde dieren, die veel dierexperimenteel onderzoek genereerde. Het vervangen van proefdieren bleek, vanuit het *in vivo veritas* adagium, ingewikkelder dan verwacht. Maar de behoefte van

de wetenschap aan relevante en innovatieve proefdier vrije methoden zal de balans naar het alternatieve laten doorslaan. Of uiteindelijk *in vivo veritas* ingeruild zal worden voor *in vitro veritas* is niet zozeer de vraag, wel de termijn waarop.

Discussie

Op een suggestie om bv. in ziekenhuizen de patiënten te confronteren met de feiten dat voor de ontwikkeling van de behandeling of de voorgeschreven medicijnen proefdieronderzoek noodzakelijk was, werd naar voren gebracht dat ziekenhuizen niet van dergelijke voorlichting gecharmeerd zijn.

Op de vraag of het wetenschappelijk onderzoek belemmerd wordt of zelfs verplaatst wordt naar het buitenland antwoordde prof. Hendriksen, dat het restrictieve beleid vaak leidt tot een betere kwaliteit van het onderzoek. Het gebruik van primaten gaat in het buitenland wellicht gemakkelijker.

Waarom nemen wetenschappers niet meer openlijk afstand van de publieke opinie?

Wetenschappers zijn niet bij uitstek mensen die zich op de voorgrond dringen.

Tot slot werd opgemerkt dat er in de samenleving een tendens te bespeuren valt, waarbij de mens steeds meer met het dier vergeleken wordt. Het bevorderen van gelijke rechten lijkt dan een logisch gevolg.

De gezellige maar bovenal interessante en informatieve dag werd afgesloten met een geanimeerd samenzijn.

Joop den Hartog