1 Algemene gegevens

1.1	Titel van het project	Botulisme diagnostiek door middel van botulinum toxine testen en toxine neutralisatie testen
1.2	Looptijd van het project	1-1-2018 - 31-12-2023
1.3	Trefwoorden (maximaal 5)	Botulisme, Clostridium botulinum, toxine, diagnostiek

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

[] Fundamenteel onderzoek
[X] Translationeel of toegepast onderzoek
[] Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
[] Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
[] Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
[] Hoger onderwijs of opleiding
[] Forensisch onderzoek
[] Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

3 Projectbeschrijving

3.1	Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Botulisme is een vergiftiging bij mensen en dieren die veroorzaakt wordt door het botulinumtoxine. Dit is een gifstof geproduceerd door de bacterie *Clostridium botulinum*. Botulinumtoxine, een van de meest giftige stoffen die er bekend is, veroorzaakt verlamming van spieren met potentieel dodelijke afloop. Voor uitvoering van de diagnostiek, het aantonen en typeren van het botulinumtoxine, worden muizen blootgesteld aan materiaal van mensen en dieren die verdacht worden van het hebben van botulisme of blootgesteld aan voer en voedingsmiddelen waar mogelijk botulinetoxine in kan zitten.
3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	De diagnostiek wordt uitgevoerd bij acute verdenkingen op botulisme bij mensen en dieren. Na aantonen van het toxine en toediening van het juiste antitoxine kunnen levens van mensen en dieren gered worden. Daarnaast wordt de diagnostiek uitgevoerd voor opsporing van de bron van botulisme en preventief door uitsluiting van aanwezigheid van botulinumtoxine in voer- of voedingsmiddelen.

3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Voor zowel de botulinumtoxinetest als de toxineneutralisatietest worden muizen gebruikt. Het totaal aantal gebruikte muizen per jaar, afhankelijk van het aantal uitbraken en onderzochte voedingsmiddelen, bedraagt maximaal 600 voor de botulinumtoxinetest en maximaal 500 voor de toxineneutralisatietest. Over de gehele vergunningsperiode bedraagt het maximale aantal muizen 3000 en 2500 voor respectievelijk de botulinumtoxinetest en de toxineneutralisatietest.
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De negatieve gevolgen voor het welzijn van de muizen zijn afhankelijk van de aard van het monstermateriaal. Als botulinumtoxine aanwezig is zullen er algehele verlammingsverschijnselen optreden (en daardoor benauwdheid). De dieren worden geëuthanaseerd zodra zij de typische symptomen van botulisme vertonen. Als gevolg van de aard van het in te spuiten materiaal kunnen er soms ook aspecifieke verschijnselen optreden (bijvoorbeeld ooguitvloeiing, recht opstaande haren, diarree of algehele malaise). Dit wordt zoveel mogelijk voorkomen door een toevoeging van antibiotica aan het in te spuiten testmateriaal. Bij matige tot ernstige aspecifieke reacties worden de dieren geëuthanaseerd. De kans op aanwezigheid van toxines in voer en levensmiddelen is klein (<5%). Bij de klinische monsters van dieren of mensen varieert de kans op aanwezigheid van toxines van ongeveer 10% (humane monsters) tot 50% (watervogels). Het percentage muizen met aspecifieke verschijnselen is 10-15%.

3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	Afhankelijk van de achtergrond van de te testen stof is het ongerief voor de muizen licht, matig of ernstig. LICHT: voor muizen waarbij de te testen stof geen aspecifieke reacties optreden, geen botuline toxine in het monster aanwezig is of tegelijk een antitoxine (neutralisatietest) wordt toegediend (gemiddeld genomen 70% van de muizen). MATIG: voor muizen waarbij na toediening van de te testen stof lichte aspecifieke verschijnselen worden waargenomen, en waarbij geen botuline toxine in het monstermateriaal aanwezig is (gemiddeld genomen 7% van de muizen). ERNSTIG: voor muizen waarbij na toediening van de te testen stof botulinumtoxine aanwezig blijkt te zijn in het monstermateriaal en waarbij geen antitoxine is toegediend of muizen met aspecifieke verschijnselen (gemiddeld genomen 23% van de muizen).
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	Muizen die tijdens de proef botulisme verschijnselen vertonen of matige tot ernstige aspecifieke reacties laten zien worden op grond van humane redenen tijdens de proef geëuthanaseerd.

4 Drie V’s

4.1	**Vervanging** Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.	Wereldwijd worden door diverse onderzoeksinstituten gewerkt aan een *in vitro* test voor het aantonen van botulinumtoxine. Echter aan de voorwaarden van een betrouwbare test, namelijk de vereiste hoge gevoeligheid om zeer lage hoeveelheden actief toxine aan te kunnen tonen en (internationale) validatie, wordt nog niet voldaan. Daarmee is de muizen-proefdiertest op dit moment nog steeds de enige internationaal erkende methode voor het aantonen van botulinumtoxine.
4.2	**Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.	Voor het aantonen van botlinumtoxine in diervoeders vindt een voorscreening plaats met moleculaire testen om eerst de aanwezigheid van C. botulinum aan te tonen. Alleen in het geval de bacterie wordt aangetroffen in het monster wordt vervolgens de toxinetest bij de muizen uitgevoerd. Muizen die geen negatieve effecten van botulinumtoxine in de testen laten zien worden, wanneer mogelijk , hergebruikt voor nieuwe botulismetoxine diagnostiek en verminderen daarmee het aantal benodigde dieren.
4.3	**Verfijning** Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.	Muizen zijn zeer gevoelig voor alle *Clostridium botulinum* toxine typen en laten bij blootstelling aan het botulinum toxine typische klinische verschijnselen zien. Hierdoor is bij acute vergiftigingen bij mens en dier betrouwbaar de diagnose te stellen over de aan of afwezigheid van botulinum toxine.
4.4	Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.	Door toevoeging antibiotica aan het in te spuiten monstermateriaal wordt zoveel mogelijk voorkomen dat er aspecifieke reacties optreden. In het geval de muizen typische botulisme verschijnselen vertonen of ernstige aspecifieke verschijnselen worden de muizen geëuthanaseerd. Om het welzijn van de muizen te vergroten wordt er gebruik gemaakt van kooiverrijking.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum	29 januari 2018
Beoordeling achteraf	Ja
Andere opmerkingen	Nee