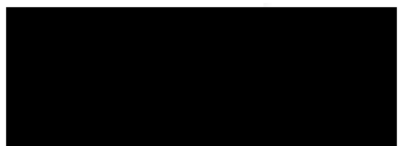


> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
centralecommissiedierproeven.nl

T 0900 28 000 28 (10 ct /min)

wob-ccd@rvo.nl

Onze referentie
B.2.16.001

Uw referentie
2016/003

Bijlage
1

Datum 16 september 2016
Betreft Beslissing op bezwaar, Wob

Geachte heer Van [REDACTED], mevrouw [REDACTED] en de heer [REDACTED],

Bij brief van 4 januari 2016, ontvangen 5 januari 2016, heeft gemachtigde van Wob-verzoeker namens zijn cliënte een bezwaarschrift (uw kenmerk 2016/003) ingediend tegen het besluit van de Centrale Commissie Dierproeven (hierna: CCD) van 24 november 2015 met kenmerk W15-08¹.

Bij brief van 9 december 2015, ontvangen op 10 december 2015, heeft de vergunninghouder verbonden aan NTS 2015121 eveneens een bezwaarschrift ingediend tegen het besluit van de Centrale Commissie Dierproeven van 24 november 2015 met kenmerk W15-08.

Bij brief van 7 december 2015, ontvangen op 8 december 2015, hebben vergunninghouders en betrokken Dec's verbonden aan NTS 201562, 201563, 2015103 en 2015109 eveneens een bezwaarschrift ingediend tegen het besluit van de Centrale Commissie Dierproeven van 24 november 2015 met kenmerk W15-08.

Opschorting en verdaging

Op 3 februari 2016, 15 maart 2016, 16 juni 2016 en 1 juli 2016 is de beslistermijn aan u verdaagd en/of opgeschort. Naast de wettelijk bevoegdheid de beslistermijn te verdagen, hebben wij onder meer u de gelegenheid gegeven nadere gronden

¹ In uw bezwaarschrift stond een onjuiste verwijzing naar kenmerk W15-09 opgenomen. Aangezien het besluit met dit kenmerk niet aan uw cliënte is gericht en de aangehaalde besluitdatum overeenkomt met het besluit W15-08 gaan wij ervan uit dat u de bedoeling heeft uw bezwaren te richten tegen dit besluit.

van bezwaar in te dienen. Hiervoor hebben wij de termijnen opgeschort. Uw ingebrekestelling van 22 augustus 2016, door ons ontvangen op 23 augustus 2016, is desondanks ontvangen na de beslistermijn.

Conform artikel 4:18 Awb stelt het bestuursorgaan binnen twee weken na de laatste dag waarover de dwangsom was verschuldigd de verschuldigdheid en de hoogte van de dwangsom bij beschikking vast. Op grond van artikel 4:17 lid 2 Awb bedraagt de dwangsom de eerste veertien dagen €20,- per dag, de daaropvolgende veertien dagen €30,- per dag en de overige dagen €40,- per dag.

In uw geval wordt de dwangsom berekend over een periode die begint op 7 september 2016 en die eindigt op de dag van verzending van het besluit op uw Wob-verzoek, te weten 16 september 2016. Wij kennen u hierbij een dwangsom van €200,- – zegge tweehonderd euro – toe. Dit bedrag is als volgt tot stand gekomen: tiendagen á €20,- per dag maakt een totaalbedrag van €200,-.

Beslissing

Het bestuur van de CCD verklaart het bezwaar van gemachtigde van Wob-verzoeker gedeeltelijk gegrond. Het bezwaar van vergunninghouder verbonden aan NTS 2015121 wordt gedeeltelijk gegrond verklaard en het bezwaarschrift van vergunninghouder verbonden aan NTS 201562, 201563, 2015103 en 2015109 wordt eveneens gedeeltelijk gegrond verklaard.

Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen het bestuur tot deze beslissing is gekomen.

Verloop van de procedure

Op 27 juli 2015 is per e-mail, op grond van de Wet openbaarheid van bestuur (hierna: de Wob), verzocht om toezending van documenten die betrekking hebben op 18 verschillende vergunningaanvragen. Voor een opsomming van de vergunningen wordt verwezen naar het verzoek en het bestreden besluit.

Bij besluit van 24 november 2015 is beslist op het Wob-verzoek.

Het bezwaarschrift van vergunninghouder met NTS 2015121 is op 9 december 2015 per brief ingediend. Bij brief van 4 januari 2016 heeft gemachtigde van Wob-verzoeker een bezwaarschrift ingediend. Bij brief van 7 december 2015 hebben vergunninghouders en betrokken Dec's verbonden aan NTS 201562, 201563, 2015103 en 2015109 eveneens een bezwaarschrift ingediend.

Op 22 maart 2016 heeft een hoorzitting plaatsgevonden waarvoor u, mede bezwaarden en derde belanghebbenden zijn uitgenodigd voor het geven van een toelichting op ingenomen standpunten. Gemachtigde van Wob-verzoeker heeft gedurende de hoorzitting herhaald dat verzocht is om afschriften van de aanvragen voor de genoemde vergunningen en alle correspondentie daarover. Verduidelijkt is dat het Wob-verzoek zag op correspondentie tussen de Dec en de CCD en aanvrager en de CCD. Vergunninghouder verbonden aan NTS 2015121 heeft de bezwaren toegelicht. Namens vergunninghouder verbonden aan NTS 201562, 201563, 2015103 en 2015109 is aangegeven geen belang te hebben de hoorzitting bij te wonen. Aanwezig waren tevens vergunninghouders verbonden aan NTS 201565 en NTS2015112.

Voor het verslag van de hoorzitting verwijs ik naar de bijlage.

Gemachtigde van Wob-verzoeker heeft op verschillende momenten aangegeven dat hij in zijn belangen is geschaad nu hij niet beschikt over de opgevraagde documenten. Vanwege een anoniem ingediende voorlopige voorziening heeft de CCD de stukken met betrekking tot deze verzoeken op verzoek van de rechtbank nog niet openbaar gemaakt. Onlangs is deze voorlopige voorziening ingetrokken.



In samenspraak met derde belanghebbenden zijn de onderliggende stukken alsnog aan de gemachtigde van de Wob-verzoeker verstrekt. Hij heeft hierbij een termijn gekregen om zijn gronden van bezwaar aan te vullen. Binnen de gestelde termijn heeft hij zijn gronden niet aangevuld.

Ten aanzien van de ontvankelijkheid

De bezwaren richten zich tegen het besluit van 24 november 2015. De bezwaarschriften zijn ingediend binnen zes weken na bekendmaking van het besluit. De bezwaren zijn derhalve tijdig ingediend. Voldaan is ook aan de overige door de Algemene wet bestuursrecht (hierna: Awb) gestelde eisen, zodat de bezwaarschriften ontvankelijk zijn.

Derde belanghebbenden

De derde belanghebbenden zijn gevraagd om een zienswijze. Bij de behandeling van de bezwaren zijn derde belanghebbenden nogmaals in de gelegenheid gesteld aanvulling te geven op de eerder ingediende zienswijze en te reageren op de bezwaargronden van gemachtigde van Wob-verzoeker. Deze zienswijzen zijn aan gemachtigde van Wob-verzoeker voor de hoorzitting anoniem, verbonden aan een uniek NTS nummer, verstrekt.

De adviserende Dec bij NTS 2015121 wordt niet gevolgd in haar stelling dat het verzoek geen betrekking heeft op aan de Dec verbonden stukken, aangezien in het Wob-verzoek gevraagd wordt om stukken met NTS nummer 2014121. Gesteld wordt dat ook vanwege de titel van het onderzoek het verzoek onmiskenbaar is gericht op NTS 2015121. Bovendien stond NTS 2015121 tot het moment van het ingekomen Wob-verzoek ook op de website van de CCD gepubliceerd onder het onjuiste NTS nummer.

Wod versus Wob

De Europese Richtlijn 2010/63/EU (hierna: de richtlijn) bepaalt dat lidstaten onder voorwaarden striktere nationale regels mogen hebben gericht op een uitgebreidere bescherming van de onder de richtlijn vallende dieren (artikel 2 van de richtlijn). Van een 'nationale kop' is sprake indien Nederland bij de omzetting van Europese regelgeving verder gaat dan op grond van de Europese regelgeving noodzakelijk is. Deze nationale regels mogen niet buiten de limitatief voorgeschreven doeleinden van de richtlijn vallen.

De Wob valt buiten de reikwijdte van de doelstellingen van de richtlijn. Om die reden kan de Wob geen nationale kop op de Wod bevatten. En om die reden had de Wod op dit onderdeel niet gemeld hoeven te worden in Brussel. Met de publicatie van de niet-technische samenvatting is niet beoogd tevens te voorzien in een bijzondere openbaarmakingsregeling. Uit de parlementaire geschiedenis van de Wod volgt evenmin dat de Wob een bijzondere openbaarmakingsregeling is. Dit is bevestigd in de aangehaalde uitspraak van de rechtbank Gelderland van 21 april 2016 (kenmerk: AWB 15/6463). Op grond van vorenstaande kan de CCD de mening van enkele derde belanghebbenden dat de Wob niet van toepassing is, niet delen.

Bezwaren van gemachtigde van Wob-verzoeker De bezwaren laten zich als volgt kort samenvatten:

1. De documenten zijn feitelijk nog niet openbaar gemaakt, zodat een inhoudelijk verweer niet mogelijk is.
2. op de weigeringsgrond bedrijfs- en fabricagegegevens zijn te veel gegevens geweigerd terwijl daar onvoldoende aanleiding voor is.
3. Ten onrechte worden persoonsnamen, telefoonnummers, e-mailadressen en bankrekeningnummers geweigerd op grond van artikel 10, lid 2 sub e van de Wob.

4. In het besluit is ten onrechte en niet navolgbaar informatie geweigerd op de grond onevenredige benadeling
5. Bij het weigeren van gegevens als vrees voor buitensporige acties van dierenrechtenactivisme is nagelaten voldoende concreet te onderbouwen dat een dergelijk risico bestaat.
6. Er is teveel informatie geweigerd op grond van de weigeringsgrond van persoonlijke beleidsopvattingen ten behoeve van intern beraad.

Verzocht wordt het besluit te herzien en de gevraagde gegevens alsnog openbaar te maken. Tot slot wordt onder verwijzing naar artikel 7:15 Awb verzocht om een proceskostenvergoeding.

Ten aanzien van bezwaren onder 1

De documenten feitelijk nog niet openbaar zijn gemaakt, zodat een inhoudelijk verweer niet mogelijk is.

Deze grond slaag niet.

In het bestreden besluit is besloten tot (gedeeltelijke) openbaarmaking van de gevraagde documenten. Deze stukken zijn gepubliceerd. U bent daar per e-mail over geïnformeerd. In het bestreden besluit is aangegeven dat de stukken gepubliceerd worden op de website van de CCD. In de uitnodiging voor de hoorzitting bent u hier nogmaals op gewezen. Een ingediende voorlopige voorziening was mede de aanleiding de stukken niet openbaar te maken. Overigens zijn de stukken u in het kader van het bezwarendossier alsnog verstrekt. U heeft binnen de daarvoor gestelde termijn geen gebruik gemaakt van de mogelijkheid tot het aanvullen van uw gronden.

Ten aanzien van bezwaren onder 2

Bezwaarde stelt dat de weigeringsgrond bedrijfs- en fabricagegegevens te ruim is geïnterpreteerd.

Deze grond slaagt gedeeltelijk.

Bedrijfs- en fabricagegegevens

In algemene zin wordt over de weigeringsgrond bedrijfs- en fabricagegegevens het volgende opgemerkt.

Artikel 10 lid 1 aanhef en onder c van de Wob bepaalt dat het verstrekken van informatie achterwege blijft voor zover dit bedrijfs- en fabricagegegevens betreft, die door natuurlijke personen of rechtspersonen vertrouwelijk aan de overheid zijn medegedeeld.

Inzichtelijk dient te zijn dat de in de stukken neergelegde informatie, afzonderlijk en in onderlinge samenhang beschouwd zijn aan te merken als concurrentiegevoelige bedrijfsinformatie waarvan openbaarmaking leidt tot wetenswaardigheden met betrekking tot de technische bedrijfsvoering of het productieproces dan wel met betrekking tot de afzet van de producten of de kring van afnemers en leveranciers. Het betreffende artikel dient naar zijn aard restrictief te worden uitgelegd.

Zienswijzen

De ingediende zienswijzen van derde belanghebbenden spelen een belangrijke rol in de afweging van de betrokken belangen van de verzoeker van de documenten versus derde belanghebbenden.



Onderzoeksmethoden

Enkele belanghebbenden hebben aangegeven dat het project betrekking heeft op nieuwe of bestaande onderzoeksmethodes, waarbij is aangegeven dat het in elk geval gaat om nieuwe technologie en combinaties van technologieën die niet eerder zijn toegepast voor de specifieke onderzoeksvragen die deze vergunninghouders hebben. Bij het bekendmaken van deze vernieuwende onderzoekstrategie worden specifieke onderzoeksvragen beantwoord, zodat het openbaar maken van de gegevens hun concurrentiepositie aantast. Dit kan er op termijn toe leiden dat zij geen bijdrage meer kunnen leveren aan vooruitgang in de wetenschap en implementatie van nieuwe kennis ten behoeve van verbetering van bijvoorbeeld de patiëntenzorg. Daarbij zijn er ook concurrenten in zicht die belang hebben bij dergelijk informatie.

Hierover wordt opgemerkt dat het voorstelbaar is dat als bepaalde onderzoekstrategieën op deze wijze al openbaar worden gemaakt, deze niet meer beschermd kunnen worden door intellectuele eigendomsrechten (patenten). Alleen die woorden of tekstdelen die inzicht geven in deze onderzoekstrategieën zijn geweigerd. Het merendeel van de documenten is openbaar gemaakt. Verwezen wordt naar de uitspraak van de rechtbank Gelderland van 22 juli 2014 (ECLI:NL:RBGEL:2014:4543). In enkele zienswijzen is verzocht om weigering van gehele documenten. Hieronder zal daar bij de betreffende NTS nummers op in worden gegaan.

Vertrouwelijke verstrekte informatie

Indien in de zienswijzen slechts is verwezen naar het gegeven dat de informatie vertrouwelijk aan de overheid zou zijn verstrekt of dat sprake is van het in gevaar komen van de concurrentiepositie is dit naar oordeel van de CCD onvoldoende voor een beroep op voornoemde weigeringsgrond. Dat openbaarmaking van de krachtens deze weigeringsgrond geweigerde informatie een inkijk zou geven in de bedrijfsvoering van het bedrijf is onvoldoende voor het oordeel dat het om vertrouwelijke bedrijfs- en fabricagegegevens gaat. Voor het bovenstaande wordt verwezen naar de uitspraak van de Afdeling bestuursrechtspraak van de Raad van State (hierna: RvS) van 23 december 2015 (ECLI:NL:RVS:2015:3976) en de uitspraken van 20 november 2013 (ECLI:NL:RVS:2013:2004) en 17 juli 2013 (ECLI:NL:RVS:2013:288).

Concurrentie

De rechtbank Gelderland (ECLI:NL:RBGEL:2014:2100) heeft in haar uitspraak van 27 maart 2014 bepaald dat met het bekend maken van de handelsnaam het niet aannemelijk is dat de concurrentie gegevens uit het onderzoek kan benutten om zich een beeld te vormen van haar werkwijze van de betreffende organisatie.

Nummers

Ten aanzien van deelnemernummers of de naam dan wel aanduiding van een organisatorische werkeenheid van vergunninghouders, heeft de rechtbank Gelderland in haar uitspraak van 12 juni 2014 (ECLI:NL:RBGEL:2014:3654) aangegeven dat dit niet valt aan te merken als bedrijfs- of fabricagegegevens.

Ten aanzien van de specifieke informatie wordt aan de hand van het NTS nummer het volgende opgemerkt:

NTS 2015112,

De documenten 2 en 3 zijn in het primaire besluit geheel geweigerd op de gronden bedrijfs- en fabricagegegevens en onevenredige benadeling. De overwegingen in de zienswijzen en de aanvullingen hierop tijdens de hoorzitting beschrijven op globale en algemene wijze om welke redenen deze gegevens

geweigerd dienen te worden. Uit deze reacties kan niet worden opgemaakt op welke informatie vergunninghouder concreet doelt. Gelet op bovenstaande zal deze weigeringsgrond niet aan openbaarmaking in de weg kunnen staan.

NTS 2015115,

De documenten 1, 5 en 9 zijn deels geweigerd op de grond bedrijfs- en fabricage gegevens. In de documenten welke bij de zienswijzen zijn verstrekt is concreet en nauwkeurig aangegeven welke informatie op basis van voornoemde weigeringsgrond geweigerd dient te worden. Dit heeft geresulteerd in slechts beperkt geweigerde informatie. Openbaarmaking van de naam en het soort gebruikte stoffen betreffen nieuw ontwikkelde stoffen, waarover nog niet gepubliceerd is. De informatie is daarmee concurrentie gevoelig en betreft informatie die beschouwd wordt als vertrouwelijke bedrijfs- en fabricagegegevens. Dat geldt eveneens voor geweigerde informatie welke tot deze stoffen herleidbaar is. Aanvullend wordt verwezen naar hetgeen hiervoor in algemene zin is opgenomen. De bezwaren geven geen aanleiding tot nadere openbaarmaking van gegevens.

NTS 2015137,

De stelling in de zienswijze van vergunninghouder dat de in de zienswijzen gemarkeerde gegevens concurrentiegevoelige gegevens betreffen en openbaarmaking het niet meer mogelijk maakt patent aan te vragen, zijn onvoldoende om de gegevens te weigeren op grond van bedrijfs- en fabricage gegevens. Genoemde gegevens zullen daarom in de documenten 1 en 4 en 5 openbaar worden gemaakt.

NTS 2015121,

De stelling dat de titel van het project en de functienaam op grond van bedrijfs- en fabricagegegevens niet openbaar gemaakt mogen worden, kan niet worden volgehouden. Verwezen wordt onder meer naar de uitspraak van de RvS van 23 december 2015, ECLI:NL:RVS:2015:3976. In document 4 (het Dec advies) heeft de Dec gevraagd een deel van de titel van het onderzoek te weigeren. Deze weigering is niet gemotiveerd in de zienswijzen. Bovendien heeft vergunninghouder in de zienswijze zelf geen aanleiding gezien te verzoeken een deel van de titel te weigeren. In document 12 is de functie van de verantwoordelijk onderzoeker en de voor de uitvoering van het project verantwoordelijke geweigerd. Aangezien de naam van vergunninghouder openbaar is, is met de functie van voornoemde persoon direct herleidbaar welke persoon binnen vergunninghouder betrokken is bij dierproeven. Om voornoemde redenen wordt deze informatie niet openbaar gemaakt. Zowel de adviserende Dec als vergunninghouder hebben onvoldoende beargumenteerd dat de in de zienswijzen gemarkeerde gegevens concurrentiegevoelige gegevens betreffen. De ingediende zienswijzen worden om die reden op dit onderdeel niet gevolgd. Genoemde gegevens zullen daarom in de documenten 4 en 12 openbaar worden gemaakt.

NTS 2015129 en NTS 2015133

Meerdere documenten zijn deels geweigerd op de grond bedrijfs- en fabricage gegevens. Vergunninghouder en de betrokken Dec hebben aangegeven dat specifieke detailinformatie geweigerd dient te worden. Deze informatie geeft een dusdanig inzicht in de opzet van het onderzoek dat deze informatie wetenswaardigheden bevat die beschouwd wordt als vertrouwelijke bedrijfs- en fabricagegegevens. Verwezen wordt tevens naar hetgeen in algemene zin hiervoor is opgenomen over nieuwe toegepaste technologie die niet eerder zijn toegepast, en hetgeen is opgenomen over de bescherming van onderzoeks ideeën waarvan de



rechtbank Gelderland² eerder heeft aangegeven dat dergelijke ideeën beschermd moeten worden. Er is onvoldoende reden om meer informatie openbaar te maken dan in het primaire besluit is aangegeven.

NTS 2015105,

In de in bezwaar ingekomen aanvullende zienswijzen is benadrukt dat de in het primaire besluit geweigerde informatie op grond van de bedrijfs- en fabricagegegevens uit concurrentie oogpunt dient te blijven geweigerd. Het betreffen nieuwe en unieke onderzoeksmethodes, die nog niet eerder zijn gebruikt, en waar jarenlang vooronderzoek aan vooraf ging. Bovendien wordt gesteld dat het een zeer competitief werkveld is, waar veel afhangt van fondsen en subsidies. Universiteiten en andere research instellingen hebben belang bij de geweigerde informatie. Tevens is benadrukt dat de definitieve subsidieverlening nog niet is vastgesteld. Vroegtijdige openbaar making van de stukken heeft tot gevolg dat de definitieve subsidieverstrekking in gevaar komt.

In de documenten welke bij de zienswijzen zijn verstrekt is concreet en nauwkeurig aangegeven welke informatie op basis van voornoemde weigeringsgrond geweigerd dient te worden. Dit heeft geresulteerd in slechts beperkt geweigerde informatie. Uit de geweigerde informatie kunnen wetenswaardigheden worden afgelezen of afgeleid die beschouwd worden als vertrouwelijke bedrijfs- en fabricagegegevens. Aanvullend wordt verwezen naar hetgeen hiervoor in algemene zin is opgenomen. Er is onvoldoende reden om meer informatie uit de documenten 4 t/m 8 en 10, 18 en 19 openbaar te maken dan in het primaire besluit is aangegeven.

NTS2015111, NTS2015113 en NTS2015119

Vergunninghouder en de betrokken Dec hebben aangegeven dat specifieke detailinformatie geweigerd dient te worden. Deze informatie geeft een dusdanig inzicht in de opzet van het onderzoek dat deze informatie wetenswaardigheden bevat die beschouwd wordt als vertrouwelijke bedrijfs- en fabricagegegevens. Verwezen wordt tevens naar hetgeen in algemene zin hiervoor is opgenomen over nieuwe toegepaste technologie die niet eerder zijn toegepast, en hetgeen is opgenomen over de bescherming van onderzoeksideeën waarvan de rechtbank Gelderland eerder heeft aangegeven dat dergelijke ideeën beschermd moeten worden. Bezwaargronden geven geen aanleiding over te gaan tot een verdergaande openbaarmaking.

NTS 2015103

Bij herbeoordeling van het besluit is komen vast te staan dat deze weigeringsgrond niet aan openbaarmaking in de weg kan staan. De op deze grond geweigerde informatie in document 18 betreft een e-mail over de factuur. Deze weigeringsgrond komt te vervallen. Aangezien de informatie ook op andere gronden wordt geweigerd (persoonlijke levenssfeer en onevenredige benadeling) heeft het vervallen van voornoemde weigeringsgrond alleen tot gevolg dat aanvraagnummers openbaar worden gemaakt.

Ten aanzien van bezwaren onder 3

Bezwaarde stelt dat ongemotiveerd persoonsnamen, telefoonnummers, e-mailadressen en bankrekeningnummers onterecht worden geweigerd op grond van artikel 10, lid 2 sub e van de Wob.

² Zie ECLI:NL:RBGEL:2014:4543

Deze grond slaagt deels.

Persoonlijke levenssfeer

In de memorie van toelichting bij de Wob (Tweede Kamer, vergaderjaar 2012–2013, 33 692, nr. 3) wordt eveneens benadrukt dat ook tot personen herleidbare gegevens onder de weigeringsgrond eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer kunnen vallen. Daarbij is in de memorie van toelichting aangehaald dat: "*het belang van eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer zwaar moeten wegen.*"

Namen van personen

In aanvulling op bovenstaande merken wij op dat het belang van de eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer bescherming vindt in artikel 10, tweede lid, aanhef en onder e, van de Wob. In de memorie van toelichting bij de Wob is expliciet uitgesproken dat het hierbij niet alleen gaat om het belang van particuliere personen. Ook bestuurders en ambtenaren kunnen zich op dit artikel beroepen wanneer het belang van de eerbiediging van hun persoonlijke levenssfeer in het geding is. Ten aanzien van deze laatste groep wordt opgemerkt dat in de stukken geweigerde namen zijn van ambtenaren die geen publieke functie hebben, geen verantwoordelijkheid hebben voor handhaving van vergunninghouders en geen bevoegdheid hebben om besluiten in mandaat te ondertekenen.

Vanwege mogelijke fraude blijven in de documenten opgenomen handtekeningen geweigerd op grond van onevenredige benadeling en eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer.

Acties van dierenactivisten

Voor zover uit de gronden van bezwaar volgt dat de vrees voor buitensporige acties van dierenrechtenactivisme niet meer actueel is, wordt gesteld dat in het recente verleden deze dreiging wel actueel was. Van belang blijft dat personen in het werkveld en direct of indirect betrokken zijn bij dierproeven een maatschappelijke taak uitoefenen en het risico lopen slachtoffer te worden van activisme. Het gestelde dat op een bepaald moment deze dreiging minder actueel is, maakt niet dat deze dreiging er niet meer is of niet meer kan komen. Daarbij is van belang dat met het openbaar maken van persoonsnamen en tot namen herleidbare gegevens voor een ieder openbaar zijn. Openbaarmaking van de gegevens weegt niet op tegen het belang van eerbiediging van hun persoonlijke levenssfeer.

Belangenafweging

De namen van personen of tot personen herleidbare gegevens worden geweigerd aangezien het belang van eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer zwaarder weegt dan het belang van openbaarmaking van de gegevens. Bij deze afweging speelt mee dat het belang van eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer zwaar weegt en de acties van dierenrechtenactivisme op personen of instellingen tot de reële mogelijkheid behoort. Bovendien hebben deze personen bewust niet gekozen voor een functie in de openbaarheid. Verwezen wordt naar de uitspraak van de rechtbank Gelderland van 23 juli 2015 (ECLI:NL:RBGEL:2015:7608), de uitspraak van de rechtbank Gelderland van 21 april 2016 (kenmerk: AWB 15/6463) en de uitspraak van de rechtbank Amsterdam van 5 oktober 2011 (kenmerk: AWB 10/5986).

Informatie die niet tot personen herleidbaar is zoals bankrekeningnummers en algemene e-mailadressen worden openbaar gemaakt.



Ten aanzien van bezwaren onder 4

Bezwaarde stelt dat in het besluit ten onrechte en niet navolgbaar informatie is geweigerd op de grond onevenredige benadeling. In algemene zin wordt hier het volgende over opgemerkt.

Deze grond slaagt gedeeltelijk.

Onevenredige benadeling

Ingevolge artikel 10, tweede lid, aanhef en onder g van de Wob blijft het verstrekken van informatie achterwege als het belang daarvan niet opweegt tegen het voorkomen van onevenredige bevoordeling of benadeling van bij de aangelegenheid betrokken natuurlijke personen of rechtspersonen dan wel van derden.

Voor deze belangenafweging is van belang dat derde belanghebbenden in hun zienswijze aanvoeren op welke wijze openbaarmaking van de informatie de betrokken derde belanghebbende(n) zou kunnen schaden.

Nummers

Het bestuur verwijst naar de uitspraak van de rechtbank Gelderland van 22 juli 2014, ECLI:NL:RBGEL:2014:4555, waarin is komen vast te staan dat derden geen toegang tot de registratiesystemen hebben en derhalve geen koppeling kunnen maken tussen de nummers en de openbaar gemaakte gegevens. Registratienummers van een bestuursorgaan dienen derhalve in beginsel openbaar gemaakt te worden. Dit kan anders zijn indien een derde belanghebbende aantoont dat de genoemde koppeling van informatie wel te maken is.

Onderzoeksideeën

Voor wat betreft de bijlagen bij een vergunningaanvraag (proefopzet en beschrijving dierproeven) speelt de uitspraak van de rechtbank Gelderland van 22 juli 2014, ECLI:NL:RBGEL:2014:4543 een belangrijke rol. In de uitspraak werd geweigerd om de vraagstelling te openbaren die leidde tot het ontwerp van de proeven. De rechtbank stelde dat het voor de betrokken onderzoekers van belang is dat hun onderzoeksideeën niet openbaar worden gemaakt, zodat zij als eerste met (de resultaten van) hun onderzoek naar buiten kunnen treden. In dit kader is van belang dat er een voornemen bestaat tot publicatie of patent wordt aangevraagd. Daarnaast vloeit de vergoeding die de instelling ontvangt voor het verder laten ontwikkelen en naar de markt brengen door de industrie van deze kennis en technologie grotendeels weer terug in nieuw onderzoek binnen de instelling. Wanneer dit niet meer zou gebeuren, wordt de economische en financiële positie van de vergunninghouder geschaad.

Ten aanzien van de meer commerciële vergunninghouders stellen wij dat de in het onderzoeksplan beschreven onderzoeksideeën, voor zover deze wel nieuw intellectueel eigendom betreffen, maar niet voldoen aan de octrooivereisten, door openbaarmaking tevens niet meer als vertrouwelijke informatie (know-how) kunnen worden beschouwd en als zodanig niet meer van commerciële waarde zijn. Dit is volgens meerdere vergunninghouder rechtstreeks in strijd met het financieel en economisch belang van de vergunninghouder.

Ten aanzien van de specifieke informatie wordt aan de hand van het NTS nummer het volgende opgemerkt:

NTS 201562

In de documenten 1, 20 en 21 zijn geweigerd: het IBAN-nummer, afdeling, inkoopnummer, functienaam, straat en huisnummer en postbus en postcode. Uit de zienswijzen volgt niet of en zo ja op welke wijze de hiervoor opgesomde gegevens herleidbaar zijn tot personen die betrokken zijn bij het verrichten van dierproeven. De gegevens zijn wel herleidbaar tot vergunninghouder en Dec. In de zienswijze is niet beargumenteerd dat het voorliggende onderzoek zwaarwegende bijzonderheden bevat die aan openbaarmaking in de weg staan. Ook op andere wijze is niet onderbouwd dat openbaarmaking van deze gegevens leidt tot onevenredige benadeling van vergunninghouder. Daarnaast wordt vastgesteld dat veel van de genoemde informatie reeds openbaar is. De CCD verwijst aanvullend naar de uitspraak van de RvS van 13 juli 2016, ECLI:NL:RVS:2016:1952, waaruit volgt dat aannemelijk gemaakt dient te worden op welke wijze openbaarmaking van de informatie inzicht verschaft in de bedrijfsvoering en op welke wijze concurrenten hiermee voordeel kunnen behalen.

Voor de adreslocatie (postcode en plaats) van de Dec is deze informatie wel aangeleverd. Bovendien stelt de CCD vast dat op deze adreslocatie tevens dierproeven worden verricht. Bovengenoemde gegevens worden derhalve, met uitzondering van de adreslocatie van de Dec, openbaar gemaakt.

NTS 201563, 2015102 en 2015103 en NTS2015109

Onder verwijzing naar bovengenoemde argumenten wordt in bovengenoemde documenten de volgende informatie openbaar gemaakt: order nummer, BTW nummer, adressen, gebouwnummers, functies, de naam van een software pakket waarmee facturen verzonden kunnen worden, de naam van de afdeling, postbus en postcode, twee alinea's in de documenten 16 en 17 bij NTS 2015102.

Tevens wordt de tweede alinea uit een in document 17 (NTS 2015102) opgenomen e-mail openbaar gemaakt, aangezien weigering geen redelijk doel dient.

Met betrekking tot documenten verband houdende met NTS 2015109 worden de namen van derden geweigerd. Deze derden zijn op enigerlei wijze verbonden aan de vergunninghouder. Uit concurrentie oogpunt en gelet op het verdergaande inzicht in de kring van afnemers van de betrokken vergunninghouder worden de namen bij de afweging van het belang van het voorkomen van onevenredige benadeling van derden tegenover het belang van openbaarmaking in redelijkheid geweigerd.

NTS 201565

De aan bovengenoemde NTS verbonden Dec stelt in haar zienswijze dat naam, contact-, en adresgegevens, bedrijfs-, en locatiegegevens alsmede bedrijfs- en fabricagegegevens geweigerd dienen te worden. Het verzoek tot weigering van de bedrijfsgegevens is onvoldoende gemotiveerd. Niet is inzichtelijk gemaakt om welke reden het voorliggende onderzoek zwaarwegende bijzonderheden bevat dat openbaarmaking daarvan in combinatie met de naam van Dec of daarnaar te herleiden gegevens niet openbaar gemaakt mag worden. Ook op andere wijze is niet onderbouwd dat openbaarmaking van deze gegevens leidt tot onevenredige benadeling van vergunninghouder. Bovengenoemde gegevens worden derhalve openbaar gemaakt.

Tegemoet wordt gekomen aan de wens van vergunninghouder om namen van andere bedrijven te weigeren op grond van onevenredige benadeling. Het openbaar maken van deze namen geeft inzicht in de kring van partijen waar vergunninghouder mee samenwerkt. Ook uit oogpunt van concurrentie worden de



in het projectvoorstel (documenten 2 en 3) genoemde namen van derde partijen niet openbaar gemaakt.

NTS 201581

Naar aanleiding van de bezwaargronden worden de volgende gegevens openbaar gemaakt: interne code, IBAN-nummer, functies, afdeling, adres DEC inclusief huispostaanduiding. Niet is aangevoerd dat deze gegevens tot personen herleidbaar zijn. Opgemerkt wordt dat proefdierlocaties en interne nadere huisvestingsaanduidingen geweigerd kunnen worden. In het voorliggende geval zijn de voornoemde gegevens veelal op de eigen website opgenomen.

NTS 2015110

Voor wat betreft de documenten en de hierin opgenomen weigeringen van de Dec wordt verwezen naar hetgeen is opgenomen bij NTS 201565. De zienswijzen van vergunninghouder geven slechts aanleiding tot weigering van persoonsnamen. Kamer van koophandel nummers, namen van afdelingen en IBAN nummers worden openbaar gemaakt.

NTS 2015105

Verwezen wordt naar hetgeen is opgenomen onder de behandeling van de bezwaren onder de tweede bezwaargrond. De informatie dient tevens geweigerd te worden op grond van onevenredige benadeling.

NTS 2015106

In heroverweging worden in aanvulling van de reeds openbaar gemaakte gegevens tevens het rekeningnummer en algemeen mailadres in document 2 verstrekt. In document 7 worden het algemene mailadres, werkdagen en adres van de CCD openbaar gemaakt.

NTS 2015111, NTS 2015113 en NTS 2015119

Naar aanleiding van de bezwaargronden worden de volgende gegevens openbaar gemaakt: interne code, adressen, IBAN-nummer, functies, KVK, naam en adres vergunninghouder. De in de documenten opgenomen functie van de persoon die het aanvraag formulier heeft ondertekend wordt niet openbaar gemaakt. Aangezien de naam van vergunninghouder openbaar is, is met de functie van voornoemde persoon direct herleidbaar welke persoon binnen vergunninghouder betrokken is bij dierproeven. Om voornoemde redenen wordt deze informatie niet openbaar gemaakt.

De geweigerde informatie in de documenten 5, 7 tot en met 9 en document 16 van NTS 2015111 en de documenten 4 tot en met 6 en document 11 van NTS 2015113 blijft geweigerd op grond van bedrijfs- en fabricagegegevens en onevenredige benadeling. Voor de motivering wordt verwezen naar de tweede bezwaargrond.

NTS 2015112

In documenten 1 en 8 wordt het IBAN-nummer van vergunninghouder openbaar gemaakt. Deze gegevens zijn al openbaar en/of de adreslocatie van de Dec zijn openbaar gemaakt. De specifieke aanduiding van de locatie waar de betreffende Dec is gevestigd wordt vanwege onevenredige benadeling en vanwege eerbiediging van de persoonlijke levenssfeer niet openbaar gemaakt. Deze informatie is niet openbaar. Met het openbaar maken van deze gegevens kan uiteindelijk achterhaald worden welke personen betrokken zijn bij het verrichten van dierproeven. Zij oefenen een maatschappelijke taak uit en lopen het risico slachtoffer te worden van activisme. Op grond van bovenstaande wordt de specifieke aanduiding van de locatie waar de betreffende Dec is gevestigd niet

openbaar gemaakt. In de vergunning (document 4) opgenomen diersoorten en bijbehorende aantallen worden openbaar gemaakt. Deze informatie is immers reeds in de NTS openbaar gemaakt.

In document 1 en 8 opgenomen functie van de persoon die het aanvraag formulier heeft ondertekend wordt niet openbaar gemaakt. Aangezien de naam van vergunninghouder openbaar is, is met de functie van voornoemde persoon direct herleidbaar welke persoon binnen vergunninghouder betrokken is bij dierproeven. Om voornoemde redenen wordt deze informatie niet openbaar gemaakt.

NTS 2015121

In documenten 2 en 7 wordt het IBAN-nummer openbaar gemaakt. In document 4 is een deel van de titel van het onderzoek geweigerd. In heroverweging wordt deze informatie openbaar gemaakt. De zienswijzen onderbouwen op geen enkele wijze om welke reden deze informatie geweigerd dient te worden. Bovendien is deze informatie in de vorm van de NTS reeds openbaar gemaakt. De weigering op bladzijden 2 en 3 van document 4 is eveneens niet gemotiveerd in de zienswijzen. Niet valt in te zien welke grondslag aan het openbaar maken van een wettelijke eis in de weg staat. De overige informatie blijft geweigerd op grond van de in het besluit genoemde weigeringsgronden. Ten aanzien van de aanvraag en in de e-mails van 3 juli opgenomen gegevens van (plaatsvervangend) onderzoeker wordt opgemerkt dat deze gegevens worden geweigerd vanwege de herleidbaarheid naar onderzoekers op een bedrijf waar dierproeven worden verricht. Verwezen wordt naar de uitspraak van de Rechtbank Den Haag van 29 februari 2016 met kenmerk SGR 14/10530 WOB V63.

NTS 2015129 en NTS 2015133

De weigeringen op grond van bedrijfs- en fabricage gegevens worden subsidiair geweigerd op grond van onevenredige benadeling. De in de stukken opgenomen factuurnummer, volledige adresgegevens, aanvraagnummer en IBAN-nummer worden openbaar gemaakt. Voor de motivering wordt verwezen naar vorenstaande. Met betrekking tot de adresgegevens wordt opgemerkt dat in de zienswijzen gemotiveerd is verzocht deze gegevens niet openbaar te maken. Bij de behandeling van de voorliggende bezwaren is komen vast te staan dat de volledige adresgegevens op de website van de vergunninghouder staan opgenomen en eenvoudig traceerbaar zijn. De gegevens van de (plaatsvervangend) onderzoeker worden geweigerd vanwege de herleidbaarheid naar deze onderzoeker.

NTS 2015115 en NTS 2015137

Het adres, IBAN-nummer, tenaamstelling van het rekeningnummer worden openbaar gemaakt. Dat geldt ook voor de informatie in document 6. Uitgezonderd zijn de persoonsnamen van medewerkers van vergunninghouder die niet publiek optreden en vergunninghouder vertegenwoordigen. Voor zover er adresgegevens zijn geweigerd in e-mails wordt de informatie in heroverweging openbaar gemaakt. Dat geldt tevens voor de functie van de persoon die de aanvraag heeft ondertekend. Verwezen wordt naar de bij NTS 201562 genoemde argumentatie.

Ten aanzien van bezwaren onder 5

Bezwaarde stelt dat er te veel informatie is geweigerd op grond van vrees voor buitensporige acties van dierenrechtenactivisme.

Deze grond slaagt niet.

In casu gaat het om mogelijke intimidatie als gevolg van openbaarmaking van de inhoud van aanvragen om dierproefvergunningen en de daaraan ten grondslag



liggende documentatie. De CCD stelt dat het zich daadwerkelijk manifesteren van intimidatie afhankelijk is van diverse onzekere factoren. Het is niet alleen de vraag in hoeverre de inhoud derden aanleiding kán geven tot intimidatie over te gaan, maar ook of die derden hiertoe daadwerkelijk zullen overgaan. Afgewogen is of de weigering van de gegevens kan leiden tot onevenredige benadeling of bevoordeling. Meer specifiek is de afweging gemaakt ten aanzien van de volgende in het bestreden besluit opgenomen informatie:

- Namen van natuurlijke personen, zoals onderzoekers en contactpersonen;
- Locatiegegevens van dierproeflocaties en 'sublocaties', zoals straatnaam, postcode, plaats, maar ook de afdeling en het organisatieonderdeel wanneer deze door de naam of de specifieke unieke omschrijving direct te herleiden zijn tot de betreffende organisatie;
- E-mailadressen, telefoonnummers, faxadressen en rekeningnummers die direct herleidbaar zijn tot personen of organisaties;
- Gebruikte technieken, methoden of middelen.

De CCD verwijst naar het gestelde onder drie met betrekking tot de weigering van het openbaar maken van persoonsnamen en tot persoonsnamen te herleiden gegevens. Met betrekking tot gegevens die kunnen leiden naar persoonsnamen, is in de memorie van toelichting bij de Wod (Tweede Kamer, vergaderjaar 2012-20136, 33 692, nummer 3, bladzijde 14) opgenomen dat door de openbaarmaking van locaties waar dierproeven worden verricht ook achterhaald kan worden welke personen bij dierproeven betrokken zijn.

Vergunninghouder verbonden aan de NTS 2015112 stelde tijdens de hoorzitting dat verschillende proeven bij boerderijen zijn verricht. Gedurende de hoorzitting is namens Wob-verzoeker aangegeven dat er geen belang bestaat tot het verkrijgen van dergelijke informatie.

Dat de vrees voor buitensporige acties van dierenrechtenactivisme actueel is, is onder drie reeds aangetoond. In aanvulling daarop wordt verwezen naar de uitspraak van de Rechtbank Den Haag van 29 februari 2016 met kenmerk SGR 14/10530 WOB V63 en de in die uitspraak opgesomde stukken, waaruit volgt dat de genoemde acties verder gaan dan louter een onheuse bejegening dan wel "naming en shaming". Daarnaast kan worden opgemerkt dat vergunninghouder verbonden aan de NTS 2015121 tijdens de hoorzitting aannemelijk heeft gemaakt dat er ernstige persoonlijke bedreigingen aan haar adres en dat van haar kleinkind zijn gedaan. Bovenstaande geeft de CCD aanleiding om de "sub locaties" of dierproef locaties en de daarbij behorende gegevens te weigeren.

Gebruikte technieken, methoden of middelen worden in voorkomende gevallen wel geweigerd op grond van onevenredige benadeling. Verwezen wordt naar de bezwaargrond met betrekking tot bedrijfs- en fabricagegegevens. De vrees voor dierenactivisme speelt bij deze weigering echter in de voorliggende documenten geen rol.

De CCD blijft van oordeel dat de genoemde informatie op grond van onevenredige benadeling geweigerd kan worden.

Ten aanzien van bezwaren onder 6

Gesteld wordt dat de op deze grond geweigerde informatie niet uitsluitend bestaat uit persoonlijke beleidsopvattingen.

Deze grond slaagt niet.

Gedurende de hoorzitting heeft u aangegeven dat het Wob-verzoek ziet op correspondentie tussen de Dec en de CCD en aanvrager en de CCD. Interne stukken vallen daarom buiten de reikwijdte van het Wob-verzoek.

Verdere behandeling van deze grond dient daarmee geen redelijk doel meer.

Ten aanzien van de gevraagde proceskostenvergoeding overweegt de CCD het volgende:

Ingevolge artikel 7:15 van de Awb komen de kosten die u hebt moeten maken in verband met de behandeling van het gemaakte bezwaar voor vergoeding in aanmerking indien sprake is van een geheel of gedeeltelijk onrechtmatig besluit. In uw geval is hiervan sprake. Gelet op artikel 7:15, tweede lid, van de Awb gelezen in samenhang met het Besluit proceskosten bestuursrecht, hebt u derhalve recht op een vergoeding van € 992,-, zijnde één punt voor de gehouden hoorzitting en zijnde één punt voor het bezwaarschrift. Het te betalen bedrag € 992,- ontvangt u binnen vier weken op uw rekening indien het nog niet reeds aan u is uitbetaald.

Ten aanzien van de bezwaren van vergunninghouder bij NTS 2015121

De bezwaren laten zich als volgt kort samenvatten:

1. De zienswijze is niet betrokken bij het primaire besluit.
2. Gesteld wordt dat vergunninghouder onvoldoende in staat is gesteld een zienswijze te geven. Aangegeven wordt dat niet alle informatie is verstrekt. Interne telefoonnotities en memo's ontbreken.
3. Tevens vraagt bezwaarde de naam van vergunninghouder te weigeren op grond van artikel 10, tweede lid onder g.
4. De Wod bevat een bijzonder openbaarmakingsregeling die voor gaat op de Wob.
5. Het openbaar maken van de naam van de Dec is strijdig met artikel 10, eerste lid onder c en d.

Ten aanzien van bezwaren onder 1

De zienswijze is niet betrokken bij het primaire besluit.

Deze grond slaagt

Bij het bezwaarschrift is een op 10 september 2015 gedateerde zienswijze bijgevoegd, waarvan in bezwaar wordt gesteld dat deze ten onrechte niet is betrokken bij de behandeling van het Wob-verzoek.

De zienswijze is niet betrokken bij de totstandkoming van het besluit aangezien de zienswijze niet is ontvangen. Bij de behandeling van het bezwaar zijn de zienswijzen alsnog betrokken. De belangen van vergunninghouder zijn niet geschaad. De stukken zijn immers niet openbaar gemaakt.

Onder 3 wordt gereageerd op de zienswijzen.

Ten aanzien van bezwaren onder 2

Gesteld wordt dat vergunninghouder onvoldoende in staat is gesteld een zienswijze te geven.

Deze grond slaagt.

Bij de opgevraagde zienswijze zijn de opgevraagde documenten gevoegd. De documenten 3, 9 en 10 ontbraken. Document 3 was reeds openbaar. Documenten 9 en 10 zijn alsnog aan u verstrekt. U bent alsnog in de gelegenheid gesteld hierop te reageren. In deze documenten staan geen namen of tot personen of instellingen te herleiden gegevens opgenomen.

Ten aanzien van bezwaren onder 3

Tevens vraagt bezwaarde de naam van vergunninghouder te weigeren op grond van artikel 10, tweede lid onder g. Deze grond slaagt niet.

Verzocht is namen en adresgegevens en locaties waar proefdieren worden gehuisvest niet openbaar te maken. In de zienswijzen wordt tevens een opsomming gegeven welke gegevens eveneens geweigerd moeten worden. Vast staat dat de genoemde gegevens zijn geweigerd. Niet geweigerd is de informatie "zoals intellectueel property, onderzoek inzichten, diersoorten en aantallen, herkomst van dieren en uit codes herleidbare type experimenten."

In de zienswijze is niet beargumenteerd dat het voorliggende onderzoek zwaarwegende bijzonderheden bevat dat de namen van vergunninghouders en Dec of daarnaar te herleiden gegevens niet openbaar gemaakt mogen worden. Ook op andere wijze is niet onderbouwd dat openbaarmaking van deze gegevens leidt tot onevenredige benadeling van vergunninghouder. Daarnaast wordt vastgesteld dat veel van de genoemde informatie reeds openbaar is. Tevens wordt verwezen naar de uitspraak van de rechtbank Gelderland van 21 april 2016 (kenmerk: AWB 15/6463).

Ten aanzien van de proefdierlocatie wordt gesteld dat vanwege concrete acties van dierenactivisme de naam van de proefdierlocatie geweigerd dient te worden. Het adres van vergunninghouder is openbaar gemaakt. Dit adres staat ook op de site van de betreffende vergunninghouder en kan derhalve niet onevenredig benadelend zijn. Van andere openbaar gemaakte adresgegevens is geen sprake. Nagelaten is aan te geven welke locatie bezwaarde voor ogen heeft.

Ten aanzien van bezwaren onder 4

De Wod bevat een bijzonder openbaarmakingsregeling die voor gaat op de Wob.

Deze grond slaagt niet.

Verwezen wordt naar hetgeen over de bijzondere openbaarmakingsregeling is opgenomen onder het kopje derde belanghebbenden.

Ten aanzien van bezwaren onder 5

Het openbaar maken van de naam van de Dec is strijdig met artikel 10, eerste lid onder c en d.

Deze grond slaagt niet.

Het ingekomen bezwaarschrift is ingediend namens vergunninghouder. In het bezwaarschrift wordt echter ook gesteld dat de naam van de betreffende Dec niet openbaar gemaakt mag worden. Deze bezwaargrond kan vergunninghouder niet inbrengen vanwege het ontbreken van enig belang. Deze grond wordt om deze reden verder niet inhoudelijk behandeld.

Ten aanzien van de bezwaren van vergunninghouder bij NTS 201562, 201563, 2015103 en 2015109

De bezwaren laten zich als volgt kort samenvatten:

In bezwaar wordt gesteld dat de zienswijze ten onrechte niet geheel gevolgd is. Verzocht wordt om het bestreden besluit te herroepen en alsnog de in bezwaar aangedragen gegevens te weigeren op de weigeringsgronden:

A. bedrijfs- en fabricage gegevens;

B. gegevens van de hoofdlocatie

In algemene zin wordt gesteld dat de enkele stelling dat al dan niet concreet gemaakte informatie niet openbaar mag worden gemaakt onvoldoende is om vergunninghouder tegemoet te komen in haar wens tot het niet openbaar maken van de betreffende informatie. Ook de contractuele afspraken tussen vergunninghouder en haar opdrachtgevers dat de documenten niet openbaar gemaakt mochten worden is geen in de Wob erkende weigeringsgrond. Het bestuur verwijst aanvullend naar de uitspraak van de RvS van 13 juli 2016, ECLI:NL:RVS:2016:1952, waaruit kan worden opgemaakt dat derde belanghebbenden aannemelijk dienen te maken op welke wijze openbaarmaking van de informatie inzicht verschaft in de bedrijfsvoering en op welke wijze concurrenten hiermee voordeel kunnen behalen.

De stelling dat e-mails aan of van vergunninghouder en/of de Dec geweigerd dienen te worden op grond van artikel 11, tweede lid van de Wob wordt niet gevolgd. Deze e-mails bevatten geen persoonlijke beleidsopvatting ten behoeve van intern beraad van de CCD, maar betreffen nadere vragen en antwoorden welke bij de beoordeling van de aanvraag betrokken zijn. Document 29 bij NTS 2015103 betreft het aan vergunninghouder verstuurd besluit. Dergelijke informatie kan daarom niet geweigerd worden op voornoemde weigeringsgrond.

Ten aanzien van Ad A is in bezwaar opgesomd welke gegevens volgens vergunninghouder alsnog geweigerd dienen te worden.

Ten aanzien van Ad B is in dit besluit op meerdere plaatsen reeds ingegaan op de motivering de gevraagde informatie te weigeren dan wel openbaar te maken. De naam van de Dec en de vergunninghouder betrokken bij NTS 201562, 201563 en 2015103 en 2015109 is openbaar gemaakt. Dat geldt echter niet voor de adresgegevens. Het postbusnummer zelf wordt wel openbaar gemaakt. De CCD is van oordeel dat deze gegevens niet openbaar zijn. In alle openbaar gemaakte informatie wordt met betrekking tot de adresgegevens verwezen naar de naam en adreslocaties van de bij NTS 2015109 betrokken vergunninghouder. Ten aanzien van het aanvraagnummer en deelnemernummer is in het besluit reeds opgemerkt dat derden geen toegang tot de registratiesystemen hebben en derhalve geen koppeling kunnen maken tussen de nummers en de openbaar gemaakte gegevens. Bovendien zijn dergelijke nummers niet aan te merken als bedrijfs- of fabricagegegevens.

Wijze van openbaarmaking

Aangezien naar verwachting belanghebbenden bezwaar hebben tegen de openbaarmaking van de informatie vindt de feitelijke openbaarmaking van de documenten niet eerder plaats, dan twee weken na dagtekening van deze beschikking, conform artikel 6, vijfde lid, van de Wob. Op deze wijze wordt aan deze belanghebbenden de mogelijkheid geboden om te proberen de openbaarmaking tegen te houden.

Dit kan door het indienen van een beroepschrift bij de rechtbank én door daarnaast bij de rechtbank te verzoeken om, bij wijze van voorlopige voorziening, het onderhavige besluit tot openbaarmaking te schorsen. Indien binnen twee weken na dagtekening van dit besluit een verzoek om voorlopige voorziening is gedaan bij de rechtbank, wordt de uitspraak van de voorzieningenrechter afgewacht, voordat tot daadwerkelijke openbaarmaking wordt overgegaan.

Beroep

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief een beroepschrift indienen. Stuur het beroepschrift naar de rechtbank in uw arrondissement. Voor meer informatie verwijst ik u naar www.rechtspraak.nl.

U kunt ook digitaal beroep instellen bij genoemde rechtbank via <http://loket.rechtspraak.nl/bestuursrecht>. Daarvoor moet u wel beschikken over een elektronische handtekening (DigiD). Kijk op de genoemde site voor precieze voorwaarden.

Tot slot

In deze brief heb ik u uitgelegd wat de reden is voor deze beslissing. Heeft u vragen, kijk dan op www.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Hoogachtend,
De Centrale Commissie Dierproeven

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned over the typed name and title.

Prof. Dr. B. (Bas) Blaauboer
Plv. voorzitter



1

Projectnummer AVD40100201562

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 40100 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Stichting DLO
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	9 0 9 8 1 0 4
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Akkermaalsbos 12
		Postbus	59
		Postcode en plaats	6700AW Wageningen
		IBAN	NL10RABO0397066465
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Wageningen UR
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Wetenschappelijk medewerker
		Afdeling	CVI
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]@wur.nl
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|---------------------|
| Startdatum | 0 1 _ 0 6 _ 2 0 1 5 |
| Einddatum | 0 1 _ 0 6 _ 2 0 2 0 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Ontwikkeling van influenza (griep) vaccins
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Ontwikkeling van influenza (griep) vaccins
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|------------------------------|
| Naam DEC | DEC-DLO |
| Postadres | Postbus 65, 8200 AB Lelystad |
| E-mailadres | ██████████@wur.nl |

4 Betaalgegevens


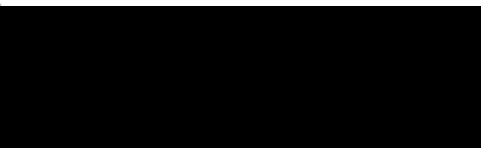
- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741,00 Lege
- Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- Via een eenmalige incasso
- Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ~~Melding Medicijn~~ Inkooporder WUR851589
- 7 x Bijlages beschrijving dierproeven, DEC-advies

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	
Functie	gemandateerd vergunninghouder
Plaats	Wageningen
Datum	1 1 - 0 5 - 2 0 1 5
Handtekening	





Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- 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 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Achtergrond:

Influenza zorgt jaarlijks voor epidemieën bij de mens. Dit veroorzaakt ziekte (schattingen variëren van 3-5 miljoen ernstig zieken wereldwijd per jaar) soms met longontsteking, die zo ernstig kan zijn dat er dodelijke slachtoffers te betreuren zijn (sterftecijfer varieert van 250.000 tot 500.000 wereldwijd per jaar). Naast het menselijk lijden, veroorzaakt dit een niet geringe economische schade vanwege b.v. ziekmeldingen en de daarmee samenhangende absentie van werk en de kosten van hospitalisatie. Soms groeien deze epidemieën uit tot een zogenaamde pandemie, waarvan de impact op zowel de volksgezondheid als de economie nog groter is. Er bestaat voor influenza een vaccinatie aanpak. Echter door de genetische variatie van het influenza virus is het nodig om elke jaar, zo kort mogelijk op het vaccinatieseizoen (het najaar voor het noordelijk halfrond, en het voorjaar voor zuidelijk halfrond), een nieuw vaccin te ontwikkelen op basis van een schatting/voorspelling door de WHO (Bron: WHO).

De bestaande vaccins bieden bescherming tegen rondgaande influenza stammen, waarvan de WHO inschat dat deze een probleem zullen worden gedurende het jaarlijks griepseizoen. Van tijd tot tijd slaan influenza stammen toe ondanks dat er gevaccineerd wordt. Dit zijn influenza stammen waartegen de gebruikte vaccins slechts beperkte of helemaal geen bescherming bieden. Epidemieën die veroorzaakt worden door dit soort stammen hebben een grote potentie om uit te groeien tot een pandemie, welke grote aantallen slachtoffers en grote economische schade kan veroorzaken. Binnen dit project is het de bedoeling om de bestaande vaccinatie aanpak te verbeteren en om geheel nieuwe vaccinatie strategieën te ontwikkelen. Het is de bedoeling dat deze nieuwe vaccins op tal van punten verbetering brengen t.o.v. de bestaande praktijk.

De werkzaamheid van deze vaccins wordt getest in influenza-muismodellen. Muismodellen en hun voorspellende waarde worden binnen de wetenschappelijke wereld breed gedragen in tal van velden, al heeft het ook zijn beperkingen. Deze influenza-muismodellen specifiek hebben bewezen voorspellende waarde voor de reacties die deze vaccins opwekken in de mens en men kan in deze modellen de fundamentele werkingsmechanismen ontrafelen. Experimentele data verkregen in de influenza-muismodellen heeft geleid tot humane trials, en binnen deze trials worden soortgelijke resultaten geboekt als in de muis. Na de experimentele fase in muizen worden de vaccinkandidaten ook bij andere onderzoeksinstituten getest in andere diermodellen en uiteindelijk ook in mensen.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het hoofddoel van het project is het voorkomen van ziekte ten gevolge van influenza infecties bij mensen door de ontwikkeling van verbeterde en nieuwe

influenzavaccins. Daarbij wordt de werkzaamheid van vaccinkandidaten onderzocht door gebruik te maken van influenza muismodellen. We willen ook inzicht krijgen in de werkingsmechanismen van de toegepaste vaccins en de interactie tussen het uenza virus en het afweersysteem van gastheer. Deze kennis kan weer benut worden bij de verbetering en ontwikkeling van vaccins.

Haalbaarheid: De voorgaande jaren zijn al een aantal veelbelovende resultaten geboekt, welke tot verbeterde vaccins zullen leiden in de komende jaren, die onderweg zijn naar onderzoek in mensen en wetenschappelijke publicaties. Het is hiermee aannemelijk dat resultaten uit dit project hun weg naar de kliniek zullen vinden.

Referenties:

- Roos A, Roozendaal R, Theeuwsen J, Riahi S, Vaneman J, Tolboom J, Dekking L, Koudstaal W, Goudsmit J, Radošević K. Protection against H5N1 by multiple immunizations with seasonal influenza vaccine in mice is correlated with H5 cross-reactive antibodies. 2015. *Vaccine*. 33:1739-47.
- Roozendaal R, Tolboom J, Roos A, Riahi S, Theeuwsen J, Bujny MV, Klaren V, Korse HJ, Dekking L, Grootenhuis A, Weverling GJ, Koudstaal W, Goudsmit J, Radošević K. Transient humoral protection against H5N1 challenge after seasonal influenza vaccination of humans. 2014. *PLoS One*. 30;9(7):e103550.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het uiteindelijke doel van het project is het voorkomen van ziekte veroorzaakt door influenza infecties bij mensen door de ontwikkeling van verbeterde en nieuwe influenzavaccins. Stap voor stap worden in dit programma vaccins verbeterd. De heilige graal is een universeel influenzavaccin. De wetenschappelijk relevantie is dat, gedurende dit proces van vaccinverbetering, de fundamentele kennis over de werking van vaccins, het immuunsysteem en influenza virussen vergroot wordt. Deze kennis zal ook in de preventie en bestrijding van andere infectieziekten, zoals b.v. hRSV, gebruikt worden. De maatschappelijke relevantie is te vinden in de verbeterde volksgezondheid en de vermindering van de daaraan gekoppelde economische schade, wanneer de kennis die opgedaan wordt binnen dit project, wordt toegepast in de vorm van verbeterde en vernieuwde vaccinproducten.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

Vanuit de onderzoekslijnen van het instituut en private partners komen veelbelovende manieren om influenza te bestrijden voort. Hiervan moet dan nog bewezen worden dat deze in levende organismen werken, zelfs als de resultaten behaald in het laboratorium dit lijken te beloven.

De overkoepelende aanpak is om vanuit de laatste inzichten in de wetenschappelijke wereld verbeterde en nieuwe vaccins te produceren. Leidraad hierbij zijn de resultaten, die in het verleden zijn behaald met virus-neutraliserende antilichamen, zoals [REDACTED]. Deze antilichamen zijn zowel profylactisch als therapeutisch zeer effectief tegen influenza infecties. Na toediening van deze antilichamen aan immunologisch naieve dieren en mensen bleek de bescherming volledig en erg breed: met een en hetzelfde antilichaam konden influenzavirussen van verschillende subtypes worden geneutraliseerd. Deze antilichamen zijn verder ontwikkeld en worden momenteel getest in griepatienten. Deze resultaten illustreren iets dat eerst voor onmogelijk werd gehouden, namelijk dat het immuunsysteem in principe de mogelijkheid heeft zodanig te reageren dat de gastheer is beschermd tegen verschillende influenza varianten. De ontwerpstrategie van de verbeterde en nieuwe vaccins benadert het probleem vanaf de andere kant. Daarbij poogt men de immunorespons zodanig te sturen dat een immunologische bescherming wordt opgewekt die net zo breed (of liever nog breder) en effectief is als die van de bovengenoemde antilichamen. Kortweg: in plaats van mensen de antilichamen toe te dienen, probeer je door vaccinatie te bewerkstelligen dat

mensen zelf zulke beschermende antilichamen aanmaken.

Dit onderzoek loopt al enige tijd binnen het instituut. In de voorgaande experimenten konden samen met onze private partner veelbelovende vaccinkandidaten worden ontwikkeld en getest. In dit project worden de geselecteerde vaccins doorontwikkeld/verbeterd. Het uiteindelijke en ultieme doel is de ontwikkeling van een griepvaccin, dat mensen langdurig beschermt tegen alle mogelijke influenza varianten.

Referenties:

- Dreyfus C, Laursen NS, Kwaks T, Zuidgeest D, Khayat R, Ekiert DC, Lee JH, Metlagel Z, Bujny MV, Jongeneelen M, van der Vlugt R, Lamrani M, Korse HJ, Geelen E, Sahin Ö, Sieuwerts M, Brakenhoff JP, Vogels R, Li OT, Poon LL, Peiris M, Koudstaal W, Ward AB, Wilson IA, Goudsmit J, Friesen RH. Highly conserved protective epitopes on influenza B viruses. 2012. Science. 337:1343-8.
- Ekiert DC, Friesen RH, Bhabha G, Kwaks T, Jongeneelen M, Yu W, Ophorst C, Cox F, Korse HJ, Brandenburg B, Vogels R, Brakenhoff JP, Kompier R, Koldijk MH, Cornelissen LA, Poon LL, Peiris M, Koudstaal W, Wilson IA, Goudsmit J. 2011. A highly conserved neutralizing epitope on group 2 influenza A viruses. Science 333:843-850.
- Koudstaal W, Koldijk MH, Brakenhoff JP, Cornelissen LA, Weverling GJ, Friesen RH, Goudsmit J. 2009. Pre- and postexposure use of human monoclonal antibody against H5N1 and H1N1 influenza virus in mice: viable alternative to oseltamivir. J. Infect. Dis. 200:1870-1873.
- Throsby M, van den Brink E, Jongeneelen M, Poon LL, Alard P, Cornelissen L, Bakker A, Cox F, van Deventer E, Guan Y, Cinatl J, ter Meulen J, Lasters I, Carsetti R, Peiris M, de Kruif J, Goudsmit J. 2008. Heterosubtypic neutralizing monoclonal antibodies cross-protective against H5N1 and H1N1 recovered from human IgM+ memory B cells. PLoS One 3:e3942.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Deelproject A: Opzetten, uitwerken en testen van nieuwe vaccinatietechnieken

Binnen dit deelproject zullen de volgende typen experimenten worden uitgevoerd:

1) Vaccinatie/challenge experimenten:

Het merendeel van de experimenten binnen dit project zijn vaccinatie-challenge experimenten. In dit type experiment is het primair de bedoeling om na te gaan of een bepaalde vaccinsamenstelling effectief beschermt tegen influenzavirus infecties. Daarvoor worden muizen een of meerdere keren gevaccineerd, waarna ze worden geïnfecteerd met influenzavirus (de challenge). Om de meest optimale vaccinkandidaten te kunnen selecteren voor verdere ontwikkeling zullen verschillende aspecten met elkaar worden vergeleken: *i*) samenstelling van vaccins, b.v. hoeveelheid antigeen, aard en hoeveelheid van een immuunstimulerend additief, *ii*) aantal vaccinaties, en *iii*) toedieningsroute. De groepsgrootte wordt m.b.v. van statistische analyse bepaald. Hierbij wordt rekening gehouden met de voorgaande variaties, de karakteristieken van het gebruikte influenza muismodel en de resultaten van eerder uitgevoerde studies.

Deelproject B: Opzetten en controle van influenza modellen in muizen

Voor onderzoek naar de werkzaamheid van influenzavaccins worden influenza muismodellen gebruikt. Binnen het Instituut is een uitgebreide set modellen beschikbaar. Toch kan het nodig zijn om een nieuw model op te zetten om na te kunnen gaan of een vaccin kandidaat ook tegen deze variant kan beschermen. Dit geldt bv. voor een H2 type influenzavirus, dat nog in de set ontbreekt, maar wel belangrijk is omdat het pandemische potentie heeft (het is

zo lang geleden dat zo'n virus rondwaarde dat een groot deel van de wereldbevolking geen H2 immuniteit meer heeft). Incidenteel is het nodig om bestaande influenzamodellen opnieuw te valideren/ karakteriseren, bijvoorbeeld bij de overgang van de oude naar een nieuw-geproduceerde virusstock.

Voor het opzetten en controleren van muismodellen zijn de volgende dierexperimenten nodig:

2) Adaptatie in muis:

Omdat de meeste influenzavirussen niet direct virulent zijn in muizen, moeten ze eerst aan de nieuwe gastheer worden aangepast d.m.v. long passages.

3) Bepalen van de optimale infectiedosis:

In dit experiment worden muizen geïnfecteerd met verschillende aflopende verdunningen van het virus om zodoende de optimale infectiedosis van het muis-geadapteerde virus te kunnen bepalen.

4) Bepaling van dynamische bereik:

Om de integriteit en vergelijkbaarheid van de influenzamodellen te bewaken lopen in alle vaccin-experimenten de volgende controlegroepen mee:

i) antilichaamcontrole, die 100% bescherming geeft (■■■■■ voor groep 1 virussen [b.v. ■■■■■ en ■■■■■ en ■■■■■ voor groep 2 virussen [b.v. ■■■■■]) en *ii)* een PBS controle, die 0% bescherming geeft. Deze controles geven aan of het model binnen de verwachte bandbreedte werkt en maken het mogelijk om reeksen van experimenten en verschillende influenzamodellen met elkaar te vergelijken. In dit type experiment worden de controles voor de nieuwe muis-geadapteerde influenzastock eerst apart getest.

Deelproject C: Fundamentele kennis over de werkingsmechanismen van de vaccins

Doel van dit deelproject is om inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van de vaccins, m.a.w. welke onderdelen van het immuunsysteem worden door vaccinatie gestimuleerd. Deze kennis kan worden toegepast om vaccins verder te verbeteren.

Hiervoor zullen de volgende typen experimenten worden uitgevoerd:

5) Aandeel antilichaam component:

Om vast te stellen wat het aandeel is van de antilichamenrespons (humorale immuunsysteem) in de bescherming door het vaccin, wordt een tweedelig experiment uitgevoerd. In het eerste deel worden muizen geïmmuniseerd met de kandidaat vaccins en vervolgens verbloed om het serum te oogsten. Dit serum wordt in het tweede deel toegediend aan nieuwe, immunologisch naïeve muizen, die daarna met influenzavirus worden geïnfecteerd. De mate waarin de tweede groep muizen wordt beschermd is gerelateerd aan de door vaccinatie opgewekte antilichaamrespons.

6) Aandeel cellulaire component:

Om vast te stellen wat het aandeel is van de cellulaire immuniteit in de bescherming na vaccinatie, wordt het volgende experiment uitgevoerd. Muizen worden gevaccineerd en vervolgens geïnfecteerd met influenzavirus. Net voor de infectie worden de dieren behandeld met antilichamen die specifiek componenten van het cellulaire immuunsysteem (b.v. CD4 of CD8 T cellen) uitschakelen. Het verschil in bescherming tussen de muizen die na vaccinatie wel en niet behandeld zijn met zo'n T cel antilichaam geeft het aandeel weer van het uitgeschakelde onderdeel van het cellulaire immuunsysteem.

7) Invloed bestaande immuniteit:

Dit onderdeel is wetenschappelijk relevant en wordt ook door toezichthoudende instanties (registratie-autoriteit) van belang geacht. Voor de selectie van geschikte vaccins worden deze eerst getest in muizen, die nooit eerder zijn blootgesteld aan influenza. Echter, als deze vaccins worden toegepast bij de mens, moet rekening worden gehouden met het feit dat de meeste mensen al bestaande immuniteit tegen influenzavirussen hebben, omdat ze vanaf jonge leeftijd jaarlijks in contact komen met verschillende influenza varianten. Deze bestaande immuniteit kan mogelijk storen bij vaccinatie: het maakt het vaccin onwerkzaam. Sterker nog, op theoretische gronden is het mogelijk geacht dat de combinatie van bestaande immuniteit en vaccinatie de ziekte veroorzaakt door een influenza infectie kan verergeren. Om deze effecten uit te sluiten, wordt een vaccinatie-challenge experiment uitgevoerd dit keer met muizen die al antistoffen tegen verschillende influenzavirussen hebben. Door bloedafname kan bekeken worden of de opbouw van antilichaamtiters tegen het vaccinvirus normaal verloopt. De reactie op de challenge van muizen met pre-immunisatie wordt afgezet tegen die van muizen die geen bestaande immuniteit hadden.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De vaccinatie/challenge experimenten zijn van belang om de optimale samenstellingen van vaccins, dosis, toedieningsroutes en aantal benodigde vaccinaties te bepalen. Deze variabelen worden met elkaar vergeleken, waarna de meest effectieve wordt gebruikt in vervolgentoelatingen. Hierdoor is het mogelijk om de vaccins en vaccinatiestrategieën op een systematische wijze te verbeteren. Dit werk wordt uitgevoerd in deelproject A (Opzetten, uitwerken en testen van nieuwe vaccinatietechnieken).

Om deze experimenten te kunnen uitvoeren zijn werkbare, reproduceerbare infectiemodellen nodig. In de afgelopen jaren is een breed panel van influenza muismodellen ontwikkeld. Zij hebben sindsdien hun waarde bewezen. We houden er rekening mee dat het nodig is om nieuwe influenza muismodellen op te zetten. Alle experimenten in deelproject B (Opzetten en controle van influenza modellen in muizen) spelen een rol in het verkrijgen en controleren van de influenza muismodellen.

Deelproject C (Fundamentele kennis over de werkingsmechanismen van de vaccins) is bedoeld om inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van de vaccins, die voortkomen uit deelproject A. Deze kennis kan worden gebruikt om vaccinuleringen te optimaliseren, zodat deze de voor bescherming belangrijke componenten van het immuunsysteem extra stimuleren.

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Vaccinatie/challenge experiment
2	Virusadaptatie in muis
3	Bepaling van infectiedosis
4	Bepaling van dynamische bereik influenzamodel
5	Aandeel antilichaam component
6	Aandeel cellulaire component
7	Invloed bestaande immuniteit
8	
9	
10	

- Op vragen van de DEC:
 - dat de wangprik voor het afnemen van bloed niet gebeurt onder narcose.
 - Dat waar mogelijk experimenten worden gecombineerd en dat de mogelijkheden hiertoe bij de diverse experimenten zijn aangegeven.

De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. De DEC heeft vastgesteld dat het project vergunningplichtig is (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag is een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om over de aanvraag te adviseren vanuit het oogpunt van onafhankelijkheid, onpartijdigheid en beschikbare expertises.

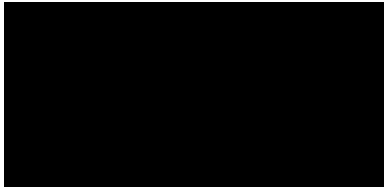
C. Beoordeling (inhoud)

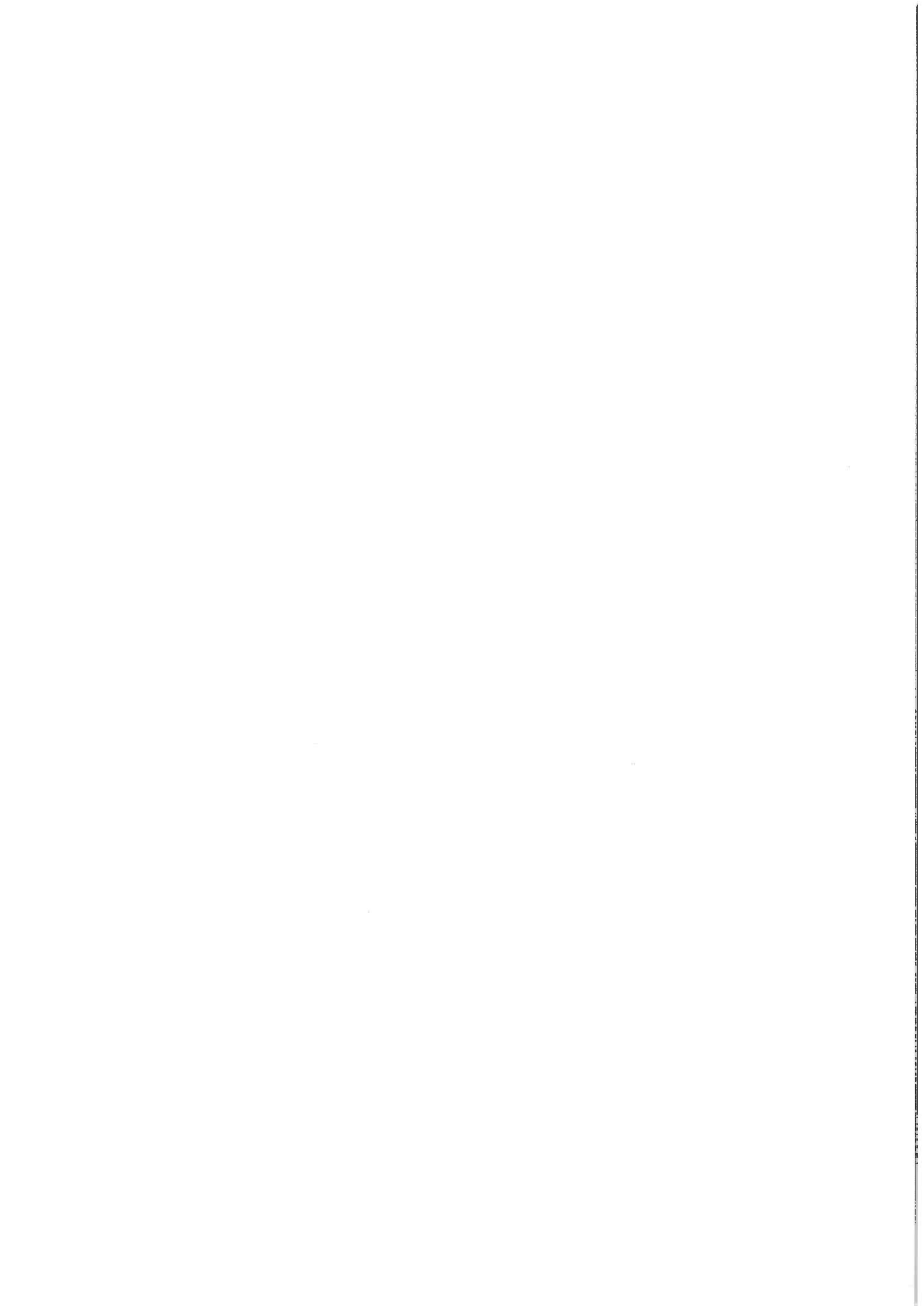
1. De DEC heeft vastgesteld dat het project uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord is.
2. De DEC heeft vastgesteld dat de in de aanvraag aangekruiste doelcategorieën in overeenstemming zijn met de hoofddoelstellingen.
3. Het reële belang van het project, te weten het vergaren van fundamentele kennis over de werking van vaccins, het immuunsysteem en influenza en daardoor bijdragen aan de ontwikkeling van een universeel langwerkend influenzavaccin, wordt door de DEC onderschreven.
4. De DEC stelt vast dat de expertise van de onderzoekers, de voorzieningen waar de experimenten uitgevoerd worden en de onderzoeksstrategie kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling van het project.
5. De DEC stelt vast dat een cumulatieve inschatting van ongerief als matig en ernstig realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Ongerief in de experimenten zal bestaan uit i.m. toediening van vaccin of intranasale toediening van vaccin en/of challengevirus onder anesthesie, griepverschijnselen (bol zitten, algehele malaise, ademhalingsproblemen, minder eetlust).
6. De DEC heeft vastgesteld dat er geen alternatieven zijn om de doelstelling van het project te realiseren. Het immuunsysteem is in vitro niet goed na te bootsen.
7. De DEC heeft vastgesteld dat er optimaal tegemoet gekomen wordt aan de vereiste van vermindering van dierproeven. Kandidaatvaccins worden eerst in het lab getest en alleen de meest veelbelovende kandidaten worden in dierproeven verder getest. Ook worden, indien mogelijk, experimenten gecombineerd om zo controlegroepen te besparen. De aanvrager beschikt over voldoende expertise om te voorkomen dat eerder gedaan onderzoek herhaald wordt.
8. De DEC heeft vastgesteld dat het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven. Om onnodig lijden te voorkomen worden HEP's gehanteerd. Verder worden belastende handelingen zoals intranasale toediening onder anesthesie uitgevoerd. De DEC is overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
9. De Instantie voor Dierenwelzijn heeft een positief oordeel over de kwaliteit van de aanvraag uitgebracht en de DEC heeft dit in haar overweging betrokken.

L. E. ...

•

E. A. ...







Format

Niet-technische samenvatting

- Dit format gebruikt u om uw niet-technische samenvatting te schrijven
- Meer informatie over de niet-technische samenvatting vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | | |
|------------------------------|--|
| 1.1 Titel van het project | Ontwikkeling van influenza (griep) vaccins |
| 1.2 Looptijd van het project | 01-06-2015 tot 01-06-2020 |
| 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | Influenza, griepvirus |

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- | |
|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Fundamenteel onderzoek |
| <input checked="" type="checkbox"/> Translationeel of toegepast onderzoek |
| <input type="checkbox"/> Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| <input type="checkbox"/> Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier |
| <input type="checkbox"/> Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort |
| <input type="checkbox"/> Hoger onderwijs of opleiding |
| <input type="checkbox"/> Forensisch onderzoek |
| <input type="checkbox"/> 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)
- Griep wordt veroorzaakt door influenzavirussen. Het influenzavirus is erg besmettelijk, dat betekent dat het gemakkelijk van mens op mens kan worden overgedragen. Mensen met griep kunnen behoorlijk ziek zijn. Ze hebben allerlei klachten, zoals koorts, hoofdpijn, keelpijn, spierpijn en hoesten.
- Mensen met verhoogd risico op complicaties ten gevolge van de griep komen in aanmerking voor de grieprik. De World Health Organization (WHO) houdt bij welke influenzavirusstammen in de wereld rondgaan en maakt elk jaar een voorspelling welke virusstammen de grootste kans hebben om in de komende winter voor problemen te zorgen. De vaccinfabrikanten zorgen er dan voor dat deze virussen in de grieprik zitten. Soms werkt het vaccin niet goed, omdat de samenstelling van het vaccin niet goed aansluit bij de rondwarende griepvirussen. In dat jaar kan een flinke epidemie ontstaan.
- Vogels en ook varkens hebben hun eigen influenzavirussen, die niet makkelijk overspringen naar de mens. Toch bestaat er een kleine kans dat het wel gebeurt. We hebben dit de afgelopen jaren gezien bij de Mexicaanse griep (varken naar mens) en de vogelgriep (vogel naar mens). Omdat de bevolking geen antistoffen tegen zo'n virus heeft en tegen zo'n vreemd virus ook niet direct een vaccin voorradig is, kan een epidemie uitgroeien tot een zogenaamde pandemie (een grote wereldwijde epidemie), waarbij de impact op de volksgezondheid groot is. In zo'n situatie ontstaat ook grote maatschappelijke onrust en economische schade, omdat mensen met belangrijke functies (leraren, buschauffeurs, artsen, verplegers, politieagenten, etc.) niet meer in staat zijn om op het werk te komen.
- Doel van het project is om vaccins te ontwikkelen, die bijdragen aan de preventie van griep bij de mens. Het gaat om verbeterde versies van bestaande vaccins en om geheel nieuwe vaccins. Het ideale vaccin zou na eenmalige toediening mensen levenslang moeten beschermen tegen alle influenza varianten (de jaarlijks terugkerende seizoensgriep en nieuwe, nog onbekende influenzavirussen, die pandemieën kunnen veroorzaken): één prik tegen alle influenzavirussen.
- 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?
- Dit project moet leiden tot de ontwikkeling van vaccins, die brede en langdurige bescherming bieden tegen influenzavirus infecties: een grieprik tegen alle influenzavirussen. Zulke vaccins kunnen een gunstige bijdrage leveren aan de volksgezondheid. Elk jaar krijgen wereldwijd 3-5 miljoen mensen een ernstige vorm van griep. Sommige mensen worden zelfs zo ziek dat ze eraan overlijden (wereldwijd naar schatting 250.000 tot 500.000 sterfgevallen per jaar).
- Dit project kan verder bijdragen aan verdieping van de kennis van de mechanismen achter de werking van griepvaccins en mogelijk ook van vaccins tegen andere virale aandoeningen.
- 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?
- Om te onderzoeken of en in welke dosis de ontworpen vaccins (het meest) werkzaam zijn, gebruiken we de muis als model voor de mens. Als muizen worden besmet met een influenzavirus krijgen ze een longontsteking en worden ze ziek, vergelijkbaar met mensen met longontsteking volgend op een influenzavirus infectie. Als het vaccin kan voorkomen dat de muizen ziek worden, heeft dit voorspellende waarde voor de werking van het vaccin bij mensen.
- Er zullen naar schatting 3200 muizen per jaar worden gebruikt.

- 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? Het vaccin wordt toegediend via een injectie in de pootspier of in druppelvorm via de neus. Voor besmetting met influenzavirus worden de muizen eerst onder narcose gebracht en dan wordt een kleine hoeveelheid vloeistof met virus in de neus gedruppeld. De muizen kunnen na de besmetting ernstig ziek worden. Ze hebben minder eetlust, gaan bol zitten als teken van algehele malaise en vertonen ademhalingsproblemen.
- 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? Naar verwachting zal de verdeling van ongerief over het totale aantal dieren zo zijn: 30% ernstig en 70% matig. De ziekteverschijnselen optredend na de influenzavirus infectie zijn grotendeels bepalend voor het ongerief. Deze zijn ernstiger naarmate een hogere dosis van het virus wordt toegediend. In vaccinatiestudies worden de dieren niet ziek als het vaccin goed beschermt en is het ongerief matig; als het vaccin niet/minder goed werkt, worden de dieren wel ziek en loopt het ongerief op tot ernstig.
- 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop? De dieren worden na afloop geëuthanaseerd. Ze kunnen niet meer in andere proeven worden gebruikt, omdat ze zijn besmet met griepvirussen die ook besmettelijk zijn voor de mens.

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. Met de huidige stand van de wetenschap is het niet mogelijk om de beschermende werking van vaccins zonder gebruik van proefdieren te bepalen. We zijn nog niet in staat om de reactie van het afweersysteem (immuunsysteem) van een levend wezen op een vaccin of een virus in het laboratorium volledig na te bootsen. Er wordt wel geprobeerd, ook in dit project, om de werking van nieuwe kandidaat vaccins eerst in het laboratorium te voorspellen, bijvoorbeeld door te kijken of de antistoffen, die de muis aanmaakt na vaccinatie, in staat zijn om de vermenigvuldiging van verschillende influenzavirussen in celkweek te voorkomen. Er worden ook computerprogramma's gebruikt om met behulp van de bestaande kennis van de structuur van het influenzavirus een goed ontwerp te maken van het eiwit dat in het vaccin moet worden gebruikt.
- 4.2 **Vermindering**
Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt. Voordat influenzavaccins worden getest in dieren, worden ze eerst uitvoerig getest in het lab, alleen de meest veelbelovende vaccins zullen worden getest in dieren. Het aantal benodigde dieren in de experimenten wordt uitvoerig statistisch doorgerekend, om het aantal dieren te kunnen beperken, maar tegelijkertijd wel de zekerheid te hebben dat de gegevens die uit het experiment komen, bruikbaar zijn om conclusies uit te trekken (en om zo te voorkomen dat experimenten herhaald moeten worden).
- 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 Het influenza muismodel is in de wetenschappelijke wereld geaccepteerd als geschikt diermodel voor het testen van vaccins en medicijnen voor toepassing in de mens in de eerste fase van ontwikkeling. Binnen dit project wordt al meer dan tien jaar intensief gewerkt met influenza muismodellen en deze hebben hun waarde bewezen.

[

project.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

De dieren worden onder narcose gebracht als virus moet worden toegediend in de neus. Het gedrag en de gezondheid van de dieren wordt dagelijks beoordeeld. Als de muizen griep-achtige symptomen laten zien wordt het toezicht intensiever. Wanneer de ziekte bij de muizen ernstig wordt, zullen de dieren worden geëuthanaseerd om zo onnodig lijden te voorkomen.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

Van: [redacted]@wur.nl>
Verzonden: dinsdag 23 juni 2015 9:31
Aan: ZBO-CCD
Onderwerp: FW: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Categorieën: Dossierhouder: [redacted]

Beste mijnheer [redacted]

Daar ik nog niets vernomen heb op de recentelijk gestuurde antwoorden op de vragen in uw mail van 4 juni j.l., ben ik bang dat er iets misgegaan zou kunnen zijn in het versturen van onderstaande mail. Daarom voor de zekerheid nogmaals de bewuste mail (zie hieronder).

Verder zou ik graag willen informeren naar het traject dat de bijhorende aanvraag moet doorlopen. De termijn van 20 dagen (wanneer men de aanvraag vergezeld van DEC toestemming indiende) die de vergunninghouder, IvD en samenwerkende onderzoekers mij als onderzoeker hebben voorgespiegeld is op dit moment ruimschoots overschreden. Deadlines gesteld door onze industriële partners beginnen ondertussen sterk onder druk te staan en de voortgang van dit project begint gevaar te lopen. Op het moment is het onduidelijk wat er verwacht kan worden en graag zouden wij iets te weten komen over de voortgang van de aanvraag?

Bij voorbaat dank!

Met Vriendelijke Groeten,

[redacted]

[redacted]

 P.O. Box 65
[redacted]
 Branch office
[redacted]
The Netherlands
 [redacted]
 [redacted]
 [redacted]@wur.nl
 [redacted]

De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit

* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

* This message is intended exclusively for the addressee. It may contain information that is confidential. Any use or publication of this e-mail message without permission of Animal Sciences Group, Wageningen UR is not allowed. If you are not the intended recipient please notify us and destroy this message.

From: [redacted]
Sent: maandag 8 juni 2015 16:47
To: 'ZBO-CCD'
Subject: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte mijnheer [REDACTED]

Via dit kanaal wil ik graag reageren op in de recente mail gestelde vragen:

1.) Dat het vaccin in de toekomst ook bij mannelijke individuen wordt toegepast is in deze fase van het onderzoek nog niet aan de orde. Het onderzoek heeft tot doel om 'proof of principle', bewijs van werkzaamheid (= bescherming) aan te tonen, waarbij de muis wordt 'gebruikt' als 'immuun-competent systeem'. Het is niet waarschijnlijk dat het geslacht van de muizen van invloed is op de uiteindelijke conclusies t.a.v. de potentiële werkzaamheid van het vaccin. Het is wel goed mogelijk dat de mannelijke respons (klinisch en immunologisch) op vaccinatie en infectie afwijkt van de vrouwelijke.

Bij nader inzien had in de projectaanvraag beter kunnen staan: "*zoals in al onze vorige experimenten*". Uit de literatuur blijkt dat de meeste vaccinonderzoeken bij vrouwelijke dieren worden uitgevoerd, maar er zijn inderdaad ook studies die daarvoor mannelijke dieren gebruiken. We hadden in ons onderzoek ook met mannelijke muizen kunnen werken, ook al heeft dat nadelen zoals we eerder hebben opgemerkt (e-mail correspondentie d.d. 20 mei 2015).

Voor evenredig gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren, zouden we met gemengde populaties kunnen werken. Alleen niet in vaccinproeven, omdat de muizen hierin de leeftijd van geslachtsrijpheid bereiken. Wij kunnen in de literatuur geen vaccinstudies vinden, waarin zowel mannelijke als vrouwelijke muizen worden gebruikt.

Een alternatieve mogelijkheid is om groepen met alleen vrouwtjes of alleen mannetjes te gebruiken. Het is methodologisch niet verantwoord om binnen een experiment groepen van verschillend geslacht te gebruiken. Dus zouden we experimenten de ene keer met vrouwtjes en de andere keer met mannetjes moeten uitvoeren. Evenwel, het betekent dat de infectiemodellen ook in mannelijke dieren zullen moeten worden gevalideerd. En omdat de onderzoekers wel willen weten in hoeverre de resultaten onderling vergelijkbaar zijn en ook met die uit onze vorige experimenten, zal ook nog moeten worden onderzocht of de resultaten verkregen met een mannelijke groep gelijk zijn aan die met een vrouwelijke groep muizen. Als verder uit de resultaten blijkt dat de variatie tussen de groepen bij de andere sekse groter is, zal het aantal benodigde proefdieren per groep moeten worden vergroot. Dit alles overwegende vinden wij het niet verantwoord om in deze fase van ons onderzoek (zoals beschreven in de projectaanvraag) de sekse van de proefdieren te veranderen.

Nieuwe geneesmiddelen worden vooral op mannelijke proefdieren getest. Vanwege de grotere vraag naar mannelijke dieren is er een 'biologisch overschot' aan vrouwtjes (verkeerde sekse wordt in ca. 23% als reden genoemd voor overcompleteet = "dood in voorraad" (Rapport werkgroep Dood in voorraad (NVWA, Ministerie van EZ, 2013).

De vrouwtjes worden uiteindelijk doodgemaakt, en dan nog gebruikt voor experimenten met dood materiaal, of als diervoer.

Bij proefdierleveranciers is sprake van een surplus aan vrouwelijke muizen. Met het oog daarop worden wetenschappers opgeroepen om, als het kan, vrouwelijke proefdieren te gebruiken. Op basis hiervan vinden de onderzoekers het verantwoord om ook in het vervolgonderzoek enkel vrouwelijke muizen te gebruiken en menen zij daarmee, weliswaar indirect, te kunnen voldoen aan hun "ketenverantwoordelijkheid".

2.) Hieronder een opsomming van het cumulatieve ongerief in de genoemde experimenten:

Experiment 2:

Het is niet duidelijk van te voren te voorspellen, hoe snel het virus zich zal aanpassen aan de nieuwe gastheer en hoe virulent dit virus dan zal zijn en hoe zich dat precies op welk tijdstip zal vertalen in ongerief voor de betrokken dieren. Het is niet ondenkbaar dat de eerste groepen dieren geen tot zeer geringe symptomen van infectie laten zien, omdat het virus nog niet voldoende is aangepast aan de gastheer. In latere adaptatieronden zullen de symptomen over het algemeen ernstiger van aard zijn en daarmee ook het ondervonden ongerief. Echter leert onze ervaring dat het ook wel eens voorkomt dat dieren bij de eerste ronde al symptomen laten zien en ernstig ongerief ondervinden van de infectie. Aangezien dit laatste een mogelijkheid is en de dieren in kwestie geen bescherming genieten, is er van uitgegaan dat het verstandig is het zekere voor het onzekere te nemen en aan te nemen dat

de dieren ernstig ongerief ondervinden. Hetgeen is weergegeven in de aanvraag als: Cumulatieve ongerief: ernstig.

Experiment 3:

De dieren dit in dit experiment de hoogste dosis virus toegediend krijgen, zullen zeker ernstig ongerief ondervinden. Als de toegepaste dosisreeks virus goed wordt ingeschat, zal er een omslagpunt in de reeks zitten. Lagere dosis virus, vertaald zich in minder symptomen en een lager ongerief niveau. Echter is van te voren niet met zekerheid te zeggen dat dit ook zo zal plaatsvinden, hieruit komt ook de noodzaak van het experiment voort. Als de dosisreeks ideaal ingeschat wordt over 5 stappen, zal het ongerief globaal ingeschat als volgt verlopen in een experiment met 5 groepen met een virusdosis van hoog naar laag:

Groep 1 (hoogste concentratie virus): 100% ernstig ongerief;

Groep 2: 80-90% ernstig ongerief/10-20% matig ongerief;

Groep 3: 60-70% ernstig ongerief/30-40% matig ongerief;

Groep 4: 30-50% ernstig ongerief/50-70% matig ongerief;

Groep 5 (laagste concentratie virus): 10-30% ernstig ongerief/70-90% matig ongerief.

Experiment 4:

Antilichaam behandelde groepen: 50% van de dieren: maximaal cumulatief ongerief: matig.

PBS behandelde groepen: 50% van de dieren, maximaal cumulatief ongerief: ernstig.

Experiment 5:

Deel I: 100% van de dieren maximaal cumulatief ongerief: matig.

Deel II: Voor de percentages is aangenomen dat een experiment wordt gedaan met 5 groepen van 10 dieren.

Antilichaamcontrole groep (ca. 20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: matig

Negatieve (onbehandelde) controlegroep (ca. 20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: ernstig

Overige groepen van de dieren die behandeld worden met antiserum (ca. 60% van dieren): maximaal cumulatief ongerief: matig (uit ervaring). Echter als een serum geen bescherming biedt zou het ongerief daardoor kunnen oplopen naar ernstig. Dit is tot nu toe nog nooit voorgekomen in de praktijk, omdat de onderzoekers geïnteresseerd zijn in het werkingsmechanisme van vaccins waarvan experimenteel is vastgesteld van deze effectief zijn. Het is echter niet ondenkbaar, op theoretische gronden, dat een serum helemaal niet beschermd, omdat de bescherming niet gestoeld is op antilichamen.

Experiment 7:

Voor percentage is uitgegaan van fictief experiment met 5 groepen van 10 dieren.

Negatieve (ongevaccineerde) controle (20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: ernstig;

Positieve (antilichaam behandelde) controle (20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: matig;

Experimentele gevaccineerde groepen (60% van de dieren in proef): maximaal cumulatief: matig. Als in het ergste geval de bescherming door vaccinatie uitblijft door interferentie voor al bestaande immuniteit, kan dit oplopen tot ernstig ongerief. De kans hierop wordt door de onderzoekers als zeer klein geschat, maar vanwege de uitdrukkelijke vragen van de registratieautoriteiten en FDA dient dit experimenteel worden uitgesloten.

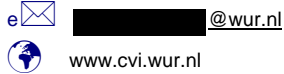
Ik hoop dat dit een antwoord geeft op de gestelde vragen. Mochten er nog vragen of onduidelijkheden zijn, dan hoor ik dat graag.

Met Vriendelijke Groeten,

[Redacted signature]

[Redacted signature]





De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit

* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

* This message is intended exclusively for the addressee. It may contain information that is confidential. Any use or publication of this e-mail message without permission of Animal Sciences Group, Wageningen UR is not allowed. If you are not the intended recipient please notify us and destroy this message.

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]

Sent: donderdag 4 juni 2015 16:03

To: [REDACTED]

Subject: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte [REDACTED]

Zonet heb ik u getelefoneerd op het nr. [REDACTED], maar ik kreeg geen gehoor. Vandaar deze mail.

De Commissie had nog een aantal vragen:

- 1) Uw argumentatie om geen mannelijke muizen te gebruiken heeft de Commissie niet overtuigd. Zij vraagt u om dit wetenschappelijk te onderbouwen, bij voorbeeld aan de hand van enkele literatuurreferenties. Daarnaast wijst de Commissie u ook op de ketenverantwoordelijkheid: u zou moeten kunnen aantonen dat de 16.000 mannelijke muizen (die geboren zijn naast de 16.000 vrouwelijke muizen die u wenst te gebruiken) niet in voorraad gedood worden.
- 2) Bij dierproeven 2, 3, 4, 5 & 7 heeft u niet eenduidig weergegeven welk aantal (of welk percentage) dieren welk cumulatief ongerief zullen ondergaan. Kunt u ons deze gegevens aanleveren?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.

Vriendelijke groet

[REDACTED]
Senior Adviseur

Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag

Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Van: [redacted] [mailto:[redacted]@wur.nl]

Verzonden: woensdag 20 mei 2015 15:04

Aan: ZBO-CCD

Onderwerp: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte Adviseur [redacted]

Vervelend dat het niet lukte om mij telefonisch te pakken te krijgen. Dank voor uw mail. Hierbij mijn antwoorden op de vragen.

- Er zijn aantal redenen te nomen waarom mannelijke muizen minder wenselijk zijn dan vrouwelijke, hier volgen er een aantal. Bij mannelijke muizen komen ontstekingen aan de voorhuid veelvuldig voor, welke de immuun status van de dieren verandert en de interpretatie van testresultaten bemoeilijkt. De verdeling van muizen over de kooien is willekeurig, om geen statistische bias in te bouwen. Mannetjes zijn meer geneigd elkaar dood te vechten (zeker als deze geen nestgenoten zijn), wat leidt tot onvoorziene sterfte en stress, hetgeen logischerwijs invloed heeft op de uitkomsten van het onderzoek. Ook het bij elkaar huisvesten van zowel mannetjes als vrouwtjes zal voor additionele onrust en stress leiden en bij iets langduriger experimenten (4 maanden is niet uitzonderlijk) ook nog tot ongewenste zwangerschappen leidt, die dit zal de immuun status van de bewuste dieren negatief zal beïnvloeden en de interpretatie van de resultaten bemoeilijken. Al deze factoren gecombineerd geven zoveel ruis/verstoring van de resultaten dat als hier voor gecompenseerd dient te worden de groepsgroottes zoveel groter moeten zijn, dat het gebruik van alleen vrouwelijke dieren als legitiem gezien wordt.
- Het is ons duidelijk dat de gekozen uitleesparameters scherp zijn gesteld. Hierover is al veelvuldig gediscussieerd tussen de onderzoekers binnen het project, met andere collega-onderzoekers, met de DEC, etc.. Bij meta-analyse van de experimentele data van eerdere experimenten blijkt keer op keer dat waardevolle informatie verloren gaat als eerder dan score [redacted] geëuthanaseerd wordt. In bijgesloten PDF zijn meta-analyses van 2 afzonderlijke experimenten te zien die dit illustreren. In dit geval was de aanname dat euthanasie zou moeten plaatsvinden als dieren 2x een klinische score [redacted] hebben. Wat blijkt is dat waardevolle informatie verloren gaat uit de experimentele data. Dit zou betekenen dat er meer dieren per experiment zouden moeten zitten en dat er meer experimenten gedaan zouden moeten worden om op hetzelfde kennisniveau te bereiken. Gezien het feit dat reductie van aantal gebruikte proefdieren een van doelstellingen is en wettelijk verplicht werd dit niet gezien als een levensvatbare optie. Bij de door u voorgestelde euthanasie bij klinische score [redacted] zou dit effect nog groter zijn. Het is in de praktijk zo dat dieren die een score [redacted] laten zien na influenza infectie, na geslaagde vaccinatie, herstellen en zo bijdragen aan waardevolle experimentele data. Het bovenstaande geldt eigenlijk voor alle experimenten en alle diergroepen in de aanvraag. Spontane sterfte is, jammer genoeg, niet uit te sluiten bij deze experimenten. Maar als de klinische scores [redacted] bereiken, wordt het toezicht op de dieren geïntensifieerd. Als een score [redacted] wordt vastgesteld, zal direct worden overgagaan tot euthanasie. Om zodoende het kans op spontane sterfte te verkleinen.

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd. Mochten er nog onduidelijkheden of vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met Vriendelijke Groeten,

[redacted]

[redacted]



P.O. Box 65



Branch office

[redacted]



De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit

* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

* This message is intended exclusively for the addressee. It may contain information that is confidential. Any use or publication of this e-mail message without permission of Animal Sciences Group, Wageningen UR is not allowed. If you are not the intended recipient please notify us and destroy this message.

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]

Sent: woensdag 20 mei 2015 11:03

To: ██████████

Subject: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte ██████████

Ik had nog enkele vragen bij uw projectaanvraag **AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins**. Ik heb geprobeerd u telefonisch te contacteren op het nr. ██████████ maar ik kreeg geen gehoor. Daarom zend ik u deze mail.

- Waarom worden enkel vrouwelijke muizen gebruikt? De influenzavaccins zullen uiteindelijk toch ook aan mannen en jongens toegediend worden? Daarnaast dreigen de gefokte mannelijke muizen als ongebruikt surplusdier afgevoerd te worden. U schrijft wel "zoals in alle vorige experimenten", maar een supersnelle scan door publicaties van andere onderzoeksgroepen leert me dat zij zowel met mannelijke als met vrouwelijke dieren werken.
- Volgens de Wod, Artikel 13b moet
 - o 1. De dood als eindpunt van een dierproef wordt zoveel mogelijk vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten.
 - o 2. Wanneer de dood als eindpunt van een dierproef onvermijdelijk is, wordt de dierproef zo opgezet dat:
 - a. zo weinig mogelijk dieren sterven; en
 - b. de duur en intensiteit van het lijden van het dier zo gering mogelijk worden gehouden en de dood voor zover mogelijk, pijnloos is.

Bij dierproeven 1, 3, 4, 5, 6 & 7 staat overleving als primaire uitleesparameter. Zijn er geen andere (klinische of niet-klinische) parameters denkbaar die (voor)tijdig de HEP aankondigen en dus spontane sterfte kunnen vermijden? Te denken valt aan lichaamstemperatuur of lichaamsgewicht. Zie ook: <http://www.humane-endpoints.info> Bijkomende vraag is of het nodig is voor het onderzoek om de dieren score 4 te laten bereiken. Zou het doel van de proef niet behaald kunnen worden wanneer de dieren al geëuthanaseerd worden bij score 3? Dan hoeven de dieren wellicht ook geen ernstig ongerief te ondergaan. In dierproef 6 (onder C. Hergebruik) schrijft u dat dieren in een vroeger stadium euthanaseren de resolutie van de experimenten enorm zal doen laten afnemen. Geldt dit voor alle hier aangevraagde dierproeven? En ook voor de dieren uit de negatieve controlegroep?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen, bij voorkeur zo snel mogelijk. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.

Vriendelijke groet


Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

[REDACTED]

Van: ZBO-CCD
Verzonden: donderdag 4 juni 2015 16:03
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte [REDACTED]

Zonet heb ik u getelefoneerd op het nr. [REDACTED] maar ik kreeg geen gehoor. Vandaar deze mail.

De Commissie had nog een aantal vragen:

- 1) Uw argumentatie om geen mannelijke muizen te gebruiken heeft de Commissie niet overtuigd. Zij vraagt u om dit wetenschappelijk te onderbouwen, bij voorbeeld aan de hand van enkele literatuurreferenties. Daarnaast wijst de Commissie u ook op de ketenverantwoordelijkheid: u zou moeten kunnen aantonen dat de 16.000 mannelijke muizen (die geboren zijn naast de 16.000 vrouwelijke muizen die u wenst te gebruiken) niet in voorraad gedood worden.
- 2) Bij dierproeven 2, 3, 4, 5 & 7 heeft u niet eenduidig weergegeven welk aantal (of welk percentage) dieren welk cumulatief ongerief zullen ondergaan. Kunt u ons deze gegevens aanleveren?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.

Vriendelijke groet

[REDACTED]
Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Van: [REDACTED] [mailto:[REDACTED]@wur.nl]

Verzonden: woensdag 20 mei 2015 15:04

Aan: ZBO-CCD

Onderwerp: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte Adviseur [REDACTED],

Vervelend dat het niet lukte om mij telefonisch te pakken te krijgen. Dank voor uw mail. Hierbij mijn antwoorden op de vragen.

- Er zijn aantal redenen te nomen waarom mannelijke muizen minder wenselijk zijn dan vrouwelijke, hier volgen er een aantal. Bij mannelijke muizen komen ontstekingen aan de voorhuid veelvuldig voor, welke de immuun status van de dieren veranderd en de interpretatie van testresultaten bemoeilijkt. De verdeling van muizen over de kooien is willekeurig, om geen statistische bias in te bouwen. Mannetjes zijn meer geneigd elkaar dood te vechten (zeker als deze geen nestgenoten zijn), wat leidt tot onvoorziene sterfte en stress, hetgeen logischerwijs invloed heeft op de uitkomsten van het onderzoek. Ook het bij elkaar huisvesten van zowel mannetjes als vrouwtjes zal voor additionele onrust en stress leiden en bij iets langduriger experimenten (4 maanden is niet uitzonderlijk) ook nog tot ongewenste zwangerschappen leidt, die dit zal de immuun status van de bewuste dieren negatief zal beïnvloeden en de interpretatie van de resultaten bemoeilijken. Al deze factoren gecombineerd geven zoveel ruis/verstoring van de resultaten dat als hier voor gecompenseerd dient te worden de groepsgroottes zoveel groter moeten zijn, dat het gebruik van alleen vrouwelijke dieren als legitiem gezien wordt.
- Het is ons duidelijk dat de gekozen uitleesparameters scherp zijn gesteld. Hierover is al veelvuldig gediscussieerd tussen de onderzoekers binnen het project, met andere collega-onderzoekers, met de DEC, etc.. Bij meta-analyse van de experimentele data van eerdere experimenten blijkt keer op keer dat waardevolle informatie verloren gaat als eerder dan score █ geëuthanaseerd wordt. In bijgesloten PDF zijn meta-analyses van 2 afzonderlijke experimenten te zien die dit illustreren. In dit geval was de aanname dat euthanasie zou moeten plaatsvinden als dieren 2x een klinische score █ hebben. Wat blijkt is dat waardevolle informatie verloren gaat uit de experimentele data. Dit zou betekenen dat er meer dieren per experiment zouden moeten zitten en dat er meer experimenten gedaan zouden moeten worden om op hetzelfde kennisniveau te bereiken. Gezien het feit dat reductie van aantal gebruikte proefdieren een van doelstellingen is en wettelijk verplicht werd dit niet gezien als een levensvatbare optie. Bij de door u voorgestelde euthanasie bij klinische score █ zou dit effect nog groter zijn. Het is in de praktijk zo dat dieren die een score █ laten zien na influenza infectie, na geslaagde vaccinatie, herstellen en zo bijdragen aan waardevolle experimentele data. Het bovenstaande geldt eigenlijk voor alle experimenten en alle diergroepen in de aanvraag. Spontane sterfte is, jammer genoeg, niet uit te sluiten bij deze experimenten. Maar als de klinische scores █ bereiken, wordt het toezicht op de dieren geïntensifieerd. Als een score █ wordt vastgesteld, zal direct worden overgegaan tot euthanasie. Om zodoende het kans op spontane sterfte te verkleinen.

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd. Mochten er nog onduidelijkheden of vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met Vriendelijke Groeten,



 P.O. Box 65
 Branch office
The Netherlands

 @wur.nl
 www.cvi.wur.nl

De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit

* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]

Sent: woensdag 20 mei 2015 11:03

To: [REDACTED]

Subject: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte [REDACTED]

Ik had nog enkele vragen bij uw projectaanvraag **AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins**. Ik heb geprobeerd u telefonisch te contacteren op het nr. [REDACTED], maar ik kreeg geen gehoor. Daarom zend ik u deze mail.

- Waarom worden enkel vrouwelijke muizen gebruikt? De influenzavaccins zullen uiteindelijk toch ook aan mannen en jongens toegediend worden? Daarnaast dreigen de gefokte mannelijke muizen als ongebruikt surplusdier afgevoerd te worden. U schrijft wel "zoals in alle vorige experimenten", maar een supersnelle scan door publicaties van andere onderzoeksgroepen leert me dat zij zowel met mannelijke als met vrouwelijke dieren werken.
- Volgens de Wod, Artikel 13b moet
 - o 1. De dood als eindpunt van een dierproef wordt zoveel mogelijk vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten.
 - o 2. Wanneer de dood als eindpunt van een dierproef onvermijdelijk is, wordt de dierproef zo opgezet dat:
 - a. zo weinig mogelijk dieren sterven; en
 - b. de duur en intensiteit van het lijden van het dier zo gering mogelijk worden gehouden en de dood voor zover mogelijk, pijnloos is.

Bij dierproeven 1, 3, 4, 5, 6 & 7 staat overleving als primaire uitleesparameter. Zijn er geen andere (klinische of niet-klinische) parameters denkbaar die (voor)tijdig de HEP aankondigen en dus spontane sterfte kunnen vermijden? Te denken valt aan lichaamstemperatuur of lichaamsgewicht. Zie ook: <http://www.humane-endpoints.info> Bijkomende vraag is of het nodig is voor het onderzoek om de dieren score 4 te laten bereiken. Zou het doel van de proef niet behaald kunnen worden wanneer de dieren al geëuthanaseerd worden bij score 3? Dan hoeven de dieren wellicht ook geen ernstig ongerief te ondergaan. In dierproef 6 (onder C. Hergebruik) schrijft u dat dieren in een vroeger stadium euthanaseren de resolutie van de experimenten enorm zal doen laten afnemen. Geldt dit voor alle hier aangevraagde dierproeven? En ook voor de dieren uit de negatieve controlegroep?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen, bij voorkeur zo snel mogelijk. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.

Vriendelijke groet

[REDACTED]
Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

[REDACTED]

Van: [REDACTED]@wur.nl>
Verzonden: woensdag 20 mei 2015 15:04
Aan: ZBO-CCD
Onderwerp: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins
Bijlagen: Response to question DEC [REDACTED] as humane endpoint.pdf

Geachte Adviseur [REDACTED]

Vervelend dat het niet lukte om mij telefonisch te pakken te krijgen. Dank voor uw mail. Hierbij mijn antwoorden op de vragen.

- Er zijn aantal redenen te nomen waarom mannelijke muizen minder wenselijk zijn dan vrouwelijke, hier volgen er een aantal. Bij mannelijke muizen komen ontstekingen aan de voorhuid veelvuldig voor, welke de immuun status van de dieren veranderd en de interpretatie van testresultaten bemoeilijkt. De verdeling van muizen over de kooien is willekeurig, om geen statistische bias in te bouwen. Mannetjes zijn meer geneigd elkaar dood te vechten (zeker als deze geen nestgenoten zijn), wat leidt tot onvoorziene sterfte en stress, hetgeen logischerwijs invloed heeft op de uitkomsten van het onderzoek. Ook het bij elkaar huisvesten van zowel mannetjes als vrouwtjes zal voor additionele onrust en stress leiden en bij iets langduriger experimenten (4 maanden is niet uitzonderlijk) ook nog tot ongewenste zwangerschappen leidt, die dit zal de immuun status van de bewuste dieren negatief zal beïnvloeden en de interpretatie van de resultaten bemoeilijken. Al deze factoren gecombineerd geven zoveel ruis/verstoring van de resultaten dat als hier voor gecompenseerd dient te worden de groepsgroottes zoveel groter moeten zijn, dat het gebruik van alleen vrouwelijke dieren als legitiem gezien wordt.
- Het is ons duidelijk dat de gekozen uitleesparameters scherp zijn gesteld. Hierover is al veelvuldig gediscussieerd tussen de onderzoekers binnen het project, met andere collega-onderzoekers, met de DEC, etc.. Bij meta-analyse van de experimentele data van eerdere experimenten blijkt keer op keer dat waardevolle informatie verloren gaat als eerder dan score [REDACTED] geëuthanaseerd wordt. In bijgesloten PDF zijn meta-analyses van 2 afzonderlijke experimenten te zien die dit illustreren. In dit geval was de aanname dat euthanasie zou moeten plaatsvinden als dieren 2x een klinische score [REDACTED] hebben. Wat blijkt is dat waardevolle informatie verloren gaat uit de experimentele data. Dit zou betekenen dat er meer dieren per experiment zouden moeten zitten en dat er meer experimenten gedaan zouden moeten worden om op hetzelfde kennisniveau te bereiken. Gezien het feit dat reductie van aantal gebruikte proefdieren een van doelstellingen is en wettelijk verplicht werd dit niet gezien als een levensvatbare optie. Bij de door u voorgestelde euthanasie bij klinische score [REDACTED] zou dit effect nog groter zijn. Het is in de praktijk zo dat dieren die een score [REDACTED] laten zien na influenza infectie, na geslaagde vaccinatie, herstellen en zo bijdragen aan waardevolle experimentele data. Het bovenstaande geldt eigenlijk voor alle experimenten en alle diergroepen in de aanvraag. Spontane sterfte is, jammer genoeg, niet uit te sluiten bij deze experimenten. Maar als de klinische scores [REDACTED] bereiken, wordt het toezicht op de dieren geïntensifieerd. Als een score [REDACTED] wordt vastgesteld, zal direct worden overgagaan tot euthanasie. Om zodoende het kans op spontane sterfte te verkleinen.

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd. Mochten er nog onduidelijkheden of vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met Vriendelijke Groeten,

De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit

* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

* This message is intended exclusively for the addressee. It may contain information that is confidential. Any use or publication of this e-mail message without permission of Animal Sciences Group, Wageningen UR is not allowed. If you are not the intended recipient please notify us and destroy this message.

From: ZBO-CCD [mailto:ZBO-CCD@minez.nl]
Sent: woensdag 20 mei 2015 11:03
To: [REDACTED]
Subject: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte [REDACTED]

Ik had nog enkele vragen bij uw projectaanvraag **AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins**. Ik heb geprobeerd u telefonisch te contacteren op het nr. [REDACTED], maar ik kreeg geen gehoor. Daarom zend ik u deze mail.

- Waarom worden enkel vrouwelijke muizen gebruikt? De influenzavaccins zullen uiteindelijk toch ook aan mannen en jongens toegediend worden? Daarnaast dreigen de gefokte mannelijke muizen als ongebruikt surplusdier afgevoerd te worden. U schrijft wel "zoals in alle vorige experimenten", maar een supersnelle scan door publicaties van andere onderzoeksgroepen leert me dat zij zowel met mannelijke als met vrouwelijke dieren werken.
- Volgens de Wod, Artikel 13b moet
 - o 1. De dood als eindpunt van een dierproef wordt zoveel mogelijk vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten.
 - o 2. Wanneer de dood als eindpunt van een dierproef onvermijdelijk is, wordt de dierproef zo opgezet dat:
 - a. zo weinig mogelijk dieren sterven; en
 - b. de duur en intensiteit van het lijden van het dier zo gering mogelijk worden gehouden en de dood voor zover mogelijk, pijnloos is.

Bij dierproeven 1, 3, 4, 5, 6 & 7 staat overleving als primaire uitleesparameter. Zijn er geen andere (klinische of niet-klinische) parameters denkbaar die (voor)tijdig de HEP aankondigen en dus spontane sterfte kunnen vermijden? Te denken valt aan lichaamstemperatuur of lichaamsgewicht. Zie ook: <http://www.humane-endpoints.info> Bijkomende vraag is of het nodig is voor het onderzoek om de dieren score 4 te laten bereiken. Zou het doel van de proef niet behaald kunnen worden wanneer de dieren al geëuthanaseerd worden bij score 3? Dan hoeven de dieren wellicht ook geen ernstig ongerief te ondergaan. In dierproef 6 (onder C. Hergebruik) schrijft u dat dieren in een vroeger stadium euthanaseren de resolutie van de experimenten enorm zal doen laten afnemen. Geldt dit voor alle hier aangevraagde dierproeven? En ook voor de dieren uit de negatieve controlegroep?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen, bij voorkeur zo snel mogelijk. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.

Vriendelijke groet


Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Van: [REDACTED]@wur.nl>
Verzonden: maandag 8 juni 2015 16:47
Aan: ZBO-CCD
Onderwerp: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte mijnheer [REDACTED]

Via dit kanaal wil ik graag reageren op in de recente mail gestelde vragen:

1.) Dat het vaccin in de toekomst ook bij mannelijke individuen wordt toegepast is in deze fase van het onderzoek nog niet aan de orde. Het onderzoek heeft tot doel om 'proof of principle', bewijs van werkzaamheid (= bescherming) aan te tonen, waarbij de muis wordt 'gebruikt' als 'immuun-competent systeem'. Het is niet waarschijnlijk dat het geslacht van de muizen van invloed is op de uiteindelijke conclusies t.a.v. de potentiële werkzaamheid van het vaccin. Het is wel goed mogelijk dat de mannelijke respons (klinisch en immunologisch) op vaccinatie en infectie afwijkt van de vrouwelijke.

Bij nader inzien had in de projectaanvraag beter kunnen staan: "*zoals in al onze vorige experimenten*". Uit de literatuur blijkt dat de meeste vaccinonderzoeken bij vrouwelijke dieren worden uitgevoerd, maar er zijn inderdaad ook studies die daarvoor mannelijke dieren gebruiken. We hadden in ons onderzoek ook met mannelijke muizen kunnen werken, ook al heeft dat nadelen zoals we eerder hebben opgemerkt (e-mail correspondentie d.d. 20 mei 2015).

Voor evenredig gebruik van mannelijke en vrouwelijke dieren, zouden we met gemengde populaties kunnen werken. Alleen niet in vaccinproeven, omdat de muizen hierin de leeftijd van geslachtsrijpheid bereiken. Wij kunnen in de literatuur geen vaccinstudies vinden, waarin zowel mannelijke als vrouwelijke muizen worden gebruikt.

Een alternatieve mogelijkheid is om groepen met alleen vrouwtjes of alleen mannetjes te gebruiken. Het is methodologisch niet verantwoord om binnen een experiment groepen van verschillend geslacht te gebruiken. Dus zouden we experimenten de ene keer met vrouwtjes en de andere keer met mannetjes moeten uitvoeren. Evenwel, het betekent dat de infectiemodellen ook in mannelijke dieren zullen moeten worden gevalideerd. En omdat de onderzoekers wel willen weten in hoeverre de resultaten onderling vergelijkbaar zijn en ook met die uit onze vorige experimenten, zal ook nog moeten worden onderzocht of de resultaten verkregen met een mannelijke groep gelijk zijn aan die met een vrouwelijke groep muizen. Als verder uit de resultaten blijkt dat de variatie tussen de groepen bij de andere sekse groter is, zal het aantal benodigde proefdieren per groep moeten worden vergroot. Dit alles overwegende vinden wij het niet verantwoord om in deze fase van ons onderzoek (zoals beschreven in de projectaanvraag) de sekse van de proefdieren te veranderen.

Nieuwe geneesmiddelen worden vooral op mannelijke proefdieren getest. Vanwege de grotere vraag naar mannelijke dieren is er een 'biologisch overschot' aan vrouwtjes (verkeerde sekse wordt in ca. 23% als reden genoemd voor overcomplete = "dood in voorraad" (Rapport werkgroep Dood in voorraad (NVWA, Ministerie van EZ, 2013).

De vrouwtjes worden uiteindelijk doodgemaakt, en dan nog gebruikt voor experimenten met dood materiaal, of als diervoer.

Bij proefdierleveranciers is sprake van een surplus aan vrouwelijke muizen. Met het oog daarop worden wetenschappers opgeroepen om, als het kan, vrouwelijke proefdieren te gebruiken. Op basis hiervan vinden de onderzoekers het verantwoord om ook in het vervolgonderzoek enkel vrouwelijke muizen te gebruiken en menen zij daarmee, weliswaar indirect, te kunnen voldoen aan hun "ketenverantwoordelijkheid".

2.) Hieronder een opsomming van het cumulatieve ongerief in de genoemde experimenten:

Experiment 2:

Het is niet duidelijk van te voren te voorspellen, hoe snel het virus zich zal aanpassen aan de nieuwe gastheer en hoe virulent dit virus dan zal zijn en hoe zich dat precies op welk tijdstip zal vertalen in ongerief voor de betrokken dieren. Het is niet ondenkbaar dat de eerste groepen dieren geen tot zeer geringe symptomen van infectie laten zien, omdat het virus nog niet voldoende is aangepast aan de gastheer. In latere adaptatieronden zullen de symptomen over het algemeen ernstiger van aard zijn en daarmee ook het ondervonden ongerief. Echter leert onze ervaring dat het ook wel eens voorkomt dat dieren bij de eerste ronde al symptomen laten zien en ernstig ongerief ondervinden van de infectie. Aangezien dit laatste een mogelijkheid is en de dieren in kwestie geen bescherming genieten, is er van uitgegaan dat het verstandig is het zekere voor het onzekere te nemen en aan te nemen dat de dieren ernstig ongerief ondervinden. Hetgeen is weergegeven in de aanvraag als: Cumulatieve ongerief: ernstig.

Experiment 3:

De dieren dit in dit experiment de hoogste dosis virus toegediend krijgen, zullen zeker ernstig ongerief ondervinden. Als de toegepaste dosisreeks virus goed wordt ingeschat, zal er een omslagpunt in de reeks zitten. Lagere dosis virus, vertaald zich in minder symptomen en een lager ongerief niveau. Echter is van te voren niet met zekerheid te zeggen dat dit ook zo zal plaatsvinden, hieruit komt ook de noodzaak van het experiment voort. Als de dosisreeks ideaal ingeschat wordt over 5 stappen, zal het ongerief globaal ingeschat als volgt verlopen in een experiment met 5 groepen met een virusdosis van hoog naar laag:

Groep 1 (hoogste concentratie virus): 100% ernstig ongerief;

Groep 2: 80-90% ernstig ongerief/10-20% matig ongerief;

Groep 3: 60-70% ernstig ongerief/30-40% matig ongerief;

Groep 4: 30-50% ernstig ongerief/50-70% matig ongerief;

Groep 5 (laagste concentratie virus): 10-30% ernstig ongerief/70-90% matig ongerief.

Experiment 4:

Antilichaam behandelde groepen: 50% van de dieren: maximaal cumulatief ongerief: matig.

PBS behandelde groepen: 50% van de dieren, maximaal cumulatief ongerief: ernstig.

Experiment 5:

Deel I: 100% van de dieren maximaal cumulatief ongerief: matig.

Deel II: Voor de percentages is aangenomen dat een experiment wordt gedaan met ■ groepen van ■ dieren.

Antilichaamcontrole groep (ca. 20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: matig

Negatieve (onbehandelde) controlegroep (ca. 20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: ernstig

Overige groepen van de dieren die behandeld worden met antiserum (ca. 60% van dieren): maximaal cumulatief ongerief: matig (uit ervaring). Echter als een serum geen bescherming biedt zou het ongerief daardoor kunnen oplopen naar ernstig. Dit is tot nu toe nog nooit voorgekomen in de praktijk, omdat de onderzoekers geïnteresseerd zijn in het werkingsmechanisme van vaccins waarvan experimenteel is vastgesteld van deze effectief zijn. Het is echter niet ondenkbaar, op theoretische gronden, dat een serum helemaal niet beschermd, omdat de bescherming niet gestoeld is op antilichamen.

Experiment 7:

Voor percentage is uitgegaan van fictief experiment met ■ groepen van ■ dieren.

Negatieve (ongevaccineerde) controle (20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: ernstig;

Positieve (antilichaam behandelde) controle (20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: matig;

Experimentele gevaccineerde groepen (60% van de dieren in proef): maximaal cumulatief: matig. Als in het ergste geval de bescherming door vaccinatie uitblijft door interferentie voor al bestaande immuniteit, kan dit oplopen tot ernstig ongerief. De kans hierop wordt door de onderzoekers als zeer klein geschat, maar vanwege de uitdrukkelijke vragen van de registratieautoriteiten en FDA dient dit experimenteel worden uitgesloten.

Ik hoop dat dit een antwoord geeft op de gestelde vragen. Mochten er nog vragen of onduidelijkheden zijn, dan hoor ik dat graag.

Met Vriendelijke Groeten,



Postbus 65
[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]@wur.nl
www.cvi.wur.nl

De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit

* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

* This message is intended exclusively for the addressee. It may contain information that is confidential. Any use or publication of this e-mail message without permission of Animal Sciences Group, Wageningen UR is not allowed. If you are not the intended recipient please notify us and destroy this message.

From: ZBO-CCD [mailto:ZBO-CCD@minez.nl]
Sent: donderdag 4 juni 2015 16:03
To: [redacted]
Subject: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte Dr. Claassen

Zonet heb ik u getelefoneerd op het nr. [redacted] maar ik kreeg geen gehoor. Vandaar deze mail.

De Commissie had nog een aantal vragen:

- 1) Uw argumentatie om geen mannelijke muizen te gebruiken heeft de Commissie niet overtuigd. Zij vraagt u om dit wetenschappelijk te onderbouwen, bij voorbeeld aan de hand van enkele literatuurreferenties. Daarnaast wijst de Commissie u ook op de ketenverantwoordelijkheid: u zou moeten kunnen aantonen dat de 16.000 mannelijke muizen (die geboren zijn naast de 16.000 vrouwelijke muizen die u wenst te gebruiken) niet in voorraad gedood worden.
- 2) Bij dierproeven 2, 3, 4, 5 & 7 heeft u niet eenduidig weergegeven welk aantal (of welk percentage) dieren welk cumulatief ongerief zullen ondergaan. Kunt u ons deze gegevens aanleveren?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.
Vriendelijke groet

[redacted]

Van: [mailto: [redacted]@wur.nl]

Verzonden: woensdag 20 mei 2015 15:04

Aan: ZBO-CCD

Onderwerp: RE: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte Adviseur [redacted]

Vervelend dat het niet lukte om mij telefonisch te pakken te krijgen. Dank voor uw mail. Hierbij mijn antwoorden op de vragen.

- Er zijn aantal redenen te nomen waarom mannelijke muizen minder wenselijk zijn dan vrouwelijke, hier volgen er een aantal. Bij mannelijke muizen komen ontstekingen aan de voorhuid veelvuldig voor, welke de immuun status van de dieren veranderd en de interpretatie van testresultaten bemoeilijkt. De verdeling van muizen over de kooien is willekeurig, om geen statistische bias in te bouwen. Mannetjes zijn meer geneigd elkaar dood te vechten (zeker als deze geen nestgenoten zijn), wat leidt tot onvoorziene sterfte en stress, hetgeen logischerwijs invloed heeft op de uitkomsten van het onderzoek. Ook het bij elkaar huisvesten van zowel mannetjes als vrouwtjes zal voor additionele onrust en stress leiden en bij iets langduriger experimenten (4 maanden is niet uitzonderlijk) ook nog tot ongewenste zwangerschappen leidt, die dit zal de immuun status van de bewuste dieren negatief zal beïnvloeden en de interpretatie van de resultaten bemoeilijken. Al deze factoren gecombineerd geven zoveel ruis/verstoring van de resultaten dat als hier voor gecompenseerd dient te worden de groepsgroottes zoveel groter moeten zijn, dat het gebruik van alleen vrouwelijke dieren als legitiem gezien wordt.
- Het is ons duidelijk dat de gekozen uitleesparameters scherp zijn gesteld. Hierover is al veelvuldig gediscussieerd tussen de onderzoekers binnen het project, met andere collega-onderzoekers, met de DEC, etc.. Bij meta-analyse van de experimentele data van eerdere experimenten blijkt keer op keer dat waardevolle informatie verloren gaat als eerder dan score [redacted] geëuthanaseerd wordt. In bijgesloten PDF zijn meta-analyses van 2 afzonderlijke experimenten te zien die dit illustreren. In dit geval was de aanname dat euthanasie zou moeten plaatsvinden als dieren 2x een klinische score [redacted] hebben. Wat blijkt is dat waardevolle informatie verloren gaat uit de experimentele data. Dit zou betekenen dat er meer dieren per experiment zouden moeten zitten en dat er meer experimenten gedaan zouden moeten worden om op hetzelfde kennisniveau te bereiken. Gezien het feit dat reductie van aantal gebruikte proefdieren een van doelstellingen is en wettelijk verplicht werd dit niet gezien als een levensvatbare optie. Bij de door u voorgestelde euthanasie bij klinische score [redacted] zou dit effect nog groter zijn. Het is in de praktijk zo dat dieren die een score [redacted] laten zien na influenza infectie, na geslaagde vaccinatie, herstellen en zo bijdragen aan waardevolle experimentele data. Het bovenstaande geldt eigenlijk voor alle experimenten en alle diergroepen in de aanvraag. Spontane sterfte is, jammer genoeg, niet uit te sluiten bij deze experimenten. Maar als de klinische scores [redacted] bereiken, wordt het toezicht op de dieren geïntensifieerd. Als een score [redacted] wordt vastgesteld, zal direct worden overgagaan tot euthanasie. Om zodoende het kans op spontane sterfte te verkleinen.

Ik hoop u hiermee voldoende te hebben geïnformeerd. Mochten er nog onduidelijkheden of vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met Vriendelijke Groeten,

[redacted]

[Redacted]

 P.O. Box 65
 Branch office
The Netherlands

 @wur.nl
 www.cvi.wur.nl

De Animal Sciences Group van Wageningen UR bestaat uit Praktijkonderzoek Veehouderij, het Nederlands Instituut voor Visserijonderzoek, Centraal Veterinair Instituut en Departement Dierwetenschappen van Wageningen Universiteit
* Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van Animal Sciences Group, Wageningen UR is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.
* This message is intended exclusively for the addressee. It may contain information that is confidential. Any use or publication of this e-mail message without permission of Animal Sciences Group, Wageningen UR is not allowed. If you are not the intended recipient please notify us and destroy this message.

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]
Sent: woensdag 20 mei 2015 11:03
To: [Redacted]
Subject: Aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte [Redacted]

Ik had nog enkele vragen bij uw projectaanvraag **AVD40100201562 Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins**. Ik heb geprobeerd u telefonisch te contacteren op het nr. [Redacted] maar ik kreeg geen gehoor. Daarom zend ik u deze mail.

- Waarom worden enkel vrouwelijke muizen gebruikt? De influenzavaccins zullen uiteindelijk toch ook aan mannen en jongens toegediend worden? Daarnaast dreigen de gefokte mannelijke muizen als ongebruikt surplusdier afgevoerd te worden. U schrijft wel “zoals in alle vorige experimenten”, maar een supersnelle scan door publicaties van andere onderzoeksgroepen leert me dat zij zowel met mannelijke als met vrouwelijke dieren werken.
- Volgens de Wod, Artikel 13b moet
 - o 1. De dood als eindpunt van een dierproef wordt zoveel mogelijk vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten.
 - o 2. Wanneer de dood als eindpunt van een dierproef onvermijdelijk is, wordt de dierproef zo opgezet dat:
 - a. zo weinig mogelijk dieren sterven; en
 - b. de duur en intensiteit van het lijden van het dier zo gering mogelijk worden gehouden en de dood voor zover mogelijk, pijnloos is.

Bij dierproeven 1, 3, 4, 5, 6 & 7 staat overleving als primaire uitleesparameter. Zijn er geen andere (klinische of niet-klinische) parameters denkbaar die (voor)tijdig de HEP aankondigen en dus spontane sterfte kunnen vermijden? Te denken valt aan lichaamstemperatuur of lichaamsgewicht. Zie ook: <http://www.humane-endpoints.info> Bijkomende vraag is of het nodig is voor het onderzoek om de dieren score 4 te laten bereiken. Zou het doel van de proef niet behaald kunnen worden wanneer de dieren al geëuthanaseerd worden bij score 3? Dan hoeven de dieren wellicht ook geen ernstig ongerief te ondergaan. In dierproef 6 (onder C. Hergebruik) schrijft u dat dieren in een vroeger stadium

euthanaseren de resolutie van de experimenten enorm zal doen laten afnemen. Geldt dit voor alle hier aangevraagde dierproeven? En ook voor de dieren uit de negatieve controlegroep?

Gelieve de ontbrekende informatie binnen veertien dagen op te sturen, bij voorkeur zo snel mogelijk. Zonder deze informatie en de leges is de aanvraag niet compleet. De behandeling van uw aanvraag wordt vanaf vandaag opgeschort tot het moment dat uw aanvraag compleet is. Zodra de aanvullingen en de leges zijn ontvangen, wordt uw aanvraag verder in behandeling genomen.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Hartelijk dank bij voorbaat.

Vriendelijke groet


Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: ZBO-CCD@minez.nl

T: 0900 28 000 28

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

[REDACTED]

Van: ZBO-CCD
Verzonden: vrijdag 5 juni 2015 11:41
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Ter informatie: Gevraagde aanvullingen projectaanvraag AVD40100201562
Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins

Geachte mevrouw [REDACTED]

Graag wil ik de DEC-DLO ter kennisgeving meedelen dat de Centrale Commissie Dierproeven nog enkele vragen heeft voorgelegd aan [REDACTED], indiener van de projectaanvraag AVD40100201562 met titel "Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins".

De Commissie vraagt de aanvrager de keuze voor enkel vrouwelijke proefdieren wetenschappelijk te motiveren en wijst de aanvrager daarbij ook op de ketenverantwoordelijkheid: voor elke vrouwelijke muis wordt er ook een mannelijke muis geboren. De Commissie is bezorgd dat (bijna) al deze mannelijke dieren in voorraad zullen gedood worden indien de aanvrager enkel vrouwelijke dieren gebruikt en vraagt hem aan te tonen dat dit niet zal gebeuren.

De Commissie vraagt de aanvrager bij dierproeven 2, 3, 4, 5 en 7 eenduidig aan te geven welk aantal (of welk percentage) dieren welk cumulatief ongerief zullen ondergaan.

Met vriendelijke groet

[REDACTED]

[REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven | www.zbo-ccd.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: filip.mulkens@rvo.nl

T: 0900 28 000 28

[REDACTED]

Van: [REDACTED]
Verzonden: maandag 29 juni 2015 16:42
Aan: [REDACTED]
Onderwerp: Terugkoppeling aanvraag projectvergunning AVD40100201562

Geachte mevrouw [REDACTED]

Op 11 mei 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project "Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins" met aanvraagnummer AVD40100201562.

De CCD heeft besloten de vergunning gedeeltelijk toe te wijzen. De aanvrager en verantwoordelijk onderzoeker zijn hierover ingelicht.

Langs deze weg willen wij u graag informeren over de gestelde vragen aan de onderzoeker:

- 1) Waarom worden enkel vrouwelijke muizen gebruikt? De influenzavaccins zullen uiteindelijk toch ook aan mannen en jongens toegediend worden? Daarnaast dreigen de gefokte mannelijke muizen als ongebruikt surplusdier afgevoerd te worden. U schrijft wel "zoals in alle vorige experimenten", maar een supersnelle scan door publicaties van andere onderzoeksgroepen leert me dat zij zowel met mannelijke als met vrouwelijke dieren werken.
- 2) Volgens de Wod, Artikel 13b moet
 - a. 1. De dood als eindpunt van een dierproef wordt zoveel mogelijk vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten.
 - b. 2. Wanneer de dood als eindpunt van een dierproef onvermijdelijk is, wordt de dierproef zo opgezet dat:
 - i. a. zo weinig mogelijk dieren sterven; en
 - ii. b. de duur en intensiteit van het lijden van het dier zo gering mogelijk worden gehouden en de dood voor zover mogelijk, pijnloos is.

Bij dierproeven 1, 3, 4, 5, 6 & 7 staat overleving als primaire uitleesparameter. Zijn er geen andere (klinische of niet-klinische) parameters denkbaar die (voor)tijdig de HEP aankondigen en dus spontane sterfte kunnen vermijden? Te denken valt aan lichaamstemperatuur of lichaamsgewicht. Zie ook: <http://www.humane-endpoints.info> Bijkomende vraag is of het nodig is voor het onderzoek om de dieren score [REDACTED] te laten bereiken. Zou het doel van de proef niet behaald kunnen worden wanneer de dieren al geëuthanaseerd worden bij score [REDACTED]? Dan hoeven de dieren wellicht ook geen ernstig ongerief te ondergaan. In dierproef 6 (onder C. Hergebruik) schrijft u dat dieren in een vroeger stadium euthanaseren de resolutie van de experimenten enorm zal doen laten afnemen. Geldt dit voor alle hier aangevraagde dierproeven? En ook voor de dieren uit de negatieve controlegroep?

- 3) Bij dierproeven 2, 3, 4, 5 & 7 heeft u niet eenduidig weergegeven welk aantal (of welk percentage) dieren welk cumulatief ongerief zullen ondergaan. Kunt u ons deze gegevens aanleveren?

Vragen 2) en 3) zijn naar voldoening beantwoord, maar voor wat vraag 1) betreft meent de CCD dat de DEC voorbijgegaan is aan het ontbreken van een wetenschappelijke onderbouwing voor het gebruik van enkel vrouwelijke dieren. Het gebruik van dieren van één sekse leidt tot het verhogen van het aantal dieren dat in voorraad gedood wordt.

De Commissie volgt de aanvrager in diens zienswijze, verwoord in diens mail d.d. 08 juni 2015, dat het niet waarschijnlijk is dat het geslacht van de muizen van invloed is op de uiteindelijke conclusies ten aanzien van de potentiële werkzaamheid van de vaccins.

Zij deelt de zienswijze van de aanvrager dat het nodig is om enkele dierproeven vooraf te valideren met mannelijke dieren, alsook bijkomende experimenten uit te voeren om te achterhalen of de

resultaten met mannelijke dieren vergelijkbaar zijn met de (historische) resultaten met vrouwelijke dieren en of de variatie bij mannelijke dieren vergelijkbaar is met deze bij vrouwelijke dieren.

Daarom staat de Commissie toe dat voor de hierboven vermelde pilotonderzoeken dierproeven uitgevoerd worden en stelt nadere voorwaarden:

- dat de groepsgrootte voor de dierproeven en de mogelijke herhaling van reeds elders uitgevoerd onderzoek uit deelproject C worden afgestemd met de IvD.
- dat voor alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen worden gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplusdieren van het mannelijke geslacht moeten gedood worden in voorraad.
- dat de aanvrager de uitkomsten van de pilotonderzoeken aan de CCD rapporteert alvorens de andere dierproeven te starten. De uitkomst van de pilotonderzoeken kan voor de Commissie aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde (om voor alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen te gebruiken) bij deze projectvergunning te handhaven, dan wel te wijzigen of in te trekken.

Tot slot willen wij u graag danken voor uw advies.

Mocht u vragen hebben over onze beslissing, dan kunt u uiteraard contact met ons opnemen.

Met vriendelijke groet,

[Redacted signature]

[Redacted signature]

Centrale Commissie Dierproeven

www.centralecommissiedierproeven.nl

Bezuidenhoutseweg 73 | 2500 AV | Den Haag
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag

E: info@zbo-ccd.nl

T: 0900 28 000 28



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---------------------------------|
| 1 | Vaccinatie/challenge experiment |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Een vaccinatie-challenge experiment is de standaard aanpak om de effectiviteit van vaccins te testen. Voor het testen van verbeterde/nieuwe influenzavaccins maken we gebruik van influenza muismodellen. Deze modellen hebben in het verleden hun waarde bewezen.

In dit type experiment worden muizen gevaccineerd met verschillende kandidaat-vaccins, variërend in dosis, vaccinatieschema, en toedieningsroute in een toedieningsregime van 1, 2 of 3 keer met 3 of 4 weken interval. Vier weken na de laatste vaccinatie volgt een challenge met influenza virus. De reactie van de muizen op de challenge wordt gedurende 3 weken gevolgd. De experimenten zijn erop gericht om te bepalen wat de optimale en minimale werkzame dosis van het vaccin is, welke vaccinsamenstelling het meest effectief is, en wat het optimale aantal vaccinaties is.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, overleving en klinische score.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Layout van typisch vaccinatie-challenge experiment:

- ca. 1 week acclimatiseren
- Bloedafname (wangprik) bij alle groepen een dag voor vaccinatie voor bepaling antilichaamtiter (preserum).
- Vaccinatie van testgroepen via intramusculaire injectie (dijbeenspier) [REDACTED]
- D-1: Toediening van [REDACTED] aan positieve model controlegroep en PBS aan negatieve controlegroep (zie opmerking 1). Bloedafname bij alle groepen voor bepalen antilichaamtiter.
- D0: [REDACTED] van een vastgestelde dosis (zie experiment type 3) influenzavirus (zie opmerking 2), onder narcose.
- D-1 t/m 21: [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
- D21: Einde proef: alle muizen worden geëuthanaseerd. In sommige gevallen worden orgaan of bloedmonsters afgenomen voor analyse

Opmerking 1:

De [REDACTED] toediening van antilichaam, welke een 100% bescherming biedt tegen ziekte en sterfte, is bedoeld als modelcontrole en gouden standaard voor bescherming (en de brug naar voorgaande experimenten). De PBS (de negatieve controle) en de [REDACTED] toediening van antilichaam (de positieve controle) geven samen overzicht over het referentiekader van 0% tot 100% bescherming tegen lethale challenge met influenza virus. Zo wordt het gebruikte modelsysteem gecontroleerd op een correcte werking.

Opmerking 2:

De toegediende influenzastam varieert, afhankelijk van het te testen vaccin en het stadium van onderzoek. In eerste instantie wordt het vaccin getest met een homologe challenge: de influenzastam is van hetzelfde type als het vaccin. Om te onderzoeken of het vaccin ook kruisbescherming levert, worden de muizen gechallenged met een heterologe virusstam, die een andere typering heeft dan het vaccinvirus. Op dit moment zijn er binnen het Instituut modellen voor een reeks aan influenzatypen beschikbaar, waaronder varianten van seizoensgriep [REDACTED] virussen en varianten van de potentieel pandemische [REDACTED] virussen van aviaire oorsprong.

In dit type experimenten worden vaccins op de volgende punten geëvalueerd:

- Samenstelling: nieuwe vaccinkandidaten worden vergeleken met de standaarden (welke?) en de leidende vaccinkandidaten.
- Dosis: de optimale vaccindosis wordt bepaald door een reeks toedieningsdoses te testen.
- Behandelfrequentie: ook het aantal benodigde toedieningen moet worden bepaald, dit varieert meestal van 1 tot 3 injecties. Tussen vaccinaties moet het immuunsysteem de tijd krijgen om de immuunreactie te laten "rijpen", in 99% van de experimenten wordt een interval van 3 of 4 weken gebruikt.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De benodigde groeps grootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de te verwachten bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Voorafgaand aan elk experiment wordt eerst een statistische analyse gemaakt om de gewenste groeps groottes te bepalen. Indien mogelijk worden experimenten zodanig opgezet dat meerdere doelstellingen in 1 experiment kunnen worden bekeken, zodat op controle groepen wordt bespaard. Bijvoorbeeld experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt wanneer mogelijk gecombineerd met andere typen experimenten als b.v. 5 of 6 (aandeel antilichaam component of cellulaire component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controle groepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo kan het totale aantal gebruikte dieren binnen het project worden verminderd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in voorgaande experimenten.

Herkomst: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf.

Geschatte aantallen: aantal dieren in experiment varieert van ■ tot maximaal ■ dieren; gemiddeld ■ studies per jaar met gemiddeld ■ dieren per experiment: ■ dieren/jaar.

Levensstadia: muizen van ca. 6 weken leeftijd.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door *in vitro* methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen en in het bijzonder van het afweersysteem (immuunsysteem) op een vaccin of virus niet gesimuleerd kan worden.

Vermindering: Voordat influenzavaccins worden getest in dieren, worden ze eerst uitvoerig getest in het lab; alleen de meest veelbelovende vaccinkandidaten zullen worden getest in dieren. Hierna wordt het aantal benodigde dieren in de experimenten uitvoerig statistisch doorgerekend, om het aantal dieren te beperken, maar tegelijkertijd wel zekerheid te krijgen dat de gegevens die uit het experiment komen bruikbaar zijn om conclusies uit te trekken (en om zo te

voorkomen dat experimenten herhaald moeten worden). De benodigde groepsgrootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de te verwachten bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Voor een experiment wordt gedaan wordt eerst een statistische analyse gemaakt om de groepsgroottes te bepalen. Indien mogelijk worden experimenten zodanig opgezet dat meerdere vragen in 1 experiment kunnen worden beantwoord, zodat op controlegroepen bespaard kan worden. Bijvoorbeeld: experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt gecombineerd met type experiment 5 of 6 (aandeel antilichaam component of aandeel cellulaire component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controlegroepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo is het mogelijk om het totaal aantal gebruikte dieren binnen het project te verminderen.

Verfijning: De data gegenereerd in de experimenten worden uitvoerig statisch geanalyseerd. Er worden voortdurend interstudie-analyses en trendanalyses over de verschillende experimentreeksen uitgevoerd om het inzicht in de muismodellen te vergroten en de waargenomen vaccineffecten te kunnen interpreteren (voorbeelden daarvan zijn eerder besproken met de DEC). De uitkomsten van deze analyses spelen een belangrijke rol bij het ontwerp van vervolgentexperimenten.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.
 - De muizen worden onder narcose gebracht voor intranasale toediening van virus .
 - [REDACTED]
 - [REDACTED]
 - [REDACTED]
- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De vaccins die worden getest zijn over het algemeen bedacht, geproduceerd en gepatenteerd door de opdrachtgever/onderzoekspartner. Deze vaccins zijn ook niet in het bezit van anderen. Daarmee is het vrijwel uitgesloten dat andere partijen precies dezelfde experimenten hebben uitgevoerd. Het komt wel voor dat een bestaand vaccin wordt meegenomen in het experiment ter vergelijking met de nieuwe kandidaatvaccins. Daarnaast volgen de onderzoekers die bij dit project betrokken zijn de wetenschappelijke literatuur.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de

keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek de gevaccineerde muizen worden na virus challenge.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De muizen kunnen ziek worden, met algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.

Verder ondervinden ze ongerief van een aantal experimentele handelingen:

- Bloedafnames, d.m.v. wangprik; █████ 100-150 µl per keer
- Vaccingroepen (inclusief de PBS negatieve controle): █████ injectie █████ in de achterpoot beiderzijds
- Antilichaam (██████████) behandeling controlegroepen: ██████████
- Alle groepen: 1x intranasale toediening influenzavirus onder narcose

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De muizen ontwikkelen een pneumonie t.g.v. de influenzavirus infectie. Experimentele handelingen zijn noodzakelijk voor toediening van virus/vaccin/antilichaam en afname van bloedmonsters.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

- De dieren worden onder narcose gebracht voor intranasale toediening van het virus.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem (zie onder A). Bij score 3 wordt tweemaal daags gecontroleerd. Bij score = 4 wordt de muis geëuthanaseerd.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

[Redacted text]

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

In de ongevaccineerde negatieve modelcontrole groep (PBS): 80-100% en in de gevaccineerde groepen: gemiddeld 50%. Er zijn soms vaccins die minder goed werken dan verwacht, dan reageren de dieren in het ergste geval bijna gelijk aan ongevaccineerde dieren. Er zijn ook vaccins die perfect beschermen, waardoor de dieren helemaal geen ongerief ondervinden van de influenza infectie. De antilichaam behandelde modelcontrole dieren: 0% kans: het antilichaam geeft volledige bescherming.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De ongevaccineerde controle dieren ondervinden de nadeligste effecten van de influenza infectie: ernstig; Gevaccineerde dieren tonen meer variatie, maar over het algemeen worden de dieren op zijn minst deels beschermd: matig, maar bij uitblijven van bescherming door vaccinatie kan het ernstig zijn; Antilichaam behandelde positieve controle groep: matig. Cumulatief ongerief: schatting tussen 5-25% (afhankelijk van grootte van het experiment, grootte van negatieve controlegroep, effectiviteit van de geteste vaccins) ernstig ongerief, overige dieren: matig ongerief.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Bij deel van experimenten worden organen (b.v. milt, lymfeknopen, lever, hersenen) en/of bloedvolume van muis gemonsterd voor analyse, deze bemonstering is niet verenigbaar met het in leven laten van de dieren. In de overige gevallen zijn de dieren vanwege de veranderde immuunstatus en

blootstelling aan een infectieus agens niet opnieuw te gebruiken en zullen de dieren worden geëuthanaseerd om de proef te beëindigen

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	40100				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	<table><tr><td>Volgnummer</td><td>Type dierproef</td></tr><tr><td>2</td><td>Adaptatie in muis</td></tr></table>	Volgnummer	Type dierproef	2	Adaptatie in muis
Volgnummer	Type dierproef					
2	Adaptatie in muis					

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

In de zoektocht naar vaccins tegen influenza is het noodzakelijk om diermodellen te hebben om de kandidaatvaccins in te testen. Bescherming door een vaccin tegen de ene influenzastam garandeert geen bescherming tegen een andere influenzastam. Om deze reden moet de effectiviteit van deze vaccins tegen verschillende stammen getest worden om inzicht te krijgen in de breedte (de hoeveelheid verschillende influenza stammen) van de bescherming. Hiervoor maken we gebruik van influenza infectiemodellen in de muis. Vaak moeten influenzavirussen eerst aan muizen worden aangepast, voordat ze bij muizen een klinische infectie veroorzaken. Smirnov *et al.* (2000) beschrijven dat ze 23 long-long passages nodig hadden om een pneumovirulente stam te produceren. Brown *et al.* (2001) hadden 20 passages nodig voor adaptatie van een █████ stam. Anderen geven echter aan dat met sommige stammen ook al

na 5-10 passages adaptatie kan zijn bereikt. Eerder slaagden we er met H7 in om al na 3 passages een hoog-virulent virus te genereren. In dit experiment wordt rekening gehouden met in totaal 20 passages per virusstam.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, klinische score, virustiters in de longen.

Referenties:

- Smirnov YA, Lipatov AS, Van Beek R, Gitelman AK, Osterhaus AD, Claas EC (2000). Characterization of adaptation of an avian influenza A (H5N2) virus to a mammalian host. *Acta Virol.* 44:1-8.
- E. G. Brown, H. Liu, L. Chang Kit, S. Baird & M. Nesrallah (2001). Pattern of mutation in the genome of influenza A virus on adaptation to increased virulence in the mouse lung: Identification of functional themes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 6883-6888.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Lay-out van typisch adaptatie experiment:

[Redacted content]

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Er worden 2 parallele passages (elk ■ dieren) uitgevoerd, waarbij met ■ verschillende doses wordt gestart, omdat een geslaagde adaptatie afhankelijk kan zijn van de initiële dosis. Elke groep bestaat uit ■ dieren, zodat de kans dat virus aanslaat niet van het individuele dier afhangt. Er wordt gestreefd naar zo gering mogelijk aantal passages, om het aantal mutaties t.o.v. het uitgangsvirus zo veel mogelijk te beperken.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in alle voorgaande experimenten.

Herkomst: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf.

Geschatte aantallen: gemiddeld ■ studie per jaar met gemiddeld ■ passages en ■ dieren (■) per passage en ■ extra set van ■ dieren: ca. ■ dieren/jaar.

Levensstadia: muizen van ca. [REDACTED] weken leeftijd.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door in vitro methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen en in het bijzonder van het afweersysteem (immuunsysteem) op een virus niet gesimuleerd kan worden. Bij passage in cel- of eikweek blijkt vaak dat het virus juist wordt geattenuëerd.

Vermindering: Het experiment wordt uitgevoerd met een klein aantal dieren, maar de ervaring leert dat het voldoende is om een succesvolle adaptatie te kunnen uitvoeren en telkens voldoende longmateriaal te kunnen oogsten voor de volgende passage. Bij elke passage neemt de kans op mutaties in het genoom van het influenza virus toe. Om zo dicht mogelijk bij het originele virus te blijven, wordt het aantal passages in muizen, en daarmee ook het aantal benodigde dieren, zo laag mogelijk gehouden.

Verfijning: Door ervaringen uit voorgaande adaptatie experimenten, met name t.a.v. de vereiste initiële dosis, is de kans op een succesvolle, snelle adaptatie sterk toegenomen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem, [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De wetenschappelijke literatuur op dit onderwerp wordt gevolgd door de bij dit project betrokken wetenschappers. Als blijkt dat de benodigde influenza virusstam elders al is geadapteerd, wordt deze opgevraagd. Dit heeft de voorkeur (en in het verleden is zo'n muis-geadapteerde virusstam ook bij collega's opgevraagd), omdat het zekerheid geeft dat een bruikbaar model kan worden verkregen en ook omdat het minder dieren en minder tijd kost.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag: (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek de muizen worden na toediening van het virus.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Muizen kunnen ziek worden, met algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.
- De muizen worden onder narcose gebracht voor intranasale toediening van het virus.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Dit is het gevolg van de infectie met influenzavirus.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

De meeste muizen worden al geëuthanaseerd (op dag 3-5 p.i.) voordat (ernstige) klinische verschijnselen optreden. Verderop in het adaptatieproces wordt een set van 3 muizen langere tijd gevolgd om juist te zien wat de gevolgen van de infectie met het virus uit de betreffende passage zijn. In deze periode worden de dieren dagelijks klinisch beoordeeld volgens bovenstaand scoresysteem (zie onder A). [REDACTED]

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Muizen die langere tijd worden gevolgd (zie onder I) zullen ernstige klinische verschijnselen ontwikkelen. Ze worden geëuthanaseerd bij score 4 = ruwe vacht, (evt. bol/opgerold), moeilijkere (versnelde, buik-) ademhaling, geringe reactie als de muis wordt opgepakt of gemanipuleerd (= HEP).

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Het gaat waarschijnlijk om 1 of 2 sets van 3 muizen: ca. 7-13% van het totaal aantal dieren (gemiddeld 45).

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Cumulatieve ongerief: ernstig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Het oogsten van de longen voor isolatie van het virus is noodzakelijk voor het in handen krijgen van het geadapteerde virus, deze bemonstering is niet verenigbaar met het in leven laten van de dieren.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|--------------------------------|---|
| <input type="text" value="3"/> | <input type="text" value="Bepaling van infectiedosis"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Na de adaptatie van het virus aan de muis (experiment type 2) is het nodig om de optimale infectiedosis van het geadapteerde virus in de muis te bepalen. Deze bepaling is ook nodig bij de overgang van een oude (uitgeputte) voorraad virus naar een nieuw-geproduceerde voorraad om te bepalen of de karakteristieken van het model (door mutaties in het virus tijdens de productie van de nieuwe stock) wel/niet zijn veranderd en vast te stellen dat de experimenten die zijn uitgevoerd met de oude voorraad vergelijkbaar zijn met die van de nieuwe voorraad.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, overleving en klinische score.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Layout van typisch dosis-bepaling experiment

- 1 week acclimatiseren
- Op D0 worden de muizen, \square of \square groepen, \blacksquare dieren per groep, intranasaal geïnoculeerd met verschillende oplopende concentraties influenzavirus. Daarvoor worden de dieren eerst onder narcose gebracht.
- Vanaf \blacksquare worden de muizen dagelijks gewogen en klinisch beoordeeld. Voor de klinische beoordeling wordt het volgende score systeem gehanteerd: \blacksquare
 \blacksquare
 \blacksquare
 \blacksquare
- Dieren, die voortijdig worden geëuthanaseerd/ dood gaan, worden eerst gewogen en dan naar het lab gestuurd. Daar zal worden gekeken of de longen zijn aangetast.
- Op \blacksquare worden de overgebleven muizen geëuthanaseerd en verbloed.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

In het verleden is gebleken dat \blacksquare dieren per groep garandeert dat er bruikbare data worden gegenereerd, die gebruikt kunnen worden om de optimale infectie dosis te bepalen. Afhankelijk van de titer van de muis-geadapteerde virusstock kan met \blacksquare groepen een sigmoïde responscurve worden verkregen, waarbij in het beste geval een plateau optreedt bij 0 en 100% overleving (niet zo relevant omdat er toch een dosis in het 100% sterfte plateau wordt gebruikt?). Met \blacksquare dieren per groep kan 10% verschil ($=\square$ muis) in reactiviteit tussen de groepen worden gevonden. Het is gebleken dat de data zo betrouwbaar zijn dat met één dosistitratie experiment (per virus) kan worden volstaan.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in alle voorgaande experimenten.

Herkomst: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf

Geschatte aantallen: max. \blacksquare
 \blacksquare

Levensstadia: muizen van ca. 6 weken leeftijd. In sommige gevallen wordt het experiment ook uitgevoerd met oudere muizen (12+ weken), om leeftijdseffecten uit te sluiten/controleren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door in vitro methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen en in het bijzonder van het afweersysteem (immuunsysteem) op een virus infectie niet gesimuleerd kan worden.

Vermindering: Op basis van eerdere resultaten kan worden verwacht dat het aantal gebruikte proefdieren en dosisgroepen voldoende is, maar niet disproportioneel, om in één experiment te bepalen welke dosis moet worden gebruikt voor challenge in vervolgstudies met reproduceerbare resultaten. Om te voorkomen dat frequent nieuwe batches van een muis-geadapteerd virus in muizen moeten worden getest, worden steeds stocks geproduceerd die voldoende zijn voor minstens 5 jaar experimenteel onderzoek.

Verfijning: Het influenza muismodel is in de wetenschappelijke wereld geaccepteerd als geschikt model voor het testen van vaccins en antivirale middelen voor toepassing in de mens in de eerste fase van het onderzoek. De ervaring met dit type experimenten heeft geleerd welke dosisreeks het beste kan worden getest om voor het vervolgonderzoek direct bruikbare resultaten op te leveren.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.

-

-

- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Ook in geval van overgang naar een nieuwe virusstock alsmede bij implementatie van een infectiemodel dat van derden afkomstig is, wordt (opnieuw) een dosis-respons experiment uitgevoerd (zie onder A).

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek de muizen worden van de toegediende dosis virus.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Muizen worden meer of minder ernstig ziek met verschijnselen van algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.
- Muizen ondervinden daarnaast ongerief van de experimentele handelingen: intranasale toediening van het virus onder anesthesie.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Ziekte is het gevolg van de influenza infectie en afhankelijk van de toegediende virusdosis.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

- Voor de intranasale toediening van virus worden de muizen eerst onder narcose gebracht.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens het bovenstaand scoresysteem (zie onder A).

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem,

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Naarmate de dosis virus hoger is, zal het ongerief dat de dieren ondervinden toenemen. In de ■ of ■ groepen blootgesteld aan de hoogste doses gaat het om 90-100%. Bij lagere doses zal dit percentage evenredig meer of minder sterk afnemen, afhankelijk van de virusstam. In de laagste dosisgroep kan matig tot ernstig ongerief worden verwacht bij 0-20% van de dieren.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Dieren, die de hoogste dosis virus krijgen toegediend, ondervinden de nadeligste effecten van de influenzavirus infectie: ernstig. Bij lagere virusdoses zal de mate van ongerief afnemen tot matig. Het is niet goed te voorspellen bij welke dosis de omslag van ernstig naar matig ongerief ligt. Cumulatief ongerief: ernstig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Een deel van de dieren zal waarschijnlijk sterven aan de gevolgen van de influenza infectie. Overlevende dieren worden aan het einde van de proef geëuthanaseerd, hergebruik binnen dit project is uitgesloten omdat de immuunstatus van de dieren door blootstelling aan influenzavirus is veranderd. Deze

influenzavirussen zijn ook besmettelijk voor mensen.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|--------------------------------|--|
| <input type="text" value="4"/> | <input type="text" value="Bepaling van dynamische bereik influenzamodel"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Dit type experiment is bedoeld om te controleren of het infectiemodel met de nieuw verkregen, muis-geadapteerde influenzastock (geproduceerd in experiment type 2) zich volgens verwachting "gedraagt" na toediening van een antilichaam met virus-neutraliserende eigenschappen. Daartoe worden muizen voor de challenge behandeld met een antilichaam dat 100% bescherming geeft of met PBS, waarna 0% bescherming optreedt. Deze behandelgroepen lopen in alle vaccinatie/challenge experimenten als controles mee om de integriteit van de influenzamodellen te bewaken en een vergelijking van de gegevens uit verschillende experimenten mogelijk te maken.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, overleving en klinische score.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Lay-out van typische bepaling van dynamische bereik:

- 1 week acclimatiseren
- Op [] worden [] groepen met [] tot [] dieren (aantal dieren per groep hangt af van virulentie van de gebruikte influenza stam), behandeld met antilichaam ([] voor influenza A virussen behorend tot [] voor influenza A virussen behorend tot groep [] in geval van een [] virus). Twee andere groepen met elk eveneens [] tot [] dieren worden behandeld met PBS.
- Op D0 worden 1 antilichaam behandelde groep en 1 onbehandelde groep []
[] Elke andere behandelde en onbehandelde groep krijgt een lage concentratie influenza virus toegediend. De hoge concentratie en de lage concentratie zijn de twee gestandaardiseerde influenza doses die worden toegepast in alle experimenten.
- []
[]
[]
[]
[]
[]
[]
- Op [] worden de overgebleven muizen geëuthanaseerd.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

In het verleden is gebleken dat [] tot [] dieren per groep garandeert dat er bruikbare data worden gegenereerd, die het mogelijk maken om te controleren of het influenza muismodel binnen de verwachte bandbreedte presteert (100% bescherming na antilichaambehandeling en 0% bescherming na PBS behandeling). Aantal dieren per groep wordt bepaald aan de hand van de data, die voortkomen uit de "optimale dosisbepaling" (type 3).

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in alle voorgaande experimenten.

Herkomst: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf

Geschatte aantallen: max. [] dieren per experiment; in de afgelopen jaren: gemiddeld [] studie per jaar met [] dieren per experiment: [] dieren/jaar

Levensstadia: muizen van ca. [] weken leeftijd. In sommige gevallen wordt het experiment uitgevoerd met oudere muizen ([] weken), om leeftijdseffecten uit te sluiten/controleren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door in vitro methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen en in het bijzonder van het afweersysteem (immuunsysteem) op een virus infectie niet gesimuleerd kan worden.

Vermindering: Op basis van eerdere resultaten kan worden verwacht dat het aantal gebruikte proefdieren en dosisgroepen voldoende is, maar niet disproportioneel, om in één experiment te bepalen of de 0% en 100% beschermingscontroles (=definitie dynamisch bereik) aan de verwachting voldoen.

Verfijning: Het influenza muismodel is in de wetenschappelijke wereld geaccepteerd als geschikt model voor het testen van vaccins en antivirale middelen voor toepassing in de mens in de eerste fase van het onderzoek. Binnen het instituut wordt al meer dan tien jaar intensief gewerkt met influenza muismodellen, waarvan de meesten binnen het instituut zijn ontwikkeld. We hebben deze modellen in het beginstadium uitgebreid geëvalueerd en zo goed mogelijk gestandaardiseerd en zijn nu in staat om consistente uitkomsten te produceren.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem, [REDACTED]
- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Dit experiment wordt uitgevoerd bij het opzetten van nieuwe influenza muismodellen en ook bij het in gebruik nemen van een nieuwe virusbatch, omdat niet op voorhand valt uit te sluiten dat bij het opnieuw opkweken van het muis-geadapteerde virus andere mutaties optreden dan in de oorspronkelijke batch. In zo'n geval kan het virus zich in de muis anders gaan "gedragen". Het is ook nodig bij implementatie van bestaande influenza muismodellen die overgenomen worden van een ander laboratorium, omdat is gebleken dat experimentele factoren zoals b.v. wijze van virustoediening, diepte van de narcose, en variatie tussen muizenstammen van invloed kunnen zijn op de uitkomst.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek de muizen worden van de toegediende dosis virus, met of zonder profylactische behandeling met neutraliserend antilichaam.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Muizen worden ziek met algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.
- Muizen ondervinden daarnaast ongerief van de experimentele handelingen:
 - In alle groepen: [REDACTED]
 - In alle groepen: [REDACTED] toediening van influenzavirus onder anesthesie

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Ziekte is het gevolg van de influenza infectie.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

- Voor de intranasale toediening van virus worden de muizen eerst onder narcose gebracht.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens het bovenstaand scoresysteem (zie onder A). [REDACTED]

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem (zie onder A), [REDACTED]

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Naar verwachting zullen de antilichaam-behandelde groepen 0% kans hebben, want deze zijn volledig beschermd. De PBS-behandelde groepen hebben 80%-100% kans.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Alle dieren in de [REDACTED] behandelde [REDACTED] groep ondervinden de nadeligste effecten van de influenza infectie: ernstig, terwijl alle dieren in de [REDACTED] groep beschermd zijn en hoogstens matig ongerief zullen ondervinden. Cumulatief ongerief: ernstig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Overlevende dieren worden geëuthanaseerd ter beëindiging van de proef. Door de blootstelling aan influenza virus is de immunstatus van deze dieren veranderd en zijn zij voor andere experimenten binnen dit project onbruikbaar geworden.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|--------------------------------|--|
| <input type="text" value="5"/> | <input type="text" value="Aandeel antilichaam component"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Om vast te stellen wat het aandeel van de door vaccinatie geïnduceerde antilichamen is in de beschermende werking van de vaccins, wordt het volgende tweedelige experiment uitgevoerd. In het eerste deel worden muizen geïmmuniseerd met kandidaat vaccins van interesse. Vier weken na de laatste vaccinatie worden de dieren niet geïnoculeerd met influenzavirus voor challenge, maar verbloed om het serum te oogsten. Dit serum wordt in het tweede deel intravasculair in nieuwe immunologisch naïeve (muizen die nog nooit aan influenza zijn blootgesteld) muizen gespoten. Deze muizen worden vervolgens met influenzavirus geïnfecteerd. De mate waarin de tweede groep muizen wordt beschermd is het gevolg van de door vaccinatie in de eerste groep muizen

opgewekte antilichamen. Deze kennis kan samen met de uitkomsten die in experiment type 6 (Bepaling cellulaire component) worden verkregen bijdragen aan verdere verbetering van het vaccin.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, overleving en klinische score.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Layout van deel I:

- ca. 1 week acclimatiseren
- Bloedafname bij alle groepen een dag voor elke vaccinatie voor bepaling van de antilichaamtiter.
- Vaccinatie van testgroepen: [REDACTED]
- D= 0: De dieren worden onder narcose gebracht en verbloed. Terminale bloedafname vindt plaats via orbitale sinus, omdat deze methode de grootste opbrengst geeft.
- De dag voor aanvang van de studie, op de dagen van vaccinatie en direct voor het verbloeden worden de dieren gewogen en klinisch beoordeeld. Voor de klinische beoordeling wordt het volgende scoresysteem gehanteerd: [REDACTED]

In sommige gevallen is alleen uitvoering van het eerste deel nodig, omdat het opgewekte serum gebruikt wordt voor *in vitro* analyses of in een ander Instituut in muizen wordt getest.

Layout van deel II:

- ca. 1 week acclimatiseren
- [REDACTED] - Alle serumbehandelgroepen: afname nulbloed m.b.v. wangprik en toediening serum i.p.
- [REDACTED] - Antilichaamtoediening ([REDACTED]) positieve controle groep, PBS toediening negatieve controle groep (zie opmerking 1).
- D0: Intranasale inoculatie van influenzavirus (zie opmerking 2), onder narcose.
- [REDACTED]
- [REDACTED]
- [REDACTED]
- [REDACTED] De muizen worden geëuthanaseerd.

Opmerking 1:

De i.v. toediening van antilichaam, welke 100% bescherming biedt tegen ziekte en sterfte, is bedoeld als modelcontrole en gouden standaard voor bescherming (en de brug naar voorgaande en toekomstige experimenten). Deze positieve controle groep geeft samen met de negatieve PBS controle groep overzicht over het referentiekader van 0% tot 100% bescherming tegen lethale challenge met influenza virus. Zo wordt het gebruikte modelsysteem gecontroleerd op een correcte werking.

Opmerking 2:

De toegediende influenzastam varieert, afhankelijk van het gebruikte vaccin en het stadium van onderzoek. In eerste instantie wordt het serum getest in een homologe challenge: de influenzastam is van hetzelfde type als het vaccin. Om te onderzoeken of het serum ook kruisbescherming levert, worden de muizen gechallenged met een heterologe virusstam, die een andere typering heeft dan het vaccinvirus. Op dit moment zijn er modellen voor verschillende influenzatypen beschikbaar, waaronder varianten van H1N1, H3N2, H5N1, H7N7 en influenza B virussen.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Voor deel I en II geldt dat de benodigde groepsgrootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de te verwachten bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Voor deel I geldt tevens dat de groepsgrootte afhangt van de hoeveelheid serum die nodig is voor uitvoering van het vervollexperiment(en).

Indien mogelijk worden experimenten zodanig opgezet dat meerdere doelstellingen in 1 experiment bekeken kunnen worden, zodat op controle groepen wordt bespaard. Bijvoorbeeld: experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt gecombineerd met type 5 (aandeel antilichaam component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controle groepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo kan het totale aantal gebruikte dieren binnen het project worden verminderd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in alle voorgaande experimenten.

Herkomt: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf.

Geschatte aantallen: naar schatting zullen er 5 experimenten met geschat 50 dieren per jaar worden uitgevoerd: 250 dieren per jaar.

Levensstadia: dieren van ca. 6 weken leeftijd. In sommige gevallen zullen oudere muizen (12+ weken) worden gebruikt om leeftijdseffecten uit te sluiten/te controleren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door *in vitro* methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen en in het bijzonder van het afweersysteem (immuunsysteem) op een vaccin of virus niet gesimuleerd kan worden.

Vermindering: De benodigde groepsgrootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de te verwachten bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Indien mogelijk worden experimenten zodanig opgezet dat meerdere doelstellingen in 1 experiment vastgesteld worden, zodat op controle groepen bespaard kan worden. Bijvoorbeeld experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt gecombineerd met type 5 (aandeel antilichaam component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controle groepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo is het mogelijk om het totale aantal gebruikte dieren binnen het project te verminderen..

Verfijning: De data gegenereerd in de experimenten worden uitvoerig statistisch geanalyseerd. Er worden voortdurend interstudie-analyses en trendanalyses over de verschillende experimentreeksen uitgevoerd ter vergroting van het inzicht in de muismodellen en de werking van de vaccins (voorbeelden daarvan zijn eerder besproken met de DEC). De uitkomsten van deze analyses spelen een belangrijke rol bij het ontwerp van vervollexperimenten.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.
- Voor toediening van virus worden de muizen onder narcose gebracht.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem [REDACTED]
- [REDACTED]
- [REDACTED]
- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De vaccins die worden getest zijn over het algemeen bedacht, gepatenteerd en geproduceerd door de opdrachtgever. Deze vaccins zijn ook niet in het bezit van anderen. Het is vrijwel uitgesloten dat andere partijen dezelfde experimenten hebben uitgevoerd. De onderzoekers die bij dit project betrokken zijn volgen dit in de wetenschappelijke literatuur.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de

keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek de muizen worden van de toegediende dosis virus, na passieve immunisatie.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- De muizen kunnen ziek worden, met algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.
- Verder ondervinden ze ongerief van een aantal experimentele handelingen:

Deel I:

- [Redacted]
- [Redacted]

Deel II:

- [Redacted]
- [Redacted]
- [Redacted]

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De muizen ontwikkelen een pneumonie t.g.v. de influenzavirus infectie. Experimentele handelingen zijn noodzakelijk voor toediening van virus/vaccin/antilichaam en afname van bloedmonsters.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

- Voor toediening van virus en voor bloedafname worden de muizen onder narcose gebracht.
- De muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem (zie onder A). Bij score = 3 wordt tweemaal daags gecontroleerd. Bij score = 4 wordt de muis geëuthanaseerd.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Deze omstandigheden worden alleen in deel II verwacht. De muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem (zie onder A),

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

Deel I: 0% van de dieren.

Deel II: De serumbehandelde dieren tonen meer variatie: van 0% tot 100%, afhankelijk van het beschermend vermogen van het overgedragen serum.

Negatieve controlegroep: 80-100% kans. Antilichaam controle groep: 0% kans, het antilichaam geeft volledige bescherming.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De negatieve controle dieren ondervinden de nadeligste effecten van de influenza infectie: ernstig; antilichaam-behandelde controlegroep: matig.

Serumbehandelde dieren tonen meer variatie, maar over het algemeen worden de dieren op zijn minst ten dele beschermd: matig, maar bij uitblijven van bescherming kan het ongerief oplopen tot ernstig.

Cumulatief ongerief: ernstig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Overlevende dieren worden aan het einde van de proef geëuthanaseerd, omdat door de blootstelling aan influenzavirus de immunestatus van deze dieren is veranderd en zij voor ander onderzoek onbruikbaar geworden zijn. In sommige gevallen worden dieren aan het eind van de proef gedood om organen (b.v. milt, lymfeknopen, lever, hersenen) en/of bloed te verzamelen voor nader onderzoek.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|--------------------------------|---|
| <input type="text" value="6"/> | <input type="text" value="Aandeel cellulaire component"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

Om het aandeel van de cellulaire component van het immuunsysteem te bepalen, worden de muizen behandeld met antilichamen, die specifiek delen van het cellulaire immuunsysteem (CD4 en/of CD8 specifieke T cellen) uitschakelen (celdepletie). De dieren worden gevaccineerd en vervolgens geïnfecteerd met influenza virus, zoals beschreven in experiment type 1. In dit experiment worden ze net voor de challenge infectie behandeld met een T cel depleterend antilichaam. Het verschil in bescherming tussen de muizen die wel en niet behandeld zijn met zo'n T cel antilichaam geeft het aandeel weer van het uitschakelde deel van het immuunsysteem in de beschermende werking van het vaccin. Deze kennis kan bijdragen aan verdere verbetering van het vaccin.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, overleving en klinische score.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Layout van typisch cellulair immuniteitsexperiment:

- ca. 1 week acclimatiseren
- D[redacted] Bloedafname (wangprik) voor bepaling van de antilichaamtiter (preserum) van alle groepen.
- D[redacted] Vaccinatie van experimentele groepen (en negatieve controle (PBS) groep: intramusculaire (i.m.) injectie in dijbeenspier
- [redacted] Toediening van 500 µl i.p. T cel depletierende antilichamen (of controle antilichaam) aan betreffende groepen.
- [redacted]: Toediening van [redacted] aan betreffende groepen.
Toediening van [redacted] (zie opmerking 1).
- [redacted]: Bloedafname voor serologisch onderzoek.
Intranasale inoculatie (50 µL) met een vastgestelde dosis influenzavirus (zie opmerking 2).
- [redacted] De muizen worden dagelijks gewogen en klinisch beoordeeld. Voor de klinische beoordeling wordt het volgende score systeem gehanteerd:
[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]
- [redacted] Einde proef: alle muizen worden geëuthanaseerd.

Opmerking 1:

[redacted]
[redacted]
[redacted]
[redacted]

Opmerking 2:

De toegediende influenzastam varieert, afhankelijk van het te testen vaccin en het stadium van onderzoek. In eerste instantie wordt het vaccin getest met een homologe challenge: de influenzastam is van hetzelfde type als het vaccin. Om te onderzoeken of het vaccin ook kruisbescherming levert, worden de muizen gechallengeerd met een heterologe virusstam, die een andere typering heeft dan het vaccivirus. Op dit moment zijn er modellen voor verschillende influenzatypen beschikbaar, waaronder varianten van H1N1, H3N2, H5N1, H7N7, H9N2 en influenza B virussen.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De benodigde groepsgrootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de te verwachten bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Voorafgaand aan elk experiment wordt eerst een statistische analyse gemaakt om de gewenste groepsgrootte te bepalen. Indien mogelijk worden experimenten zodanig ingericht dat meerdere

doelstellingen in 1 experiment bekeken worden, zodat op controle groepen bespaard kan worden. Bijvoorbeeld experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt wanneer mogelijk gecombineerd met experiment typen 5 of 6 (respectievelijk aandeel antilichaam en cellulaire component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controle groepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo kan het totale aantal gebruikte dieren binnen het project worden verminderd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in alle voorgaande experimenten.

Herkomst: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf.

Geschatte aantallen: aantal dieren per experiment kan variëren van 15 tot 200 dieren; geschat op basis van de afgelopen jaren: gemiddeld ■ studies per jaar met gemiddeld ■■ dieren per experiment: ■■■ dieren/jaar.

Levensstadia: muizen van ca. ■ weken oud. In sommige gevallen zullen oudere muizen (■■■ weken) worden gebruikt om leeftijdseffecten uit te sluiten/te controleren.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Dieren in de negatieve controle groep overleven de influenza infectie niet. Het klinische scoringsysteem met daarin het gedefinieerde humane eindpunt moet bijdragen aan het verkorten van het lijden van de dieren. Dieren in een vroeger stadium euthanaseren zal de resolutie van de experimenten enorm doen afnemen. Het komt namelijk veelvuldig voor dat dieren met een klinische score ■■ weer herstellen en score ■■■■ halen. De conclusie van de meta-analyse is dat een groot deel van de in het verleden behaalde nuttige resultaten bij gewijzigd scoresysteem niet bereikt had kunnen worden. Daarmee waren de aanwijzingen die hebben geleid tot vaccinverbetering ook onopgemerkt gebleven.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door in vitro methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen en in het bijzonder van het afweersysteem (immuunsysteem) op een vaccin of virus niet gesimuleerd kan worden.

Vermindering: De benodigde groepsgrootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de verwachte bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Indien mogelijk worden experimenten

zodanig opgezet dat meerdere vragen in 1 experiment kunnen worden beantwoord, zodat op controlegroepen bespaard kan worden. Bijvoorbeeld: experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt gecombineerd met type 6 (aandeel cellulaire component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controlegroepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo is het mogelijk om het totale aantal gebruikte dieren binnen het project te verminderen.

Verfijning: De data gegenereerd in de experimenten worden uitvoerig statistisch geanalyseerd. Er worden voortdurend interstudie-analyses en trendanalyses over de verschillende experimentreeksen uitgevoerd ter vergroting van het inzicht in de muismodellen (voorbeelden daarvan zijn eerder besproken met de DEC). De uitkomsten van deze analyses spelen een belangrijke rol bij het ontwerp van vervollexperimenten.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.
- De muizen worden onder narcose gebracht voor toediening van virus en voor bloedafname.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem (zie onder A), [REDACTED]
- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De vaccins die worden getest zijn over het algemeen bedacht, geproduceerd en gepatenteerd door de opdrachtgever/onderzoekspartner. Deze vaccins zijn ook niet in het bezit van anderen. Daarmee is het vrijwel uitgesloten dat andere partijen precies dezelfde experimenten hebben uitgevoerd. Het komt wel voor dat een bestaand vaccin wordt meegenomen in het experiment ter vergelijking met de nieuwe kandidaatvaccins. Daarnaast volgen de onderzoekers die bij dit project betrokken zijn de wetenschappelijke literatuur.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek gevaccineerde en ongevaccineerde muizen met en zonder T cel depletie worden na virus challenge.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De muizen kunnen ziek worden, met algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.

Verder ondervinden ze ongerief van een aantal experimentele handelingen:

- Bloedafnames, d.m.v. wangprik; [redacted] µl per keer
- Experimentele vaccinatie groepen (inclusief [redacted] controle): [redacted]
- Toediening van [redacted]: max. [redacted]
- [redacted]
- Alle groepen: intranasale infectie met influenza virus onder narcose

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De muizen ontwikkelen een pneumonie t.g.v. de influenza virus infectie. Experimentele handelingen zijn noodzakelijk voor toediening van virus/vaccin/antilichaam en afname van bloedmonsters.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

- De dieren worden onder narcose gebracht voor intranasale toediening van het virus.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem (zie onder A). [REDACTED]

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem (zie onder A), [REDACTED]

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

In de ongevaccineerde negatieve modelcontrole groep (PBS): 80-100% en in de gevaccineerde groepen: gemiddeld 50%. Er zijn soms vaccins die minder werken dan verwacht, dan reageren de dieren in het ergste geval bijna gelijk aan ongevaccineerde dieren. Er zijn ook vaccins die perfect beschermen, waardoor de dieren helemaal geen ongerief ondervinden van de influenza infectie. De antilichaam behandelde modelcontrole dieren: 0% kans: het antilichaam geeft volledige bescherming.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De ongevaccineerde controle dieren ondervinden de nadeligste effecten van de influenza infectie: ernstig;

Gevaccineerde dieren tonen meer variatie, maar over het algemeen worden de dieren op zijn minst deels beschermd: matig, maar bij uitblijven van bescherming door vaccinatie kan het ernstig zijn; antilichaam-behandelde controlegroep: matig. Cumulatief ongerief: schatting tussen 5-25% (afhankelijk van grootte van het experiment, grootte van negatieve controlegroep, effectiviteit van de geteste vaccins) ernstig ongerief, overige dieren: matig ongerief.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Deel van de dieren zal waarschijnlijk sterven aan de gevolgen van de influenza infectie. Overlevende dieren worden aan het einde van de proef geëuthanaseerd, omdat door de blootstelling aan influenza virus de immunestatus van deze dieren is veranderd en zij voor ander onderzoek binnen het project onbruikbaar geworden zijn. In sommige gevallen worden de dieren aan het eind van de proef gedood, waarna organen (b.v. milt, lymfeknopen, lever, hersenen) en/of bloed van de muizen worden verzameld voor nader onderzoek.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|--------------------------------|---|
| <input type="text" value="7"/> | <input type="text" value="Invloed bestaande immuniteit"/> |

Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

In dit experiment wordt onderzocht wat de invloed is van bestaande immuniteit op de effectiviteit van het kandidaatvaccin. Daarvoor worden de muizen eerst "gepre-immuniseerd" en vervolgens gevaccineerd en gechallenged zoals beschreven in experiment type 1 (vaccinatie-challenge experiment). De respons van muizen met pre-immuniteit wordt vergeleken met die van muizen zonder pre-immuniteit.

Primaire uitkomstparameters: Lichaamsgewicht, overleving en klinische score.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Layout van typisch bestaande immuniteit experiment

- ca. 1 week acclimatiseren
- Bloedafname van alle groepen een dag voor vaccinatie voor bepaling van de antilichaamtiter (preserum).
- Pre-immunisatie van alle [REDACTED] weken interval door vaccinatie met een conventioneel vaccin of door intranasale infectie met een lage dosis influenzavirus. De methode van immunisatie is afhankelijk van het virus waartegen pre-immuniteit moet worden opgewekt.
- Bloedafname van alle groepen voorafgaand aan elke vaccinatie voor bepaling van de antilichaamtiter.
- [REDACTED] weken na de laatste pre-immunisatie: vaccinatie van testgroepen met kandidaatvaccins [REDACTED] weken interval.
- [REDACTED]: Bloedafname van alle groepen voor bepaling van de antilichaamtiter
Toediening [REDACTED] controlegroep (zie opmerking 1).
- [REDACTED] toediening van influenzavirus.
- [REDACTED] De muizen worden dagelijks gewogen en klinisch beoordeeld. Voor de klinische beoordeling wordt het volgende score systeem gehanteerd:
- 0 [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
- [REDACTED] Einde proef: alle overlevende muizen worden geëuthanaseerd.

Opmerking 1:

De i.v. toediening van antilichaam, welke 100% bescherming biedt tegen ziekte en sterfte, is bedoeld als modelcontrole en gouden standaard voor bescherming (en de brug naar voorgaande experimenten). De PBS (de negatieve controle) en de i.v. toediening van antilichaam (de positieve controle) geven samen overzicht over het referentiekader van 0% tot 100% bescherming tegen lethale challenge met influenza virus. Zo wordt het gebruikte modelsysteem gecontroleerd op een correcte werking.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

De benodigde groeps grootte wordt bepaald op basis van de resultaten van voorgaande experimenten, waarbij rekening wordt gehouden met de te verwachten bescherming van het vaccin en de uniformiteit van de respons van de muizen op de challenge infectie. Voorafgaand aan elk experiment wordt eerst een statistische analyse gemaakt om de benodigde groeps groottes te bepalen. Indien mogelijk worden experimenten zodanig opgezet dat meerdere doelstellingen in 1 experiment kunnen worden gecombineerd, zodat op controlegroepen wordt bespaard. Bijvoorbeeld: experiment type 1 (vaccinatie/challenge) wordt wanneer mogelijk gecombineerd met andere experiment types 5 of 6 (aandeel antilichaam of cellulaire component). De negatieve (onbehandelde) en positieve (antilichaam behandelde) controle groepen kunnen dan worden gebruikt in de analyse van beide experimenten. Zo kan het totale aantal gebruikte dieren binnen het project worden verminderd.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: Muis (*Mus musculus*), vrouwelijke dieren, SPF, zoals in alle voorgaande experimenten.

Herkomst: van geregistreerd fok/toeleveringsbedrijf.

Geschatte aantallen: ■■■■ experimenten tijdens complete looptijd van het project met maximaal ■■■■ dieren per experiment: ■■■■ dieren per jaar.

Levensstadia: muizen van ca. ■■ weken leeftijd.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging door *in vitro* methoden is met de huidige stand van de wetenschap niet mogelijk, omdat de reactie van een levend wezen met een al aanwezige immuniteit tegen influenza of delen daarvan op een vaccin en/of virus niet kan worden gesimuleerd.

Vermindering: Voordat vaccinkandidaten in dit type experiment getest worden, om te bepalen of bestaande immuniteit een complicatie zal zijn bij de toepassing van dat vaccin, zullen deze vaccins de leidende kandidaten zijn en waarschijnlijk geselecteerd zijn voor humane trials, na een gehele selectieproces binnen het project. Deze experimenten zullen hierdoor naar verwachting laag in frequentie zijn. Hiernaast wordt het aantal benodigde dieren in de experimenten uitvoerig statistisch doorgerekend, om enerzijds het aantal dieren te beperken, maar tegelijkertijd wel meer zekerheid te krijgen dat de gegevens die uit het experiment komen bruikbaar zijn om conclusies uit te trekken (en om zo te voorkomen dat experimenten herhaald moeten worden).

Verfijning: Het influenza muismodel is in de wetenschappelijke wereld geaccepteerd als geschikt model voor het testen van vaccin en medicijnen voor toepassing in de mens. Binnen het instituut wordt er al meer dan tien jaar intensief gewerkt met influenza muismodellen, waarvan er een groot aantal binnen het instituut ontwikkeld zijn, voor het doel om anti-influenza methodes te onderzoeken.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

- De muizen krijgen ca. 1 week de tijd om te acclimatiseren.
- De muizen worden onder narcose gebracht voor toediening van virus.
- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem (zie onder A), [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
- Er worden geen nadelige milieueffecten verwacht, de dieren worden gehouden in gespecialiseerde dierfaciliteit met BSL2/BSL3 inperkingsniveau.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

De vaccins die worden getest zijn over het algemeen bedacht, gepatenteerd en geproduceerd door de opdrachtgever. Deze vaccins zijn ook niet in het bezit van anderen. Daarmee is het vrijwel uitgesloten dat andere partijen precies dezelfde experimenten hebben uitgevoerd. De onderzoekers die bij dit project betrokken zijn volgen de wetenschappelijke literatuur.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Er worden geen pijnstillers toegepast, omdat dit de resultaten van de proef zal beïnvloeden t.a.v. gedrag (sedatief) en/of klinisch-pathologische verschijnselen (ontstekingsremmend). De onderzoekers willen weten of, wanneer en hoe ziek gevaccineerde en ongevaccineerde muizen met en zonder pre-immuniteit worden na virus challenge.

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De muizen kunnen ziek worden, met algehele malaise (bol zitten), verminderde eetlust, ademhalingsproblemen en in het ernstigste geval sterfte.

Verder ondervinden ze ongerief van een aantal experimentele handelingen:

- Bloedafnames, d.m.v. wangprik; [redacted]

- Pre-immunisatie: [redacted]

- Experimentele vaccinatie: [redacted]

- Controlegroepen: [redacted]

- Alle groepen: [redacted]

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De muizen ontwikkelen een pneumonie t.g.v. de influenzavirus infectie. Experimentele handelingen zijn noodzakelijk voor toediening van virus/vaccin/antilichaam en afname van bloed.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

- De dieren worden onder narcose gebracht voor intranasale toediening van het virus.

- Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een scoresysteem (zie onder A). [redacted]

[redacted]

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Muizen worden dagelijks beoordeeld volgens een score systeem (zie onder A),

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

In de ongevaccineerde controle groep 80-100% en in de gevaccineerde groepen gemiddeld 50%. Er zijn soms vaccins die minder werken dan verwacht, dan reageren de dieren in het ergste geval bijna gelijk aan ongevaccineerde dieren. Er zijn ook vaccins die perfect beschermen, waardoor de dieren helemaal geen ongerief ondervinden van de influenza infectie. De antilichaam behandelde controle dieren: 0% kans, het antilichaam geeft volledige bescherming.

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

De ongevaccineerde controle dieren ondervinden de nadeligste effecten van de influenza infectie: ernstig. Antilichaam behandelde controle groep: matig. Gevaccineerde dieren tonen meer variatie, maar over het algemeen worden de dieren op zijn minst deels beschermd: matig, bij uitblijven van bescherming door vaccinatie kan het oplopen tot ernstig. Cumulatief ongerief: ernstig.

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Overlevende dieren worden aan het einde van de proef geëuthanaseerd, omdat door de blootstelling aan influenzavirus de immunestatus van deze dieren is veranderd en zij voor ander onderzoek onbruikbaar zijn geworden. In sommige gevallen worden de dieren aan het eind van de proef gedood, waarna organen (b.v. milt, lymfeknopen, lever, hersenen) en/of bloed van de muizen worden verzameld voor nader onderzoek.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting DLO
t.a.v. [REDACTED]
Akkermaaibos 12
6700 AW Wageningen
Nederland

Centrale Commissie
Dierproeven

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)
Info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD40100201562

Uw referentie

Bijlagen
1

Datum 29 juni 2015
Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Op 11 mei 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins" met aanvraagnummer AVD40100201562. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 20 mei 2015 en 08 juni 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld. U heeft gereageerd op de vraag naar de motivatie voor het gebruik van uitsluitend vrouwelijke muizen en op de vraag over de primaire uitleesparameters en de humane eindpunten, resp. naar de motivatie voor het gebruik van uitsluitend vrouwelijke muizen en naar welk aantal dieren welk type ongerief zal ondergaan.

Op 20 mei 2015 heeft de DEC gereageerd op onze vragen.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag gedeeltelijk goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

U kunt met uw project "Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins" starten. De vergunning wordt afgegeven van 29 juni 2015 tot en met 31 mei 2020.

Beoordeling achteraf

Na afloop van het project zal er een beoordeling plaatsvinden, zoals bedoeld in artikel 10a1 lid 1d en lid 3 van de Wet op de dierproeven. Meer informatie over de eisen bij een beoordeling achteraf vindt u in de bijlage.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-DLO gevoegd d.d. 07 mei 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij kunnen ons ten dele vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie deels over: we menen dat de DEC voorbijgegaan is aan het ontbreken van een wetenschappelijke onderbouwing voor het gebruik van enkel vrouwelijke dieren. Het gebruik van dieren van één sekse leidt tot het verhogen van het aantal dieren dat in voorraad gedood wordt.

De Commissie volgt de aanvrager in diens zienswijze, verwoord in diens mail d.d. 08 juni 2015,

dat het niet waarschijnlijk is dat het geslacht van de muizen van invloed is op de uiteindelijke conclusies ten aanzien van de potentiële werkzaamheid van de vaccins.
Zij deelt de zienswijze van de aanvrager dat het nodig is om enkele dierproeven vooraf te valideren met mannelijke dieren, alsook bijkomende experimenten uit te voeren om te achterhalen of de resultaten met mannelijke dieren vergelijkbaar zijn met de (historische) resultaten met vrouwelijke dieren en of de variatie bij mannelijke dieren vergelijkbaar is met deze bij vrouwelijke dieren.

Daarom staat de Commissie toe dat voor de hierboven vermelde pilotstudy's dierproeven uitgevoerd worden en stelt nadere voorwaarden. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving liggen ten grondslag aan dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:



ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

Datum
25 juni 2015
Onze referentie
Aanvraagnummer
40100201562

Bijlagen

- Vergunning

- Hiervan deel uitmakend: - DEC-advies
- Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Stichting DLO
Adres: Akkermaalbos 12
Postcode en woonplaats: 6700 AW Wageningen
Deelnemersnummer: 40100

deze projectvergunning voor het tijdvak 29 juni 2015 tot en met 31 mei 2020, voor het project "Ontwikkeling van Influenza (griep) vaccins" met aanvraagnummer AVD40100201562, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-DLO. Hierbij is afgeweken van het DEC-advies omdat de DEC voorbijgegaan is aan het ontbreken van een wetenschappelijke onderbouwing voor het gebruik van enkel vrouwelijke dieren. Het gebruik van dieren van één sekse leidt tot het verhogen van het aantal dieren dat in voorraad gedood wordt.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is wetenschappelijk medewerker.

De aanvraag omvat de volgende beschelden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 11 mei 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen op 11 mei 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen op 11 mei 2015;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie, ontvangen op 11 mei 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst	Voorwaarden
1. Vaccinatie/Challenge experiment	Muis (Mus musculus)	12000	5-25% ernstig; 75-95% matig	Zie verder.
2. Virusadaptatie in muis	Muis (Mus musculus)	225	ernstig	Zie verder.
3. Bepaling van infectiedosis	Muis (Mus musculus)	300	Groep 1: 100% ernstig ongerief; Groep 2: 80-90% ernstig ongerief/10-20% matig ongerief; Groep 3: 60-70% ernstig ongerief/30-40% matig ongerief; Groep 4: 30-50% ernstig ongerief/50-70% matig ongerief; Groep 5: 10-30% ernstig ongerief/70-90% matig ongerief.	Zie verder.
4. Bepaling van dynamische bereik	Muis (Mus)	200	50% matig	Zie verder.

Datum
25 juni 2015

Onze referentie
Aanvraagnummer
40100201562

Influenzamodel	musculus)		50% ernstig	
5. Aandeel antilichaam component	Muis (Mus musculus)	1250	Deel I: 100% van de dieren maximaal cumulatief ongerief: matig. Deel II: Antilichaamcontrole groep (ca. 20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: matig Negatieve (onbehandelde) controlegroep (ca. 20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: ernstig Overige groepen van de dieren die behandeld worden met antiserum (ca. 60% van dieren): maximaal cumulatief ongerief: matig.	Zie verder.
6. Aandeel cellulaire component	Muis (Mus musculus)	1200	5-25% ernstig; 75-95% matig	Zie verder.
7. Invloed bestaande immuniteit	Muis (Mus musculus)	1000	Negatieve (ongevaccineerde) controle (20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: ernstig; Positieve (antilichaam behandelde) controle (20% van dieren in proef): maximaal cumulatief ongerief: matig; Experimentele gevaccineerde groepen (60% van de dieren in proef): maximaal cumulatief: matig.	Zie verder.

Beoordeling achteraf zal uiterlijk op 31 augustus 2020 plaatsvinden.

Datum
25 juni 2015

Onze referentie
Aanvraagnummer
40100201562

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de volgende voorwaarden:

- dat de groepsgrootte voor de dierproeven en de mogelijke herhaling van reeds elders uitgevoerd onderzoek uit deelproject C worden afgestemd met de IvD.
- dat voor alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen worden gebruikt. Zo doende wordt voorkomen dat surplusdieren van het mannelijke geslacht moeten gedood worden in voorraad.
- dat de aanvrager de uitkomsten van de pilotonderzoeken aan de CCD rapporteert alvorens de andere dierproeven te starten. De uitkomst van de pilotonderzoeken kan voor de Commissie aanleiding geven om bovenstaande voorwaarde (om voor alle dierproeven mannelijke en vrouwelijke dieren in evenredige aantallen te gebruiken) bij deze projectvergunning te handhaven, dan wel te wijzigen of in te trekken.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onvermijdelijk is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

Beoordeling achteraf

Volgens artikel 10a1, lid 1d en lid 3 van de wet worden projecten waarbij niet-menselijke primaten worden gebruikt, projecten die als ernstig ingedeelde dierproeven omvatten of een dierproef die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, achteraf beoordeeld worden. In dit project worden dierproeven toegepast die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van een beoordeling achteraf.

Deze beoordeling zal uiterlijk 31 augustus 2020 plaatsvinden. Er zal dan beoordeeld worden of de doelstellingen van het project werden bereikt. Daarnaast wordt bekeken of de schade die de dieren hebben ondervonden, het aantal en soorten proefdieren en de ernst van lijden van de proevendieren conform de vergunning waren.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stg DLO

[Redacted]

Postbus 59

6700 AW WAGENINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

www.zbo-ccd.nl

0900 28 000 28 (10 ct/min)

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD40100201562

Bijlagen

2

Datum 12-05-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw [Redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 11 mei 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD40100201562. Gebruik dit nummer wanneer u contact met de CCD opneemt.

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn bijgeschreven op de rekening van de CCD. Zodra uw aanvraag compleet is, ontvangt u binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te voldoen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan wordt uw aanvraag buiten behandeling gesteld. Dit betekent dat uw aanvraag niet beoordeeld wordt en u uw project niet mag starten.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 40100
Naam instelling of organisatie: Stg DLO
Naam portefeuillehouder of diens gemachtigde: [REDACTED]
KvK-nummer: 9098104
Straat en huisnummer: Akkermaalsbos 12
Postbus: 59
Postcode en plaats: 6700 AW WAGENINGEN
IBAN: NL10RABO0397066465
Tenaamstelling van het rekeningnummer: Wageningen UR

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]
Functie: Wetenschappelijk medewerker
Afdeling: CVI
Telefoonnummer: [REDACTED]
E-mailadres: [REDACTED]@wur.nl

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? Nieuwe aanvraag
 Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
 Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

Over uw project

Geplande startdatum: 1 juni 2015
Geplande einddatum: 1 juni 2020
Titel project: Ontwikkeling van influenza (griep) vaccins
Titel niet-technische samenvatting: Ontwikkeling van influenza (griep) vaccins
Naam DEC: DEC-DLO
Postadres DEC: Postbus 65, [REDACTED]
E-mailadres DEC: [REDACTED]@wur.nl

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 741,-
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: Projectvoorstel
 Beschrijving Dierproeven
 Niet-technische samenvatting
Overige bijlagen: DEC-advies

Ondertekening

Naam: [REDACTED]
Functie: gemandateerd vergunninghouder
Plaats: Wageningen
Datum: 11 mei 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stg DLO

████████████████████
Postbus 59
6700 AW WAGENINGEN
|||||

**Centrale Commissie
Dierproeven**
Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl
0900 28 000 28 (10 ct/min)

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD40100201562
Bijlagen
2

Datum 12-05-2015
Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur
Factuurdatum: 12 mei 2015
Vervaldatum: 11 juni 2015
Factuurnummer: 20157062

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvegrunning dierproeven Betreft aanvraag AVD40100201562	€ 741,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



nr. AVD40100201563

1

Aanvraag Projectvergunning Dierproeven Administratieve gegevens

- U bent van plan om één of meerdere dierproeven uit te voeren.
- Met dit formulier vraagt u een vergunning aan voor het project dat u wilt uitvoeren. Of u geeft aan wat u in het vergunde project wilt wijzigen.
- Meer informatie over de voorwaarden vindt u op de website www.zbo-ccd.nl of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 40100 <input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Stichting DLO
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	9098104
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Akkermaalsbos 12
		Postbus	59
		Postcode en plaats	6700AW Wageningen
		IBAN	NL10 RABO 0397066465
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Wageningen UR
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	wetenschappelijk onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]@wur.nl
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	<input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw.
		Functie	
		Afdeling	
		Telefoonnummer	
		E-mailadres	

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- | | |
|-----------------------------|--|
| (Titel) Naam en voorletters | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie | |
| Afdeling | |
| Telefoonnummer | |
| E-mailadres | |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > Stuur dan het ingevulde formulier *Melding Machtiging* mee met deze aanvraag
- Nee

2 Over uw aanvraag

- 2.1 Wat voor aanvraag doet u?
- Nieuwe aanvraag > Ga verder met vraag 3
- Wijziging op (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.2
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Vul uw vergunde projectnummer in en ga verder met vraag 2.3
- 2.2 Is dit een *wijziging* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor verleend is?
- Ja > Beantwoord dan in het projectplan en de niet-technische samenvatting alleen de vragen waarop de wijziging betrekking heeft en onderteken het aanvraagformulier
- Nee > Ga verder met vraag 3
- 2.3 Is dit een *melding* voor een project of dierproef waar al een vergunning voor is verleend?
- Nee > Ga verder met vraag 3
- Ja > Geef hier onder een toelichting en ga verder met vraag 6

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|----------------|
| Startdatum | 1 - 6 - 2015 |
| Einddatum | 31 - 12 - 2017 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--------------------------------|
| Naam DEC | DEC DLO |
| Postadres | Postbus 65, 8200 AB Wageningen |
| E-mailadres | ██████████@wur.nl |

4 Betaalgegevens

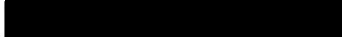
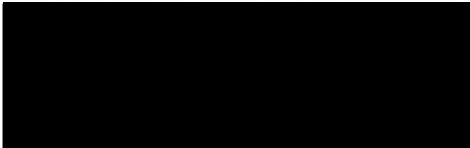
- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het? Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 741 Lege
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen. Via een eenmalige incasso
 Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ~~Melding-Machtiging~~ DEC-advies
- Beschrijving dierproeven
- * Bestelorder WUR 851591

6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:
- Centrale Commissie
 Dierproeven
 Postbus 20401
 2500 EK Den Haag
- Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
 - dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
 - dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
 - dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
 - dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam	
Functie	gemandateerd vergunninghouder
Plaats	Wageningen
Datum	30 - 4 - 2015
Handtekening	



01 MEI 2015

Postbus 59 | 6700 AB

Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Geachte heer, mevrouw,

Bijgevoegd treft u de hard copy aan van de aanvraag voor projectvergunning Robuuste Vleeskuikens van Stichting DLO. Het aanvraagnummer is AVD4010201563. De aanvraag inclusief bijlagen is ook digitaal aangeleverd.

Er is een bestelorder bijgevoegd ten behoeve van de facturering. Gelieve het bestelnummer (WUR851591) op de factuur te vermelden en bij voorkeur als pdf-bestand zenden aan invoices.cstaf@wur.nl

Met vriendelijke groet,



Bijlage: Aanvraag incl. bijlagen

Facilitair Bedrijf

DATUM
30 april 2015

ONDERWERP
Aanvraag projectvergunning
dierproeven

ONS KENMERK
15/08793/koops/su

POSTADRES
Postbus 59
[REDACTED]

BEZOEKADRES
Wageningen Campus
Gebouw 116
Akkermaalsbos 12
6708 WB Wageningen

INTERNET
www.wur.nl

KVK NUMMER
09100600

CONTACTPERSOON
[REDACTED]

TELEFOON
[REDACTED]

E-MAIL
[REDACTED]@wur.nl



08 MEI 2015

Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- 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 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Aanleiding

Nagenoeg alle commercieel gehouden pluimvee wordt wereldwijd uitgebreed in broederijen waarbij het broedproces in 2 fasen is opgedeeld. De eerste fase, de voorbroedfase, vindt plaats in de broedmachine en duurt 18 dagen. Na 18 dagen worden de eieren geschouwd, en enkel bevruchte eieren worden overgeplaatst naar uitkomstbakken die in een uitkomstmachine gezet worden. Hier vinden de laatste 3 dagen van het broeden plaats. De meest gangbare uitkomstmachines hebben een capaciteit van 10.000 tot 42.000 eieren. Een natuurlijke variatie in snelheid van embryonale ontwikkeling leidt tot een variatie in het moment van uitkomst. Deze variatie in uitkomst wordt bovendien beïnvloed door andere factoren, zoals kleine temperatuurverschillen tijdens het broeden, leeftijd van de moederdieren, en variatie in opslagduur van eieren. In praktijk resulteren deze factoren in een uitkomstspreading van 24-48 uur. De uitkomstkasten worden na een broedperiode van in totaal 21,5 dag geopend, waarna de kuikens uit de uitkomstbakken worden gehaald. Ze worden gescheiden van de eischalen en de niet-uitgekomen kuikens, geteld, gevaccineerd, en met vrachtwagens naar het vleeskuikenbedrijf of opfokbedrijf (in geval van leghennen of ouderdieren) gebracht. Tussen het moment van uitkomen en het plaatsen in de stal wordt aan de kuikens doorgaans geen voer of water verstrekt. Deze periode van voer- en wateronthouding kan in Nederlandse omstandigheden, waar de transportduur normaal gesproken kort is, oplopen tot zo'n 60 uur.

In de laatste jaren is er veel literatuur verschenen over de effecten van deze vroege periode van voer- en water onthouding op de ontwikkeling van het kuiken. Onder experimentele omstandigheden is aangetoond dat de ontwikkeling van het immuunsysteem, de darmen, de thermoregulatie, en de technische prestaties (groei, voederconversie) positief worden gestimuleerd als kuikens direct na uitkomst voer- en water tot hun beschikking krijgen.

Resultaten van de afgelopen 1,5 jaar laten zien dat de voordelen op gezondheidsvlak die in het [redacted] gerealiseerd werden (minder sterfte, geen antibiotica nodig), voor een groot deel ook met het [redacted] in gangbare praktijkstallen (grondstallen) behaald kunnen worden. De vroege voer- en watertoegang van kuikens lijkt daarbij een belangrijke rol te spelen. Echter, andere factoren, die tot op heden nauwelijks bestudeerd werden, lijken ook een belangrijke invloed te hebben op de kuikengezondheid. Met name de concentratie van stof en pathogenen tijdens het uitkomen van de eieren en de effecten van kuikenhandeling op de broederij en transport naar het vleeskuikenbedrijf lijken van belang te zijn.

De omstandigheden tijdens het uitkomen en de vroege opfokfase in de [redacted] en het [redacted], zoals luchttemperatuur, relatieve luchtvochtigheid,

luchtsnelheid, CO2 niveau, stofniveau, het al dan niet desinfecteren, luchtvolume per ei, en kuikenbehandeling en transport verschillen in grote mate van de omstandigheden die doorgaans in gangbare uitkomstsystemen worden gevonden. Zo is bijvoorbeeld de concentratie stof en CO2 in de lucht veel hoger in de uitkomstkast op de broederij dan wanneer kuikens op het vleeskuikenbedrijf uitkomen. Ook de luchtsnelheid, omgevingstemperatuur en relatieve luchtvochtigheid zijn veel hoger in een uitkomstkast dan op het vleeskuikenbedrijf. Hoewel het geen vooraf vastgesteld doel was om in het antibioticavrij te werken, bleek het nooit nodig te zijn antibiotica in te zetten sinds in gebruik name van een stal waarin sinds februari 2008 30.000 vleeskuikens worden gehouden (tot juli 2014 ging het om 42 productierondes, dus resultaten van ruim 1,2 miljoen dieren). Deze data geven sterke aanwijzingen voor een positief effect van de vroege leefomgeving op de kuikengezondheid. Hieruit volgt de hypothese dat de omstandigheden tijdens de perinatale fase in het uitkomst/opfokstelsel een positief effect kunnen hebben op de gezondheid van het vleeskuiken en daardoor op het antibioticagebruik. Welke van de omstandigheden hierbij kritisch zijn, is tot nu toe nog niet duidelijk.

Achtergrond

Er is veel onderzoek gepubliceerd naar omstandigheden tijdens de voorbroedfase (tot dag 18) op de embryonale ontwikkeling, uitkomstpercentage en kuikenkwaliteit. Onderzoek naar de effecten van uitkomstomstandigheden (dag 18-21) op de fysiologie en gezondheid van kuikens is echter nauwelijks beschikbaar. In de volgende paragrafen wordt een status van de huidige kennis gegeven.

Verschillende omgevingscondities die mogelijk de fysiologische en immunologische ontwikkeling van kuikens beïnvloeden zijn hierboven benoemd. In dit projectvoorstel beperken we ons tot stofconcentratie, pathogenen, en het al dan niet desinfecteren tijdens de uitkomst, in combinatie met het al dan niet aanbieden van voer- en water direct na het uitkomen, en het transporteren van kuikens, omdat deze het meest kritisch lijken te zijn voor kuikengezondheid. De huidige stand van zaken van kennis van het effect van deze afzonderlijke factoren wordt hieronder kort besproken.

Stofconcentratie en pathogenen

Tijdens het uitkomstproces worden hoge niveaus van stof geproduceerd (Tymczyna et al., 2007). Stof is een belangrijk transportmechanisme voor potentiële pathogenen (Cason et al., 1994, Cox et al., 1997, Chmielowiec-Korzeniowska et al., 2007). De combinatie van hoge stofconcentraties met hoge luchtsnelheden in de uitkomstmachine geeft een hoog potentieel risico op kruisbesmetting (Bailey et al., 1992). Mitchell et al. (2002) toonde aan dat een reductie in stofconcentratie door het gebruik van een electrostatisch ladingssysteem effectief in staat was het totale aantal aerobe bacteriën, enterobacteriën en Salmonella's in commerciële uitkomstsystemen te reduceren. Echter, deze kennis heeft tot nu toe nog niet geleid tot aanpassing van de omstandigheden in commerciële uitkomstsystemen.

Daarnaast is bekend dat het immuunsysteem van vleeskuikens in de perinatale fase nog niet gematureerd is. De combinatie van een hoge pathogene druk met een immatuur immuunsysteem kan resulteren in een verhoogd risico op infecties bij jonge vleeskuikens met nadelige gevolgen voor hun gezondheid in het latere leven, en mogelijk de noodzaak om antibiotica in te zetten.

Onderzoek naar de effecten van bovenstaande omgevingsfactoren tijdens de perinatale fase op de ontwikkeling en gezondheid van de vleeskuikens is niet bekend. De hypothese kan gesteld worden dat stof het effect van een hoge pathogene druk versterkt. Lai et al. (2009, 2011) toonde aan dat intratracheale toediening van pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMPs), die algemeen voorkomen op stof in stallen met vleeskuikens van 3 weken leeftijd, een negatief effect had op de lichaamsgroei, hartmorfologie en de immuunrespons van traag groeiende kuikens. Deze bevindingen suggereren dat stof het immuunsysteem zou prikkelen. Als het immuunsysteem op het zelfde moment wordt blootgesteld aan hoge niveaus van pathogenen kan dit resulteren in het overbelasten van het immuunsysteem en vervolgens in gezondheidsproblemen.

In kader van de match/mismatch hypothese beschreven door Schmidt (2011), kan men aan de andere kant stellen dat hoge stof- en pathogeenconcentraties in het vroege kuikenleven het immuunsysteem zouden stimuleren en de maturatie van het immuunsysteem zouden ondersteunen, zodat het zich aanpast op het stof- en pathogeen niveau dat het kuiken in het latere leven tegen zal komen (Lai et al., 2012, Prokopakis et al., 2013). Het vergroten van de kennis van de effecten van stof en pathogenen tijdens de perinatale fase op de kuikengezondheid gedurende het hele leven helpt daarom bij het verbeteren van de

omgeving waarin de kuikens uitkomen en het beter aanpassen van deze omstandigheden op de behoeften van het kuiken in relatie tot de omstandigheden op het vleeskuikenbedrijf.

Desinfecteren tijdens de uitkomstfase

Om de druk van ziektekiemen tijdens de uitkomstfase te reduceren, worden uitkomstkasten tijdens het uitkomen in broederijen normaal gesproken ontsmet met formaldehyde of waterstofperoxide. Het is algemeen bekend dat deze middelen een negatief effect hebben op het luchtwegepitheel. Sander et al. (1995) toonde aan dat formaldehyde blootstelling resulteert in afgestompte trilhaartjes in de luchtpijp en een negatief effect heeft op de mobiliteit van de trilhaartjes. Zulkifli et al. (1999) demonstreerde dat formaldehyde blootstelling resulteert in een toename aan laesie scores van het luchtpijp-epitheel direct na blootstelling waarbij mogelijk entree poorten voor lucht gedragen pathogenen worden gecreëerd. Daarnaast werd een verhoogde voerconversie (VC) aangetoond in kuikens die aan formaldehyde werden blootgesteld in vergelijking met de onbehandelde kuikens (VC $0,95 \pm 0,02$ vs. $0,85 \pm 0,02$ voor formaldehyde vs. onbehandeld) in de eerste levensweek, terwijl lichaamsgewichten gelijk waren tussen de experimentele groepen. Dit verschil in VC hield aan tot aan het einde van de groeiperiode van de kuikens. Een hogere VC met vergelijkbare lichaamsgewichten duidt op een toename aan energiegebruik door de behandelde kuikens. Gesuggereerd werd dat de blootstelling aan formaldehyde een stressrespons induceert, wat energie kost waardoor deze minder in gezet kan worden voor groei (Zulkifli et al., 1999). Een andere werkingsmechanisme kan zijn dat de toename in laesies in het epitheel door formaldehyde blootstelling resulteert in een hogere vatbaarheid van de kuikens voor pathogene infecties, waardoor het immuunsysteem meer energie zou vragen in de groeiperiode.

Desinfectie met formaldehyde tijdens het uitkomstproces wordt ingezet om de pathogene druk te reduceren. Lourens et al. (2011) vonden geen verschillen in uitval tussen kuikens die aan formaldehyde werden bloot gesteld en kuikens die dat niet werden. Echter, de oorzaken van de uitval leken wel te verschillen. Kuikens die aan formaldehyde werden blootgesteld hadden een hogere uitval door longinfecties, terwijl de doodsoorzaken bij niet-blootgestelde kuikens voornamelijk dooierzakontstekingen en enteritis bleken. Het kan daarom worden geconcludeerd dat formaldehyde, hoewel het voordelen geeft door verlaagde druk van ziektekiemen tijdens uitkomen, voor kuikens ook een mogelijk negatief effect creëert op gezondheidsgebied. Het vergroten van kennis over de effecten van desinfectie tijdens het uitkomstproces op de gezondheid gedurende het gehele leven is daarom essentieel voor het optimaliseren van de condities waaronder het kuiken uit het ei komt.

Transport

Transport van eendagskuikens is een multifactoriële stressor, die o.a. bestaat uit veranderingen in omgevingstemperaturen, beweging, geluid en vibraties. Mitchell (2009) identificeerde thermische condities tijdens transport als een van de belangrijkste kritische punten als het gaat om gezondheid, welzijn en fysiologische stress in eendagskuikens. Andere factoren, zoals het hanteren van kuikens, voer- en wateronthouding, geluid en vibraties werden genoemd als stressvolle condities tijdens transport van vleeskuikens naar de slachterij (Mitchell and Kettlewell, 1998, Kettlewell et al., 2000). Studies naar de effecten van stress door eendagskuikentransport op de kuikengezondheid zijn niet gevonden. Onderzoek toonde echter aan dat hittestress de darmgezondheid van kuikens van 35 tot 41 dagen leeftijd beïnvloedt (Quinteiro-Filho et al., 2012, Akbarian et al., 2013). Bovendien toonden Hu et al. (2013) aan dat de combinatie van stressoren bij het spenen van biggen een negatief effect had op de morfologie van de darmwand. Villus hoogte en darmwand functie namen af na het spenen van 20 dagen oude biggen. De abrupte veranderingen in de omgeving die gepaard gaan met spenen van biggen vertonen gelijkenissen met de veranderingen die een eendagskuiken ondergaat wanneer het uit de uitkomstmachine gehaald, gehanteerd en getransporteerd wordt en blootgesteld wordt aan een nieuwe leefomgeving. Echter, onderzoek toont aan dat het eendagskuiken geen stressrespons vertoont dankzij een tijdelijke reductie in de gevoeligheid van de adrenale corticale cellen voor corticosteron (Wise and Frye, 1973, Freeman, 1982), en dat de gevoeligheid van kuikens ongeveer 24-36 uur na uitkomst terug keert (Freeman and Flack, 1980). Door de gebruikelijke uitkomst- en de kuikenbehandelingsprocedures zal echter een groot deel van de kuikens minimaal 24 uur oud zijn voordat ze op transport gaan. Mogelijk zijn kuikens daarom toch gevoelig voor stress tegen de tijd dat ze getransporteerd worden. De effecten van transport op de gezondheid van zowel pas uitgekomen kuikens als in het latere leven zijn onbekend. De hypothese kan gesteld worden dat een combinatie van een hoge pathogene druk tijdens de uitkomstfase gecombineerd met transportstress kan resulteren in een

slechter vermogen van de kuikens om zich aan te passen aan de omstandigheden in de vleeskuiken stal met mogelijke consequenties voor de gezondheid van het kuiken in het latere leven.

Moment van eerste voer- en wateropname

Door het hele proces van uitkomen, kuikenverzameling en transport kan de tijd tussen uitkomst en moment van eerste voer- en wateropname oplopen tot 60 uur. Onderzoek heeft aangetoond dat het moment van eerste voeropname na uitkomst een negatief effect heeft op de ontwikkeling van organen, en de adaptieve capaciteit van kuikens gedurende hun hele leven (Friedman et al., 2003, Walstra, 2011, Van de Ven, 2012). Daarnaast toonde onderzoek aan dat de effecten van voeronthouding na uitkomst leiden tot een suboptimaal technisch presteren van het dier en een verhoogde uitval (Stamps and Andrews, 1995, Halevy et al., 2000, Gonzales et al., 2003).

Dibner et al. (1998) demonstreerde dat het vroeg voeren de ontwikkeling van het immuunsysteem stimuleert. Direct gevoerde dieren hadden hogere bursa gewichten en een grotere lymfocyten proliferatie vergeleken met de niet direct gevoerde kuikens.

Gibbons (1997) toonde aan dat de darm van een kuiken normaal gesproken steriel is op het moment van uitkomen. Bacteriële kolonisatie van de darm begint op het moment dat het kuiken uitkomt en is afhankelijk van de microbiotische samenstelling die het kuiken opneemt uit zijn omgeving (Hrcir et al., 2008). Walstra (2011) stelde dat de kolonisatie van direct gevoerde dieren anders zal zijn dan van niet gevoerde dieren omdat de microbiota die aanwezig zijn in het voer verschillen van microbiota in de leefomgeving. Het kan daarom geconcludeerd worden dat het moment van eerste voeropname de gezondheid en ontwikkeling van jonge kuikens beïnvloedt met mogelijke gevolgen in het latere leven.

Context

Antibioticagebruik is een grote zorg in de huidige vleeskuikenproductie. Een belangrijke reden voor deze zorg is het risico op de ontwikkeling van antibioticaresistentie in bacteriën door een te hoge antibiotica blootstelling en de mogelijke gevaren voor de volksgezondheid (Mevius et al., 2012). Alhoewel in de afgelopen jaren het antibioticagebruik in de vleeskuikenhouderij aanzienlijk is gedaald, is het noodzakelijk het gebruik verder te reduceren. Om een verdere daling te realiseren zal de kuikengezondheid gedurende het hele leven verbeterd moeten worden, dus, zal het vleeskuiken robuuster moeten worden. Naar verwachting heeft een toegenomen robuustheid van het vleeskuiken niet alleen een positief effect op het antibioticagebruik, maar zullen ook andere welzijnsaspecten en de technische resultaten positief beïnvloed worden. Daarmee wordt ook het economisch rendement van de vleeskuikenhouderij positief beïnvloed. Tesaamen zullen deze effecten leiden tot een meer duurzame vorm van vleeskuikens houden. Daarmee voldoet dit project aan de ontwikkeling van een meer duurzame vorm van veehouderij in Nederland en daarbuiten.

Referenties:

- Akbarian, A., Golian, A., Kermanshahi, H., Farhoosh, R., Raji, A. R., De Smet, S. & Michiels, J. 2013. Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11, 109-119.
- Bailey, J., Cox, N., Blankenship, L. & Stern, N. 1992. Hatchery contamination reduces the effectiveness of competitive exclusion treatments to control *Salmonella* colonization of broiler chicks. *Poultry Sci*, 71.
- Cason, J. A., Cox, N. A. & Bailey, J. S. 1994. Transmission of *Salmonella typhimurium* during hatching of broiler chicks. *Avian Diseases*, 38, 583-588.
- Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyna, L., Skórska, C., Sitkowska, J., Cholewa, G. & Dutkiewicz, J. 2007. Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 141-150.
- Cox, N. A., Bailey, J. S. & Berrang, M. E. 1997. The presence of *listeria monocytogenes* in the integrated poultry industry. *Journal of Applied Poultry Research*, 6, 116-119.
- Dibner, J. J., Knight, C. D., Kitchell, M. L., Atwell, C. A., Downs, A. C. & Ivey, F. J. 1998. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7, 425-436.
- Freeman, B. M. 1982. Stress non-responsiveness in the newly-hatched fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 72, 251-253.

- Freeman, B. M. & Flack, I. H. 1980. Effects of handling on plasma corticosterone concentrations in the immature domestic fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 66 A, 77-81.
- Friedman, A., Bar-Shira, E. & Sklan, D. 2003. Ontogeny of gut associated immune competence in the chick. *World's Poultry Science Journal*, 59.
- Gibbons, R. J. 1997. Adherence of bacteria to host tissue. In: *Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Gonzales, E., Kondo, N., Saldanha, É. S. P. B., Loddy, M. M., Careghi, C. & Decuyper, E. 2003. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poultry Science*, 82, 1250-1256.
- Halevy, O., Geyra, A., Barak, M., Uni, Z. & Sklan, D. 2000. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. *Journal of Nutrition*, 130, 858-864.
- Hrnčir, T., Stepankova, R., Kozakova, H., Hudcovic, T. & Tlaskalova-Hogenova, H. 2008. Gut microbiota and lipopolysaccharide content of the diet influence development of regulatory T cells: Studies in germ-free mice. *BMC Immunology*, 9.
- Hu, C. H., Xiao, K., Luan, Z. S. & Song, J. 2013. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs. *Journal of Animal Science*, 91, 1094-1101.
- Kettlewell, P. J., Hoxey, R. P. & Mitchell, M. A. 2000. Heat produced by broiler chickens in a commercial transport vehicle. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, 75, 315-326.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Aarnink, A. J. A., Kemp, B. & Parmentier, H. K. 2012. Effects of 2 size classes of intratracheally administered airborne dust particles on primary and secondary specific antibody responses and body weight gain of broilers: A pilot study on the effects of naturally occurring dust. *Poultry Science*, 91, 604-615.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Kemp, B., Aarnink, A. J. A. & Parmentier, H. K. 2009. Effects of dust and airborne dust components on antibody responses, body weight gain, and heart morphology of broilers. *Poultry Science*, 88, 1838-1849.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Kemp, B., Aarnink, A. J. A. & Parmentier, H. K. 2011. Effects of repeated intratracheally administered lipopolysaccharide on primary and secondary specific antibody responses and on body weight gain of broilers. *Poultry Science*, 90, 337-351.
- Lourens, A., Jansman, A., Rebel, J., van Harn, J., Veldkamp, T., Stockhofe-Zurwieden, N., Melchior, M., van Emous, R. A. & Kense, M. 2011. Verminderen antibioticagebruik in de vleeskuikensector. Rapport Wageningen UR Livestock Research, Lelystad.
- Mevius, D. J., Koene, M. G. J., Wit, B., Pelt, W. v. & Bondt, N. 2012. MARAN 2010/2011 : Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2009. Wageningen UR, Wageningen.
- Mitchell, B. W., Buhr, R. J., Berrang, M. E., Bailey, J. S. & Cox, N. A. 2002. Reducing airborne pathogens, dust and Salmonella transmission in experimental hatching cabinets using an electrostatic space charge system. *Poultry Science*, 81, 49-55.
- Mitchell, M. A. 2009. Chick transport and welfare. *Avian Biology Research*, 2, 99-105.
- Mitchell, M. A. & Kettlewell, P. J. 1998. Physiological Stress and Welfare of Broiler Chickens in Transit: Solutions Not Problems! *Poultry Science*, 77, 1803-1814.
- Prokopakis, E., Vardouniotis, A., Kawauchi, H., Scadding, G., Georgalas, C., Hellings, P., Velegrakis, G. & Kalogjera, L. 2013. The pathophysiology of the hygiene hypothesis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 77, 1065-1071.
- Quinteiro-Filho, W. M., Gomes, A. V. S., Pinheiro, M. L., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Astolfi-Ferreira, C. S., Ferreira, A. J. P. & Palermo-Neto, J. 2012. Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with *Salmonella Enteritidis*. *Avian Pathology*, 41, 421-427.
- Sander, J. E., Wilson, J. L., Rowland, G. N. & Middendorf, P. J. 1995. Formaldehyde vaporization in the hatcher and the effect on tracheal epithelium of the chick. *Avian Diseases*, 39, 152-157.
- Schmidt, M. V. 2011. Animal models for depression and the mismatch hypothesis of disease. *Psychoneuroendocrinology*, 36, 330-338.
- Stamps, L. K. & Andrews, L. D. 1995. Effects of delayed housing of broiler chicks and three different types of waterers on broiler performance. *Poultry Science*, 74, 1935-1941.
- Tymczyna, L., Chmielowiec-Korzeniowska, A. & Drabik, A. 2007. The effectiveness of various biofiltration substrates in removing bacteria, endotoxins, and

dust from ventilation system exhaust from a chicken hatchery. Poultry Science, 86, 2095-2100.

Van de Ven, L. J. F. 2012. Effects of hatching time and hatching system on broiler chick development. Adaptation physiology. Wageningen University.

Walstra, I. 2011. Adaptive capacity of rearing hens : effects of early life conditions. PhD Thesis, Wageningen University.

Wise, P. M. & Frye, B. E. 1973. Functional development of the hypothalamo hypophyseal adrenal cortex axis in the chick embryo, Gallus domesticus. Journal of Experimental Zoology, 185, 277-292.

Zulkifli, I., Fauziah, O., Omar, A. R., Shaipullizan, S. & Siti Selina, A. H. 1999. Respiratory Epithelium, Production Performance and Behaviour of Formaldehyde-exposed Broiler Chicks. Veterinary Research Communications, 23, 91-99

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het doel van dit onderzoek is het identificeren van factoren in het vroege leven van het vleeskuiken die van belang zijn voor een optimale diergezondheid en dierenwelzijn gedurende het gehele leven, zodat geen antibiotica ingezet hoeven te worden en de kwaliteit van het eindproduct optimaal is. Deze kennis wordt toegepast in de ontwikkeling van nieuwe vleeskuikensystemen waarin diergezondheid en dierenwelzijn zijn verbeterd ten opzichte van de huidige systemen.

Om het doel te bereiken zullen de volgende kennisvragen beantwoord moeten worden:

- 1 Hoe beïnvloeden gebeurtenissen rondom uitkomen en in de eerste levensdagen de fysiologische, immunologische en gedragsmatige ontwikkeling van het kuiken, niet alleen in de eerste levensdagen maar ook tot aan de slachtleeftijd, en onder praktijkomstandigheden?
- 2 Welke invloed hebben gebeurtenissen rondom uitkomen en in het vroege leven op de diergezondheid gedurende het gehele leven, en daaraan gerelateerd op de technische prestaties en de kwaliteit van het eindproduct, dus op het economisch rendement van de vleeskuikenhouderij?
- 3 Welke factoren in het vroege leven zijn van belang voor het ontwerpen van nieuwe of verbeteren van bestaande huisvestingssystemen voor vleeskuikens, teneinde te komen tot een duurzame, maatschappelijk geaccepteerde en rendabele kuikenvleesproductie en een gegarandeerd residu-vrij en kwalitatief hoogwaardig eindproduct?

Haalbaarheid:

Verwacht wordt dat door de nauwe afstemming van het huidige project met een parallel lopend promotieonderzoek en de nauwe betrokkenheid van het bedrijfsleven in het project (systeemontwikkelaars, vleeskuikenhouders) de hierboven geschreven doelen haalbaar zijn binnen de duur van het project. Vertraging zal naar verwachting alleen optreden als door externe omstandigheden, bijvoorbeeld door het optreden van een besmettelijke dierziekte, de vleeskuikenbedrijven gedurende een bepaalde periode niet toegankelijk zullen zijn.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het maatschappelijk belang komt tot uiting in de implementatie van systemen met een optimale bescherming voor welzijn en gezondheid van vleeskuikens, veilig voor consument en omgeving en in ketenverband borgbaar, waarbij gestreefd wordt naar het ontwerpen van systemen voor vleeskuikens waar het inzetten van antibiotica ter bescherming van de diergezondheid overbodig zal zijn. Dit draagt bij aan de vermindering van de antibioticumresistentie en dus aan vermindering van het risico voor de volksgezondheid. Daarnaast worden naar verwachting andere aspecten van duurzaamheid (economische prestatie en dierenwelzijn) ook positief beïnvloed waardoor dit onderzoek bijdraagt aan de ontwikkeling van duurzame veehouderijsystemen.

De wetenschappelijke meerwaarde is dat het hier beschreven project nieuwe kennis genereert over het effect van factoren tijdens het vroege leven op gezondheid en welzijn in de latere levensfase. Tot op heden is veel onderzoek uitgevoerd naar de omstandigheden in de voorbroedfase (dag 1-18), met name temperatuur, CO2 gehalte en luchtvochtigheid, op uitkomstpercentage, embryo ontwikkeling en kuikenkwaliteit. Over de omstandigheden tijdens het uitkomstproces in de huidige uitkomstsystemen en de logistiek rondom het kuiken, tot de vleeskuikenstal aan toe, is echter weinig bekend. De mate waarin de kwaliteit van het eindproduct door deze condities beïnvloed wordt is nauwelijks onderzocht. Kennis die dit onderzoek oplevert wordt verder vertaald naar optimalisatie van gangbare vleeskuikensystemen en de ontwikkeling van nieuwe vleeskuikensystemen.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

De uitvoering van het hier beschreven project loopt in nauwe samenhang met een promotieonderzoek aan de [REDACTED]. Het promotie onderzoek is begin 2014 gestart en loopt gedeeltelijk vooraf aan en gedeeltelijk gelijktijdig met het hier beschreven project. Waar het promotie onderzoek zich richt op de ontwikkeling van fundamentele kennis (onderliggende mechanismen ten grondslag aan het effect van uitkomstomstandigheden op kuikengezondheid) en ontwikkeling van meetmethodieken, richt het hier beschreven project zich op ontwikkeling en toepassing van deze kennis op praktijkschaal, als logische tussenstap naar volledige implementatie van kansrijke nieuwe systemen in de praktijk. Daarmee wordt in het hier beschreven onderzoek niet alleen fundamentele kennis ontwikkeld maar ook toegepast onderzoek uitgevoerd.

Samenhang tussen het hier beschreven onderzoek en bovengenoemd promotietraject en algemene opzet van dit project:

In het promotieonderzoek worden op experimentele schaal (in klimaatrespiratiecellen) kritische factoren in de uitkomstfase en in de periode tussen uitkomst en plaatsing in de stal geïdentificeerd die de vroege immunologische en fysiologische ontwikkeling van vleeskuikens beïnvloeden. In het promotieonderzoek ligt de focus op de effecten van uitkomstomstandigheden op diergezondheid en technische kenmerken in de eerste levensdagen. Het promotie onderzoek richt zich met name op de factoren stofconcentratie, pathogene druk in het uitkomststelsel, het al dan niet desinfecteren van kuikens, de kuikenhandeling en -transport, en de risico's op kruisbesmetting tijdens de logistieke operatie in de broederij. De resultaten uit dit promotieonderzoek worden gebruikt om binnen het hier beschreven onderzoek testen op praktijkschaal uit te voeren die nodig zijn voor de uiteindelijke toepassing van de kennis in de praktijk. In de praktijktesten worden de effecten van omstandigheden in de perinatale fase op kuikengezondheid en -welzijn in het latere leven onderzocht, en wordt het effect van omstandigheden in de perinatale fase op de kwaliteit van het eindproduct in de slachterij en het economisch rendement onderzocht. Daartoe wordt een serie van maximaal vijf praktijkproeven opgezet (op commerciële vleeskuikenbedrijven) waarin ofwel afzonderlijke factoren worden getoetst ofwel een complete systeemvergelijking wordt uitgevoerd. Welke factoren worden getoetst hangt af van de resultaten van bovengenoemd promotie onderzoek en de resultaten van voorafgaande praktijkproeven. Er is dus een intensieve wisselwerking tussen het hier beschreven project en het promotie onderzoek.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Er zal een serie praktijkproeven worden opgezet (op commerciële vleeskuikenbedrijven) om de invloed van de kritische factoren in de perinatale fase op diergezondheid, dierwelzijn en technische prestatie gedurende de gehele groeiperiode van de vleeskuikens te onderzoeken. In de praktijktesten worden kuikens afkomstig van eenzelfde koppel moederdieren voorgebroed onder gelijke condities, maar uitgebroed onder verschillende omstandigheden en gedurende de gehele periode op het vleeskuikenbedrijf tot aan de slacht gevolgd. Tijdens de groeiperiode worden gegevens verzameld over de technische prestatie, immunologische parameters, diergezondheid, adaptieve capaciteit en welzijn. Daarnaast wordt de slachtkwaliteit van deze dieren bestudeerd.

De technische prestaties omvatten het uitkomstpercentage, kuikengewicht, % 2e soort kuikens (kuikens die niet verder het productieproces ingaan maar

worden gedood, bijvoorbeeld vanwege lichamelijke afwijkingen), groei, voederconversie en uitval van de dieren.

Om de immunologische ontwikkeling te volgen zal bij een aantal kuikens bloed afgenomen worden om de capaciteit van het immuunsysteem te kunnen bepalen en/of de respons tegen specifieke antigenen.

Om inzicht te krijgen in de adaptieve capaciteit van de kuikens kunnen naast de gedragswaarnemingen (zie onder) hormoonbepalingen (bijvoorbeeld het stresshormoon corticosteron) worden uitgevoerd en kan ook de heterofiel:lymfocyt ratio in het bloed worden bepaald (indicator voor chronische stress bij kippen). Dit kan in dezelfde bloedmonsters als voor bepaling van de immunologische ontwikkeling.

Om meer inzicht te krijgen in effecten op diergezondheid zullen secties worden uitgevoerd bij een steekproef van kuikens per stal en zal specifiek worden gekeken naar orgaanontwikkeling en pathologieën. Ten minste de darm- en longontwikkeling zullen uitgebreider worden bestudeerd door het nemen van weefselmonsters van deze organen. Cloacaswabs worden genomen om de microbiële samenstelling van de darmen te bepalen of meer specifiek naar de aanwezigheid van pathogenen te kijken.

Om het kuikenwelzijn te beoordelen wordt gebruik gemaakt van het Welfare Quality® monitoringsprotocol (Welfare Quality, 2009) dat indien nodig aangevuld wordt met meer uitgebreide gedragswaarnemingen. Standaard worden binnen het Welfare Quality® monitoringsprotocol de volgende kenmerken gemeten bij een steekproef van kuikens per koppel: voetzoollesies, hakdermatitis, borstirritatie, locomotie, koppelgedrag, angstigheid, hijgen/samenscholen, bevulling. Aanvullende gedragswaarnemingen zijn gericht op de snelheid waarmee eendagskuikens voer- en water opnemen, de mate van uitputting bij eendagskuikens, algemene activiteit en de mate waarin natuurlijk gedrag wordt uitgevoerd over de gehele groeiperiode.

Bij de beoordeling van de slachtkwaliteit wordt gekeken naar slachttrendement, pathologische afwijkingen (o.a. aan longen, darmen, lever, poten) en vleeskwaliteit.

De variatie op praktijkbedrijven is veel groter dan onder experimentele condities. Dit wordt veroorzaakt door verschillen in management (bijvoorbeeld klimaatinstellingen, type voer), maar ook doordat bijvoorbeeld kuikens worden aangeleverd vanuit meerdere broederijen en van verschillende leeftijd ouderdieren. Daarom is het noodzakelijk om voldoende herhalingen op te nemen in de verschillende experimenten. Er zijn maximaal 12 praktijkbedrijven beschikbaar voor onderzoek. Deze bedrijven zijn uitgerust met twee gelijke stallen waar de experimentele- en controlebehandelingen gehuisvest kunnen worden en hebben een afspraak met het projectteam over het meewerken aan het onderzoek. Afhankelijk van de te verwachten variatie kan het onderzoek gedurende meerdere productierondes (uitgangspunt maximaal 2 productierondes per experiment) worden uitgevoerd. De vleeskuikenhouders krijgen van tevoren een duidelijk instructie op een voorlichtingsbijeenkomst en worden intensief begeleid door de betrokken partijen Vencomatic en Agrosupply, de dierenarts van de broederij en betrokken onderzoekers.

In totaal zullen er maximaal 5 experimenten onder praktijkcondities worden uitgevoerd, voortbouwend op het gelijktijdig uitgevoerd promotieonderzoek bij [REDACTED] en de resultaten van voorafgaande experimenten. Deze experimenten zijn deels gelijk van opzet en dienen allen hetzelfde doel (inzicht in factoren tijdens het uitkomen van vleeskuikens die bepalend zijn voor diergezondheid en het ontwerpen van nieuwe vleeskuikensystemen op basis van deze kennis). De afzonderlijke factoren die worden getoetst en de uitleesparameters kunnen per experiment verschillen. Hieronder geven we globaal de opzet van de vijf experimenten (looptijd 2015 tot en met 2017):

1. Inzicht in verschillen in diergezondheid tussen kuikens uitgekomen in de broederij en in de stal [REDACTED] (systeemvergelijking) en aanvullende metingen ter bepaling van verschillen in andere duurzaamheidsindicatoren tussen beide systemen. Deze proef is erop gericht meer inzicht te krijgen in welke aspecten van diergezondheid kuikens uitgekomen in de stal en op de broederij verschillen. Bekend is dat kuikens gezonder zijn als ze [REDACTED] in de stal uitkomen en dat er tot nu toe geen antibiotica nodig zijn. Maar in welke gezondheidsaspecten verschillen deze kuikens? Dit experiment geeft inzicht in mogelijk oorzakelijke factoren (specifieke condities tijdens uitkomen) die bepalend zijn voor diergezondheid en zal daarmee belangrijke informatie geven t.b.v. het ontwerp van vervolgentoetsen (zowel onder praktijk- als experimentele omstandigheden). Daarnaast geeft dit onderzoek een beeld van mogelijk andere verschillen in duurzaamheidskenmerken tussen de uitkomstsystemen, wat van belang is voor de uiteindelijke toepassing en acceptatie van nieuwe systemen in de praktijk en door de maatschappij.

2. Onderzoek naar effecten van kuikentransport. Verwacht wordt dat kuikentransport stress veroorzaakt bij jonge kuikens en daarmee een groot effect kan hebben op weerstand, gezondheid en dierenwelzijn. Experimenten zullen uitgevoerd worden waarbij kuikens van een gelijke afkomst worden uitbroeid in

uitkomstsystemen waarbij kuikentransport als extra factor ingebracht wordt. Kuikens worden onder praktijkcondities gehouden tot aan slachtleeftijd en kenmerken van diergezondheid, dierenwelzijn, technische prestatie en kwaliteit van het eindproduct worden gemeten.

3. Eventueel vervolgonderzoek met betrekking tot het effect van handeling op de broederij en transport van eendagskuikens. Hierbij wordt voortgebouwd op experiment 2 en wordt het effect van afzonderlijke factoren die samenhangen met transport onderzocht (bijvoorbeeld vibratie en/of geluid) of wordt onderzoek uitgevoerd naar de wijze van handeling op de broederij. De exacte invulling van dit experiment is afhankelijk van de resultaten van experiment 2 en de uitkomsten van het promotie onderzoek. Mocht voorafgaand onderzoek geen aanleiding geven om het onderzoek naar transport en handeling voort te zetten, maar wel aanleiding geven naar verder onderzoek naar het effect van desinfectie op de broederij, dan kan in deze proef ook wel/geen desinfectie als factor worden ingebracht.

4. Risico's van kruisbesmetting tijdens kuikenhandeling en – transport en de invloed daarvan op kuikengezondheid in het latere leven en de productkwaliteit. Naar verwachting kan kruisbesmetting in de broederij grote effecten hebben op diergezondheid. In dit experiment wordt dit specifieke aspect van de broederijomstandigheden onderzocht.

5. Het laatste experiment is weer een systeemvergelijking, waarbij een combinatie van verschillende niveaus van stof, pathogenen, het al dan niet desinfecteren en kuikenhandeling en transport samen komen in verschillende uitkomstsystemen. Kuikengezondheid en –welzijn, en technisch presteren (inclusief medicijngebruik) in het latere leven en slachtkwaliteit worden gevolgd van kuikens die in de verschillende systemen uitkomen. Ook wordt het economisch rendement bepaald.

Referentie: Welfare Quality, 2009. The Welfare Quality assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality Consortium, Lelystad, The Netherlands.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De experimenten onder praktijkomstandigheden sluiten nauw aan op het fundamenteel onderzoek in het kader van het promotie onderzoek bij [REDACTED]. Daar waar het promotie onderzoek wordt uitgevoerd onder experimentele omstandigheden en de mogelijkheid biedt om meetmethoden te ontwikkelen en/of intensieve meetmethoden toe te passen om inzicht te krijgen in de effecten van de verschillende factoren tijdens het uitkomen van eieren, richt het hier beschreven onderzoek zich op praktijkcondities, teneinde de resultaten te kunnen toepassen in de commerciële vleeskuikenproductie.

Het hier beschreven onderzoek is een noodzakelijke tussenstap voor implementatie van nieuwe systemen in de praktijk. Immers, de omstandigheden op experimentele schaal (in dit geval in klimaatrespiratiecellen) zijn perfect toegerust om mechanismen te onderzoeken maar vaak niet representatief voor omstandigheden op praktijkbedrijven die veel variabelere (en dus minder controleerbare) zijn. Daarnaast is het van belang om niet alleen de effecten van uitkomstomstandigheden op diergezondheid te bepalen, maar juist ook op de technische prestatie en productkwaliteit onder praktijkcondities. Wanneer deze positief worden beïnvloed door de behandelingen, zal de sector veel eerder geneigd zijn om systeemveranderingen door te voeren.

De (maximaal) vijf experimenten hebben een logische samenhang. Het eerste experiment is een systeemvergelijking en richt zich op nader onderzoek naar verschillen tussen systemen waarbij kuikens in de broederij en in de stal uitkomen. Deze proef zal richting geven aan het onderzoek naar onderliggende mechanismen en leiden tot een meer gericht vervolgonderzoek, zowel onder praktijk- als experimentele condities. Daarnaast is dit onderzoek van belang om een indruk te krijgen van mogelijk andere duurzaamheidsaspecten waarin de uitkomstsystemen verschillen. De drie vervolgonderzoeken richten zich op afzonderlijke factoren waarvan wij op dit moment inschatten dat deze een groot effect kunnen hebben op kuikengezondheid en -welzijn: transport, handeling en kruisbesmetting op de broederij. Eventueel kan daar de factor ontsmetting bij komen. Naar aanleiding van de resultaten van deze experimenten en de resultaten van het promotie onderzoek (apart project) wordt als laatste stap weer een systeemvergelijking uitgevoerd. Deze laatste systeemvergelijking is een 'proof of principle', waarbij het tot nu toe gangbare systeem wordt vergeleken met een systeem waarbij de uitkomstcondities zo

ideaal mogelijk zijn. In dit experiment wordt ook het economisch rendement bepaald omdat dat van belang is voor toepassing in de praktijk.

Na ieder experiment is er sprake van een go-no go moment en wordt besloten wat de invulling is van het volgende experiment. Indien het resultaat bereikt kan worden met minder dierproeven zal dat uiteraard ook worden gedaan. Binnen de looptijd van het project is de volgende fasering is voorzien:

Jaar 1 (2015): experiment 1. Keuzemoment invulling experiment 2 (eind 2015)

Jaar 2 (2016): experiment 2 en 3. Keuzemoment invulling experiment 3 (mei-juni 2016) en 4 (eind 2016)

Jaar 3 (2017): experiment 4 en 5. Keuzemoment invulling experiment 5 (mei-juni 2017).

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken
2	
3	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- 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 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Aanleiding

Nagenoeg alle commercieel gehouden pluimvee wordt wereldwijd uitgebroed in broederijen waarbij het broedproces in 2 fasen is opgedeeld. De eerste fase, de voorbroedfase, vindt plaats in de broedmachine en duurt 18 dagen. Na 18 dagen worden de eieren geschouwd, en enkel bevruchte eieren worden overgeplaatst naar uitkomstbakken die in een uitkomstmachine gezet worden. Hier vinden de laatste 3 dagen van het broeden plaats. De meest gangbare uitkomstmachines hebben een capaciteit van 10.000 tot 42.000 eieren. Een natuurlijke variatie in snelheid van embryonale ontwikkeling leidt tot een variatie in het moment van uitkomst. Deze variatie in uitkomst wordt bovendien beïnvloed door andere factoren, zoals kleine temperatuurverschillen tijdens het broeden, leeftijd van de moederdieren, en variatie in opslagduur van eieren. In praktijk resulteren deze factoren in een uitkomstspreading van 24-48 uur. De uitkomstkasten worden na een broedperiode van in totaal 21,5 dag geopend, waarna de kuikens uit de uitkomstbakken worden gehaald. Ze worden gescheiden van de eischalen en de niet-uitgekomen kuikens, geteld, gevaccineerd, en met vrachtwagens naar het vleeskuikenbedrijf of opfokbedrijf (in geval van leghennen of ouderdieren) gebracht. Tussen het moment van uitkomen en het plaatsen in de stal wordt aan de kuikens doorgaans geen voer of water verstrekt. Deze periode van voer- en wateronthouding kan in Nederlandse omstandigheden, waar de transportduur normaal gesproken kort is, oplopen tot zo'n 60 uur.

In de laatste jaren is er veel literatuur verschenen over de effecten van deze vroege periode van voer- en water onthouding op de ontwikkeling van het kuiken. Onder experimentele omstandigheden is aangetoond dat de ontwikkeling van het immuunsysteem, de darmen, de thermoregulatie, en de technische prestaties (groei, voederconversie) positief worden gestimuleerd als kuikens direct na uitkomst voer- en water tot hun beschikking krijgen. Vencomatic werkt sinds 2006 aan een alternatieve oplossing (op praktijkschaal) om kuikens direct na het uitkomen voer- en watertoegang te geven: 18-daagse voorgebroede eieren worden niet overgebracht naar een uitkomstmachine, maar in plaats daarvan direct in de pluimveestal geplaatst. Kuikens komen dus uit het ei in de omgeving waarin zij ook tot het einde van hun leven verblijven. In eerste instantie werd hiervoor een speciaal huisvestingssysteem ontwikkeld, [REDACTED], waarbij kuikens in etages worden gehuisvest. Meer recent werd een toepassing ontwikkeld voor het uit laten komen van kuikens in de traditionele grondstal (de gebruikelijke condities waarin vleeskuikens in de commerciële praktijk worden gehouden): [REDACTED]

Resultaten van de afgelopen 1,5 jaar laten zien dat de voordelen op gezondheidvlak die [REDACTED] gerealiseerd werden (minder sterfte, geen antibiotica nodig), voor een groot deel ook [REDACTED] in gangbare praktijkstallen (grondstallen) behaald kunnen worden. De vroege voer- en watertoegang van kuikens lijkt daarbij een belangrijke rol te spelen. Echter, andere factoren, die tot op heden nauwelijks bestudeerd werden, lijken ook een belangrijke invloed te hebben op de kuikengezondheid. Met name de concentratie van stof en pathogenen tijdens het uitkomen van de eieren en de effecten van kuikenhandeling op de broederij en transport naar het vleeskuikenbedrijf lijken van belang te zijn.

De omstandigheden tijdens het uitkomen en de vroege opfokfase [REDACTED], zoals luchttemperatuur, relatieve luchtvochtigheid,

luchtsnelheid, CO2 niveau, stofniveau, het al dan niet desinfecteren, luchtvolume per ei, en kuikenbehandeling en transport verschillen in grote mate van de omstandigheden die doorgaans in gangbare uitkomstsystemen worden gevonden. Zo is bijvoorbeeld de concentratie stof en CO2 in de lucht veel hoger in de uitkomstkast op de broederij dan wanneer kuikens op het vleeskuikenbedrijf in [REDACTED] uitkomen. Ook de luchtsnelheid, omgevingstemperatuur en relatieve luchtvochtigheid zijn veel hoger in een uitkomstkast dan in de [REDACTED] op het vleeskuikenbedrijf. Hoewel het geen vooraf vastgesteld doel was om in het [REDACTED] antibioticavrij te werken, bleek het nooit nodig te zijn antibiotica in te zetten sinds in gebruik name van een [REDACTED] stal waarin sinds februari 2008 30.000 vleeskuikens worden gehouden (tot juli 2014 ging het om 42 productierondes, dus resultaten van ruim 1,2 miljoen dieren). Deze data geven sterke aanwijzingen voor een positief effect van de vroege leefomgeving op de kuikengezondheid. Hieruit volgt de hypothese dat de omstandigheden tijdens de perinatale fase in het uitkomst/opfokstelsel een positief effect kunnen hebben op de gezondheid van het vleeskuiken en daardoor op het antibioticagebruik. Welke van de omstandigheden hierbij kritisch zijn, is tot nu toe nog niet duidelijk.

Achtergrond

Er is veel onderzoek gepubliceerd naar omstandigheden tijdens de voorbroedfase (tot dag 18) op de embryonale ontwikkeling, uitkomstpercentage en kuikenkwaliteit. Onderzoek naar de effecten van uitkomstomstandigheden (dag 18-21) op de fysiologie en gezondheid van kuikens is echter nauwelijks beschikbaar. In de volgende paragrafen wordt een status van de huidige kennis gegeven.

Verskillende omgevingscondities die mogelijk de fysiologische en immunologische ontwikkeling van kuikens beïnvloeden zijn hierboven benoemd. In dit projectvoorstel beperken we ons tot stofconcentratie, pathogenen, en het al dan niet desinfecteren tijdens de uitkomst, in combinatie met het al dan niet aanbieden van voer- en water direct na het uitkomen, en het transporteren van kuikens, omdat deze het meest kritisch lijken te zijn voor kuikengezondheid. De huidige stand van zaken van kennis van het effect van deze afzonderlijke factoren wordt hieronder kort besproken.

Stofconcentratie en pathogenen

Tijdens het uitkomstproces worden hoge niveaus van stof geproduceerd (Tymczyna et al., 2007). Stof is een belangrijk transportmechanisme voor potentiële pathogenen (Cason et al., 1994, Cox et al., 1997, Chmielowiec-Korzeniowska et al., 2007). De combinatie van hoge stofconcentraties met hoge luchtsnelheden in de uitkomstmachine geeft een hoog potentieel risico op kruisbesmetting (Bailey et al., 1992). Mitchell et al. (2002) toonde aan dat een reductie in stofconcentratie door het gebruik van een electrostatisch ladingssysteem effectief in staat was het totale aantal aerobe bacteriën, enterobacteriën en Salmonella's in commerciële uitkomstsystemen te reduceren. Echter, deze kennis heeft tot nu toe nog niet geleid tot aanpassing van de omstandigheden in commerciële uitkomstsystemen.

Daarnaast is bekend dat het immuunsysteem van vleeskuikens in de perinatale fase nog niet gematureerd is. De combinatie van een hoge pathogene druk met een immatuur immuunsysteem kan resulteren in een verhoogd risico op infecties bij jonge vleeskuikens met nadelige gevolgen voor hun gezondheid in het latere leven, en mogelijk de noodzaak om antibiotica in te zetten.

Onderzoek naar de effecten van bovenstaande omgevingsfactoren tijdens de perinatale fase op de ontwikkeling en gezondheid van de vleeskuikens is niet bekend. De hypothese kan gesteld worden dat stof het effect van een hoge pathogene druk versterkt. Lai et al. (2009, 2011) toonde aan dat intratracheale toediening van pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMPs), die algemeen voorkomen op stof in stallen met vleeskuikens van 3 weken leeftijd, een negatief effect had op de lichaamsgroei, hartmorfologie en de immunrespons van traag groeiende kuikens. Deze bevindingen suggereren dat stof het immuunsysteem zou prikkelen. Als het immuunsysteem op het zelfde moment wordt blootgesteld aan hoge niveaus van pathogenen kan dit resulteren in het overbelasten van het immuunsysteem en vervolgens in gezondheidsproblemen.

In kader van de match/mismatch hypothese beschreven door Schmidt (2011), kan men aan de andere kant stellen dat hoge stof- en pathogeenconcentraties in het vroege kuikenleven het immuunsysteem zouden stimuleren en de maturatie van het immuunsysteem zouden ondersteunen, zodat het zich aanpast op het stof- en pathogeen niveau dat het kuiken in het latere leven tegen zal komen (Lai et al., 2012, Prokopakis et al., 2013). Het vergroten van de kennis van de effecten van stof en pathogenen tijdens de perinatale fase op de kuikengezondheid gedurende het hele leven helpt daarom bij het verbeteren van de

omgeving waarin de kuikens uitkomen en het beter aanpassen van deze omstandigheden op de behoeften van het kuiken in relatie tot de omstandigheden op het vleeskuikenbedrijf.

Desinfecteren tijdens de uitkomstfase

Om de druk van ziektekiemen tijdens de uitkomstfase te reduceren, worden uitkomstkasten tijdens het uitkomen in broederijen normaal gesproken ontsmet met formaldehyde of waterstofperoxide. Het is algemeen bekend dat deze middelen een negatief effect hebben op het luchtwegepitheel. Sander et al. (1995) toonde aan dat formaldehyde blootstelling resulteert in afgestompte trilhaartjes in de luchtpijp en een negatief effect heeft op de mobiliteit van de trilhaartjes. Zulkifli et al. (1999) demonstreerde dat formaldehyde blootstelling resulteert in een toename aan laesie scores van het luchtpijpepitheel direct na blootstelling waarbij mogelijk entree poorten voor lucht gedragen pathogenen worden gecreëerd. Daarnaast werd een verhoogde voerconversie (VC) aangetoond in kuikens die aan formaldehyde werden blootgesteld in vergelijking met de onbehandelde kuikens (VC $0,95 \pm 0,02$ vs. $0,85 \pm 0,02$ voor formaldehyde vs. onbehandeld) in de eerste levensweek, terwijl lichaamsgewichten gelijk waren tussen de experimentele groepen. Dit verschil in VC hield aan tot aan het einde van de groeiperiode van de kuikens. Een hogere VC met vergelijkbare lichaamsgewichten duidt op een toename aan energiegebruik door de behandelde kuikens. Gesuggereerd werd dat de blootstelling aan formaldehyde een stressrespons induceert, wat energie kost waardoor deze minder in gezet kan worden voor groei (Zulkifli et al., 1999). Een andere werkingsmechanisme kan zijn dat de toename in laesies in het epitheel door formaldehyde blootstelling resulteert in een hogere vatbaarheid van de kuikens voor pathogene infecties, waardoor het immuunsysteem meer energie zou vragen in de groeiperiode.

Desinfectie met formaldehyde tijdens het uitkomstproces wordt ingezet om de pathogene druk te reduceren. Lourens et al. (2011) vonden geen verschillen in uitval tussen kuikens die aan formaldehyde werden bloot gesteld en kuikens die dat niet werden. Echter, de oorzaken van de uitval leken wel te verschillen. Kuikens die aan formaldehyde werden blootgesteld hadden een hogere uitval door longinfecties, terwijl de doodsoorzaken bij niet-blootgestelde kuikens voornamelijk dooierzakontstekingen en enteritis bleken. Het kan daarom worden geconcludeerd dat formaldehyde, hoewel het voordelen geeft door verlaagde druk van ziektekiemen tijdens uitkomen, voor kuikens ook een mogelijk negatief effect creëert op gezondheidsgebied. Het vergroten van kennis over de effecten van desinfectie tijdens het uitkomstproces op de gezondheid gedurende het gehele leven is daarom essentieel voor het optimaliseren van de condities waaronder het kuiken uit het ei komt.

Transport

Transport van eendagskuikens is een multifactoriële stressor, die o.a. bestaat uit veranderingen in omgevingstemperaturen, beweging, geluid en vibraties. Mitchell (2009) identificeerde thermische condities tijdens transport als een van de belangrijkste kritische punten als het gaat om gezondheid, welzijn en fysiologische stress in eendagskuikens. Andere factoren, zoals het hanteren van kuikens, voer- en wateronthouding, geluid en vibraties werden genoemd als stressvolle condities tijdens transport van vleeskuikens naar de slachterij (Mitchell and Kettlewell, 1998, Kettlewell et al., 2000). Studies naar de effecten van stress door eendagskuikentransport op de kuikengezondheid zijn niet gevonden. Onderzoek toonde echter aan dat hittestress de darmgezondheid van kuikens van 35 tot 41 dagen leeftijd beïnvloedt (Quinteiro-Filho et al., 2012, Akbarian et al., 2013). Bovendien toonden Hu et al. (2013) aan dat de combinatie van stressoren bij het spenen van biggen een negatief effect had op de morfologie van de darmwand. Villus hoogte en darmwand functie namen af na het spenen van 20 dagen oude biggen. De abrupte veranderingen in de omgeving die gepaard gaan met spenen van biggen vertonen gelijkenissen met de veranderingen die een eendagskuiken ondergaat wanneer het uit de uitkomstmachine gehaald, gehanteerd en getransporteerd wordt en blootgesteld wordt aan een nieuwe leefomgeving. Echter, onderzoek toont aan dat het eendagskuiken geen stressrespons vertoont dankzij een tijdelijke reductie in de gevoeligheid van de adrenale corticale cellen voor corticosteron (Wise and Frye, 1973, Freeman, 1982), en dat de gevoeligheid van kuikens ongeveer 24-36 uur na uitkomst terug keert (Freeman and Flack, 1980). Door de gebruikelijke uitkomst- en de kuikenbehandelingsprocedures zal echter een groot deel van de kuikens minimaal 24 uur oud zijn voordat ze op transport gaan. Mogelijk zijn kuikens daarom toch gevoelig voor stress tegen de tijd dat ze getransporteerd worden. De effecten van transport op de gezondheid van zowel pas uitgekomen kuikens als in het latere leven zijn onbekend. De hypothese kan gesteld worden dat een combinatie van een hoge pathogene druk tijdens de uitkomstfase gecombineerd met transportstress kan resulteren in een

slechter vermogen van de kuikens om zich aan te passen aan de omstandigheden in de vleeskuiken stal met mogelijke consequenties voor de gezondheid van het kuiken in het latere leven.

Moment van eerste voer- en wateropname

Door het hele proces van uitkomen, kuikenverzameling en transport kan de tijd tussen uitkomst en moment van eerste voer- en wateropname oplopen tot 60 uur. Onderzoek heeft aangetoond dat het moment van eerste voeropname na uitkomst een negatief effect heeft op de ontwikkeling van organen, en de adaptieve capaciteit van kuikens gedurende hun hele leven (Friedman et al., 2003, Walstra, 2011, Van de Ven, 2012). Daarnaast toonde onderzoek aan dat de effecten van voeronthouding na uitkomst leiden tot een suboptimaal technisch presteren van het dier en een verhoogde uitval (Stamps and Andrews, 1995, Halevy et al., 2000, Gonzales et al., 2003).

Dibner et al. (1998) demonstreerde dat het vroeg voeren de ontwikkeling van het immuunsysteem stimuleert. Direct gevoerde dieren hadden hogere bursa gewichten en een grotere lymfocyten proliferatie vergeleken met de niet direct gevoerde kuikens.

Gibbons (1997) toonde aan dat de darm van een kuiken normaal gesproken steriel is op het moment van uitkomen. Bacteriële kolonisatie van de darm begint op het moment dat het kuiken uitkomt en is afhankelijk van de microbiotische samenstelling die het kuiken opneemt uit zijn omgeving (Hrncir et al., 2008).

Walstra (2011) stelde dat de kolonisatie van direct gevoerde dieren anders zal zijn dan van niet gevoerde dieren omdat de microbiota die aanwezig zijn in het voer verschillen van microbiota in de leefomgeving. Het kan daarom geconcludeerd worden dat het moment van eerste voeropname de gezondheid en ontwikkeling van jonge kuikens beïnvloedt met mogelijke gevolgen in het latere leven.

Context

Antibioticagebruik is een grote zorg in de huidige vleeskuikenproductie. Een belangrijke reden voor deze zorg is het risico op de ontwikkeling van antibioticaresistentie in bacteriën door een te hoge antibiotica blootstelling en de mogelijke gevaren voor de volksgezondheid (Mevius et al., 2012). Alhoewel in de afgelopen jaren het antibioticagebruik in de vleeskuikenhouderij aanzienlijk is gedaald, is het noodzakelijk het gebruik verder te reduceren. Om een verdere daling te realiseren zal de kuikengezondheid gedurende het hele leven verbeterd moeten worden, dus, zal het vleeskuiken robuuster moeten worden. Naar verwachting heeft een toegenomen robuustheid van het vleeskuiken niet alleen een positief effect op het antibioticagebruik, maar zullen ook andere welzijnsaspecten en de technische resultaten positief beïnvloed worden. Daarmee wordt ook het economisch rendement van de vleeskuikenhouderij positief beïnvloed. Tensamen zullen deze effecten leiden tot een meer duurzame vorm van vleeskuikens houden. Daarmee voldoet dit project aan de ontwikkeling van een meer duurzame vorm van veehouderij in Nederland en daarbuiten.

Referenties:

Akbarian, A., Golian, A., Kermanshahi, H., Farhoosh, R., Raji, A. R., De Smet, S. & Michiels, J. 2013. Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11, 109-119.

Bailey, J., Cox, N., Blankenship, L. & Stern, N. 1992. Hatchery contamination reduces the effectiveness of competitive exclusion treatments to control *Salmonella* colonization of broiler chicks. *Poultry Sci*, 71.

Cason, J. A., Cox, N. A. & Bailey, J. S. 1994. Transmission of *Salmonella typhimurium* during hatching of broiler chicks. *Avian Diseases*, 38, 583-588.

Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyna, L., Skórska, C., Sitkowska, J., Cholewa, G. & Dutkiewicz, J. 2007. Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 141-150.

Cox, N. A., Bailey, J. S. & Berrang, M. E. 1997. The presence of *Listeria monocytogenes* in the integrated poultry industry. *Journal of Applied Poultry Research*, 6, 116-119.

Dibner, J. J., Knight, C. D., Kitchell, M. L., Atwell, C. A., Downs, A. C. & Ivey, F. J. 1998. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7, 425-436.

Freeman, B. M. 1982. Stress non-responsiveness in the newly-hatched fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 72, 251-253.

- Freeman, B. M. & Flack, I. H. 1980. Effects of handling on plasma corticosterone concentrations in the immature domestic fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 66 A, 77-81.
- Friedman, A., Bar-Shira, E. & Sklan, D. 2003. Ontogeny of gut associated immune competence in the chick. *World's Poultry Science Journal*, 59.
- Gibbons, R. J. 1997. Adherence of bacteria to host tissue. In: *Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Gonzales, E., Kondo, N., Saldanha, É. S. P. B., Loddy, M. M., Careghi, C. & Decuypere, E. 2003. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poultry Science*, 82, 1250-1256.
- Halevy, O., Geyra, A., Barak, M., Uni, Z. & Sklan, D. 2000. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. *Journal of Nutrition*, 130, 858-864.
- Hrnčir, T., Stepankova, R., Kozakova, H., Hudcovic, T. & Tlaskalova-Hogenova, H. 2008. Gut microbiota and lipopolysaccharide content of the diet influence development of regulatory T cells: Studies in germ-free mice. *BMC Immunology*, 9.
- Hu, C. H., Xiao, K., Luan, Z. S. & Song, J. 2013. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs. *Journal of Animal Science*, 91, 1094-1101.
- Kettlewell, P. J., Hoxey, R. P. & Mitchell, M. A. 2000. Heat produced by broiler chickens in a commercial transport vehicle. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, 75, 315-326.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Aarnink, A. J. A., Kemp, B. & Parmentier, H. K. 2012. Effects of 2 size classes of intratracheally administered airborne dust particles on primary and secondary specific antibody responses and body weight gain of broilers: A pilot study on the effects of naturally occurring dust. *Poultry Science*, 91, 604-615.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Kemp, B., Aarnink, A. J. A. & Parmentier, H. K. 2009. Effects of dust and airborne dust components on antibody responses, body weight gain, and heart morphology of broilers. *Poultry Science*, 88, 1838-1849.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Kemp, B., Aarnink, A. J. A. & Parmentier, H. K. 2011. Effects of repeated intratracheally administered lipopolysaccharide on primary and secondary specific antibody responses and on body weight gain of broilers. *Poultry Science*, 90, 337-351.
- Lourens, A., Jansman, A., Rebel, J., van Harn, J., Veldkamp, T., Stockhofe-Zurwieden, N., Melchior, M., van Emous, R. A. & Kense, M. 2011. Verminderen antibioticagebruik in de vleeskuikensector. *Rapport Wageningen UR Livestock Research*, Lelystad.
- Mevius, D. J., Koene, M. G. J., Wit, B., Pelt, W. v. & Bondt, N. 2012. MARAN 2010/2011 : Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2009. *Wageningen UR, Wageningen*.
- Mitchell, B. W., Buhr, R. J., Berrang, M. E., Bailey, J. S. & Cox, N. A. 2002. Reducing airborne pathogens, dust and Salmonella transmission in experimental hatching cabinets using an electrostatic space charge system. *Poultry Science*, 81, 49-55.
- Mitchell, M. A. 2009. Chick transport and welfare. *Avian Biology Research*, 2, 99-105.
- Mitchell, M. A. & Kettlewell, P. J. 1998. Physiological Stress and Welfare of Broiler Chickens in Transit: Solutions Not Problems! *Poultry Science*, 77, 1803-1814.
- Prokopakis, E., Vardouniotis, A., Kawauchi, H., Scadding, G., Georgalas, C., Hellings, P., Velegrakis, G. & Kalogjera, L. 2013. The pathophysiology of the hygiene hypothesis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 77, 1065-1071.
- Quinteiro-Filho, W. M., Gomes, A. V. S., Pinheiro, M. L., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Astolfi-Ferreira, C. S., Ferreira, A. J. P. & Palermo-Neto, J. 2012. Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with *Salmonella* Enteritidis. *Avian Pathology*, 41, 421-427.
- Sander, J. E., Wilson, J. L., Rowland, G. N. & Middendorf, P. J. 1995. Formaldehyde vaporization in the hatcher and the effect on tracheal epithelium of the chick. *Avian Diseases*, 39, 152-157.
- Schmidt, M. V. 2011. Animal models for depression and the mismatch hypothesis of disease. *Psychoneuroendocrinology*, 36, 330-338.
- Stamps, L. K. & Andrews, L. D. 1995. Effects of delayed housing of broiler chicks and three different types of waterers on broiler performance. *Poultry Science*, 74, 1935-1941.
- Tymczynna, L., Chmielowiec-Korzeniowska, A. & Drabik, A. 2007. The effectiveness of various biofiltration substrates in removing bacteria, endotoxins, and

dust from ventilation system exhaust from a chicken hatchery. Poultry Science, 86, 2095-2100.

Van de Ven, L. J. F. 2012. Effects of hatching time and hatching system on broiler chick development. Adaptation physiology. Wageningen University.

Walstra, I. 2011. Adaptive capacity of rearing hens : effects of early life conditions. PhD Thesis, Wageningen University.

Wise, P. M. & Frye, B. E. 1973. Functional development of the hypothalamo hypophyseal adrenal cortex axis in the chick embryo, Gallus domesticus. Journal of Experimental Zoology, 185, 277-292.

Zulkifli, I., Fauziah, O., Omar, A. R., Shaipullizan, S. & Siti Selina, A. H. 1999. Respiratory Epithelium, Production Performance and Behaviour of Formaldehyde-exposed Broiler Chicks. Veterinary Research Communications, 23, 91-99

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het doel van dit onderzoek is het identificeren van factoren in het vroege leven van het vleeskuiken die van belang zijn voor een optimale diergezondheid en dierenwelzijn gedurende het gehele leven, zodat geen antibiotica ingezet hoeven te worden en de kwaliteit van het eindproduct optimaal is. Deze kennis wordt toegepast in de ontwikkeling van nieuwe vleeskuikensystemen waarin diergezondheid en dierenwelzijn zijn verbeterd ten opzichte van de huidige systemen. Om het doel te bereiken zullen de volgende kennisvragen beantwoord moeten worden:

- 1 Hoe beïnvloeden gebeurtenissen rondom uitkomen en in de eerste levensdagen de fysiologische, immunologische en gedragsmatige ontwikkeling van het kuiken, niet alleen in de eerste levensdagen maar ook tot aan de slachtleeftijd, en onder praktijkomstandigheden?
- 2 Welke invloed hebben gebeurtenissen rondom uitkomen en in het vroege leven op de diergezondheid gedurende het gehele leven, en daaraan gerelateerd op de technische prestaties en de kwaliteit van het eindproduct, dus op het economisch rendement van de vleeskuikenhouders?
- 3 Welke factoren in het vroege leven zijn van belang voor het ontwerpen van nieuwe of verbeteren van bestaande huisvestingssystemen voor vleeskuikens, teneinde te komen tot een duurzame, maatschappelijk geaccepteerde en rendabele kuikenvleesproductie en een gegarandeerd residu-vrij en kwalitatief hoogwaardig eindproduct?

Haalbaarheid:

Verwacht wordt dat door de nauwe afstemming van het huidige project met een parallel lopend promotieonderzoek en de nauwe betrokkenheid van het bedrijfsleven in het project (systeemontwikkelaars, vleeskuikenhouders) de hierboven geschreven doelen haalbaar zijn binnen de duur van drie jaar.

Vertraging zal naar verwachting alleen optreden als door externe omstandigheden, bijvoorbeeld door het optreden van een besmettelijke dierziekte, de vleeskuikenbedrijven gedurende een bepaalde periode niet toegankelijk zullen zijn.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het maatschappelijk belang komt tot uiting in de implementatie van systemen met een optimale bescherming voor welzijn en gezondheid van vleeskuikens, veilig voor consument en omgeving en in ketenverband borgbaar, waarbij gestreefd wordt naar het ontwerpen van systemen voor vleeskuikens waar het inzetten van antibiotica ter bescherming van de diergezondheid overbodig zal zijn. Dit draagt bij aan de vermindering van de antibioticumresistentie en dus aan vermindering van het risico voor de volksgezondheid. Daarnaast worden naar verwachting andere aspecten van duurzaamheid (economische prestatie en dierenwelzijn) ook positief beïnvloed waardoor dit onderzoek bijdraagt aan de ontwikkeling van duurzame veehouderijsystemen.

De wetenschappelijke meerwaarde is dat het hier beschreven project nieuwe kennis genereert over het effect van factoren tijdens het vroege leven op gezondheid en welzijn in de latere levensfase. Tot op heden is veel onderzoek uitgevoerd naar de omstandigheden in de voorbroedfase (dag 1-18), met name temperatuur, CO2 gehalte en luchtvochtigheid, op uitkomstpercentage, embryo ontwikkeling en kuikenkwaliteit. Over de omstandigheden tijdens het uitkomstproces in de huidige uitkomstsystemen en de logistiek rondom het kuiken, tot de vleeskuikenstal aan toe, is echter weinig bekend. De mate waarin de kwaliteit van het eindproduct door deze condities beïnvloed wordt is nauwelijks onderzocht. Kennis die dit onderzoek oplevert wordt verder vertaald naar optimalisatie van gangbare vleeskuikensystemen en de ontwikkeling van nieuwe vleeskuikensystemen.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

De uitvoering van het hier beschreven project loopt in nauwe samenhang met een promotieonderzoek aan de [REDACTED]. Het promotie onderzoek is begin 2014 gestart en loopt gedeeltelijk vooraf aan en gedeeltelijk gelijktijdig met het hier beschreven project. Waar het promotie onderzoek zich richt op de ontwikkeling van fundamentele kennis (onderliggende mechanismen ten grondslag aan het effect van uitkomstomstandigheden op kuikengezondheid) en ontwikkeling van meetmethodieken, richt het hier beschreven project zich op ontwikkeling en toepassing van deze kennis op praktijkschaal, als logische tussenstap naar volledige implementatie van kansrijke nieuwe systemen in de praktijk. Daarmee wordt in het hier beschreven onderzoek niet alleen fundamentele kennis ontwikkeld maar ook toegepast onderzoek uitgevoerd.

Samenhang tussen het hier beschreven onderzoek en bovengenoemd promotietraject en algemene opzet van dit project:

In het promotieonderzoek worden op experimentele schaal (in klimaatrespiratiecellen) kritische factoren in de uitkomstfase en in de periode tussen uitkomst en plaatsing in de stal geïdentificeerd die de vroege immunologische en fysiologische ontwikkeling van vleeskuikens beïnvloeden. In het promotieonderzoek ligt de focus op de effecten van uitkomstomstandigheden op diergezondheid en technische kenmerken in de eerste levensdagen. Het promotie onderzoek richt zich met name op de factoren stofconcentratie, pathogene druk in het uitkomststelsel, het al dan niet desinfecteren van kuikens, de kuikenhandeling en –transport, en de risico's op kruisbesmetting tijdens de logistieke operatie in de broederij. De resultaten uit dit promotieonderzoek worden gebruikt om binnen het hier beschreven onderzoek testen op praktijkschaal uit te voeren die nodig zijn voor de uiteindelijke toepassing van de kennis in de praktijk. In de praktijktesten worden de effecten van omstandigheden in de perinatale fase op kuikengezondheid en -welzijn in het latere leven onderzocht, en wordt het effect van omstandigheden in de perinatale fase op de kwaliteit van het eindproduct in de slachterij en het economisch rendement onderzocht. Daartoe wordt een serie van maximaal vijf praktijkproeven opgezet (op commerciële vleeskuikenbedrijven) waarin ofwel afzonderlijke factoren worden getoetst ofwel een complete systeemvergelijking wordt uitgevoerd. Welke factoren worden getoetst hangt af van de resultaten van bovengenoemd promotie onderzoek en de resultaten van voorafgaande praktijkproeven. Er is dus een intensieve wisselwerking tussen het hier beschreven project en het promotie onderzoek.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Er zal een serie praktijkproeven worden opgezet (op commerciële vleeskuikenbedrijven) om de invloed van de kritische factoren in de perinatale fase op diergezondheid, dierwelzijn en technische prestatie gedurende de gehele groeiperiode van de vleeskuikens te onderzoeken. In de praktijktesten worden kuikens afkomstig van eenzelfde koppel moederdieren voorgebroed onder gelijke condities, maar uitgebroed onder verschillende omstandigheden en gedurende de gehele periode op het vleeskuikenbedrijf tot aan de slacht gevolgd. Tijdens de groeiperiode worden gegevens verzameld over de technische prestatie, immunologische parameters, diergezondheid, adaptieve capaciteit en welzijn. Daarnaast wordt de slachtkwaliteit van deze dieren bestudeerd.

De technische prestaties omvatten het uitkomstpercentage, kuikengewicht, % 2e soort kuikens (kuikens die niet verder het productieproces ingaan maar

worden gedood, bijvoorbeeld vanwege lichamelijke afwijkingen), groei, voederconversie en uitval van de dieren.

Om de immunologische ontwikkeling te volgen zal bij een aantal kuikens bloed afgenomen worden om de capaciteit van het immuunsysteem te kunnen bepalen en/of de respons tegen specifieke antigenen.

Om inzicht te krijgen in de adaptieve capaciteit van de kuikens kunnen naast de gedragswaarnemingen (zie onder) hormoonbepalingen (bijvoorbeeld het stresshormoon corticosteron) worden uitgevoerd en kan ook de heterofiel:lymfocyt ratio in het bloed worden bepaald (indicator voor chronische stress bij kippen). Dit kan in dezelfde bloedmonsters als voor bepaling van de immunologische ontwikkeling.

Om meer inzicht te krijgen in effecten op diergezondheid zullen secties worden uitgevoerd bij een steekproef van kuikens per stal en zal specifiek worden gekeken naar orgaanontwikkeling en pathologieën. Ten minste de darm- en longontwikkeling zullen uitgebreider worden bestudeerd door het nemen van weefselmonsters van deze organen. Cloacaswabs worden genomen om de microbiële samenstelling van de darmen te bepalen of meer specifiek naar de aanwezigheid van pathogenen te kijken.

Om het kuikenwelzijn te beoordelen wordt gebruik gemaakt van het Welfare Quality® monitoringsprotocol (Welfare Quality, 2009) dat indien nodig aangevuld wordt met meer uitgebreide gedragswaarnemingen. Standaard worden binnen het Welfare Quality® monitoringsprotocol de volgende kenmerken gemeten bij een steekproef van kuikens per koppel: voetzollaesies, hakdermatitis, borstirritatie, locomotie, koppelgedrag, angstigheid, hijgen/samenscholen, bevulling. Aanvullende gedragswaarnemingen zijn gericht op de snelheid waarmee eendagskuikens voer- en water opnemen, de mate van uitputting bij eendagskuikens, algemene activiteit en de mate waarin natuurlijk gedrag wordt uitgevoerd over de gehele groeiperiode.

Bij de beoordeling van de slachtkwaliteit wordt gekeken naar slachtrendement, pathologische afwijkingen (o.a. aan longen, darmen, lever, poten) en vleeskwaliteit.

De variatie op praktijkbedrijven is veel groter dan onder experimentele condities. Dit wordt veroorzaakt door verschillen in management (bijvoorbeeld klimaatinstellingen, type voer), maar ook doordat bijvoorbeeld kuikens worden aangeleverd vanuit meerdere broederijen en van verschillende leeftijd ouderdieren. Daarom is het noodzakelijk om voldoende herhalingen op te nemen in de verschillende experimenten. Er zijn maximaal 12 praktijkbedrijven beschikbaar voor onderzoek. Deze bedrijven zijn uitgerust met twee gelijke stallen waar de experimentele- en controlebehandelingen gehuisvest kunnen worden en hebben een afspraak met het projectteam over het meewerken aan het onderzoek. Afhankelijk van de te verwachten variatie kan het onderzoek gedurende meerdere productierondes (uitgangspunt maximaal 2 productierondes per experiment) worden uitgevoerd. De vleeskuikenhouders krijgen van tevoren een duidelijk instructie op een voorlichtingsbijeenkomst en worden intensief begeleid door de betrokken partijen Vencomatic en Agrosupply, de dierenarts van de broederij en betrokken onderzoekers.

In totaal zullen er maximaal 5 experimenten onder praktijkcondities worden uitgevoerd, voortbouwend op het gelijktijdig uitgevoerd promotieonderzoek bij WU-Adaptatiefysiologie en de resultaten van voorafgaande experimenten. Deze experimenten zijn deels gelijk van opzet en dienen allen hetzelfde doel (inzicht in factoren tijdens het uitkomen van vleeskuikens die bepalend zijn voor diergezondheid en het ontwerpen van nieuwe vleeskuikensystemen op basis van deze kennis). De afzonderlijke factoren die worden getoetst en de uitleesparameters kunnen per experiment verschillen. Hieronder geven we globaal de opzet van de vijf experimenten (looptijd drie jaar, 2015 tot en met 2017):

1. Inzicht in verschillen in diergezondheid tussen kuikens uitgekomen in de broederij en in de stal () (systeemvergelijking) en aanvullende metingen ter bepaling van verschillen in andere duurzaamheidsindicatoren tussen beide systemen. Deze proef is erop gericht meer inzicht te krijgen in welke aspecten van diergezondheid kuikens uitgekomen in de stal en op de broederij verschillen. Bekend is dat kuikens gezonder zijn als ze met de in de stal uitkomen en dat er tot nu toe geen antibiotica nodig zijn. Maar in welke gezondheidsaspecten verschillen deze kuikens? Dit experiment geeft inzicht in mogelijk oorzakelijke factoren (specifieke condities tijdens uitkomen) die bepalend zijn voor diergezondheid en zal daarmee belangrijke informatie geven t.b.v. het ontwerp van vervolgonderzoek (zowel onder praktijk- als experimentele omstandigheden). Daarnaast geeft dit onderzoek een beeld van mogelijk andere verschillen in duurzaamheidskenmerken tussen de uitkomstsystemen, wat van belang is voor de uiteindelijke toepassing en acceptatie van nieuwe systemen in de praktijk en door de maatschappij.

2. Onderzoek naar effecten van kuikentransport. Verwacht wordt dat kuikentransport stress veroorzaakt bij jonge kuikens en daarmee een groot effect kan hebben op weerstand, gezondheid en dierenwelzijn. Experimenten zullen uitgevoerd worden waarbij kuikens van een gelijke afkomst worden uitgebreed in

uitkomstsystemen waarbij kuikentransport als extra factor ingebracht wordt. Kuikens worden onder praktijkcondities gehouden tot aan slachtleefijd en kenmerken van diergezondheid, dierenwelzijn, technische prestatie en kwaliteit van het eindproduct worden gemeten.

3. Eventueel vervolgonderzoek met betrekking tot het effect van handeling op de broederij en transport van eendagskuikens. Hierbij wordt voortgebouwd op experiment 2 en wordt het effect van afzonderlijke factoren die samenhangen met transport onderzocht (bijvoorbeeld vibratie en/of geluid) of wordt onderzoek uitgevoerd naar de wijze van handeling op de broederij. De exacte invulling van dit experiment is afhankelijk van de resultaten van experiment 2 en de uitkomsten van het promotie onderzoek. Mocht voorafgaand onderzoek geen aanleiding geven om het onderzoek naar transport en handeling voort te zetten, maar wel aanleiding geven naar verder onderzoek naar het effect van desinfectie op de broederij, dan kan in deze proef ook wel/geen desinfectie als factor worden ingebracht.

4. Risico's van kruisbesmetting tijdens kuikenhandeling en – transport en de invloed daarvan op kuikengezondheid in het latere leven en de productkwaliteit. Naar verwachting kan kruisbesmetting in de broederij grote effecten hebben op diergezondheid. In dit experiment wordt dit specifieke aspect van de broederijomstandigheden onderzocht.

5. Het laatste experiment is weer een systeemvergelijking, waarbij een combinatie van verschillende niveaus van stof, pathogenen, het al dan niet desinfecteren en kuikenhandeling en transport samen komen in verschillende uitkomstsystemen. Kuikengezondheid en –welzijn, en technisch presteren (inclusief medicijngebruik) in het latere leven en slachtkwaliteit worden gevolgd van kuikens die in de verschillende systemen uitkomen. Ook wordt het economisch rendement bepaald.

Referentie: Welfare Quality, 2009. The Welfare Quality assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality Consortium, Lelystad, The Netherlands.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De experimenten onder praktijkomstandigheden sluiten nauw aan op het fundamenteel onderzoek in het kader van het promotie onderzoek bij [REDACTED]. Daar waar het promotie onderzoek wordt uitgevoerd onder experimentele omstandigheden en de mogelijkheid biedt om meetmethoden te ontwikkelen en/of intensieve meetmethoden toe te passen om inzicht te krijgen in de effecten van de verschillende factoren tijdens het uitkomen van eieren, richt het hier beschreven onderzoek zich op praktijkcondities, teneinde de resultaten te kunnen toepassen in de commerciële vleeskuikenproductie.

Het hier beschreven onderzoek is een noodzakelijke tussenstap voor implementatie van nieuwe systemen in de praktijk. Immers, de omstandigheden op experimentele schaal (in dit geval in klimaatrespiratiecellen) zijn perfect toegerust om mechanismen te onderzoeken maar vaak niet representatief voor omstandigheden op praktijkbedrijven die veel variabelere (en dus minder controleerbaar) zijn. Daarnaast is het van belang om niet alleen de effecten van uitkomstomstandigheden op diergezondheid te bepalen, maar juist ook op de technische prestatie en productkwaliteit onder praktijkcondities. Wanneer deze positief worden beïnvloed door de behandelingen, zal de sector veel eerder geneigd zijn om systeemveranderingen door te voeren.

De (maximaal) vijf experimenten hebben een logische samenhang. Het eerste experiment is een systeemvergelijking en richt zich op nader onderzoek naar verschillen tussen systemen waarbij kuikens in de broederij en in de stal uitkomen. Deze proef zal richting geven aan het onderzoek naar onderliggende mechanismen en leiden tot een meer gericht vervolgonderzoek, zowel onder praktijk- als experimentele condities. Daarnaast is dit onderzoek van belang om een indruk te krijgen van mogelijk andere duurzaamheidsaspecten waarin de uitkomstsystemen verschillen. De drie vervolgonderzoeken richten zich op afzonderlijke factoren waarvan wij op dit moment inschatten dat deze een groot effect kunnen hebben op kuikengezondheid en -welzijn: transport, handeling en kruisbesmetting op de broederij. Eventueel kan daar de factor ontsmetting bij komen. Naar aanleiding van de resultaten van deze experimenten en de resultaten van het promotie onderzoek (apart project) wordt als laatste stap weer een systeemvergelijking uitgevoerd. Deze laatste systeemvergelijking is een 'proof of principle', waarbij het tot nu toe gangbare systeem wordt vergeleken met een systeem waarbij de uitkomstcondities zo

ideaal mogelijk zijn. In dit experiment wordt ook het economisch rendement bepaald omdat dat van belang is voor toepassing in de praktijk.

Na ieder experiment is er sprake van een go-no go moment en wordt besloten wat de invulling is van het volgende experiment. Indien het resultaat bereikt kan worden met minder dierproeven zal dat uiteraard ook worden gedaan. De totale looptijd van het project is drie jaar en de volgende fasering is voorzien:

Jaar 1 (2015): experiment 1. Keuzemoment invulling experiment 2 (eind 2015)

Jaar 2 (2016): experiment 2 en 3. Keuzemoment invulling experiment 3 (mei-juni 2016) en 4 (eind 2016)

Jaar 3 (2017): experiment 4 en 5. Keuzemoment invulling experiment 5 (mei-juni 2017).

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken
2	
3	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



7

Postbus 65 | 8200 AB Lelystad

Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Dierexperimenten
Commissie DLO

DATUM
30 april 2015

ONDERWERP
aanvraag projectvergunning
AVD40100201563

UW KENMERK
AVD40100201563

POSTADRES
Postbus 65

BEZOEKADRES

INTERNET
www.wur.nl

KVK NUMMER
09100600

CONTACTPERSOON

TELEFOON

E-MAIL

Geachte heer, mevrouw,

Onderstaand het advies van de DEC aangaande het project "Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik",

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: **AVD40100201563**
2. Titel van het project: Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik
3. Titel van de NTS: Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik
4. Type aanvraag: nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:
DEC-DLO
[redacted]
Secretaris: [redacted]
6. Adviestraject
Ontvangen door DEC: 10-04-2015
Aanvraag compleet: 10-04-2015
In vergadering besproken: 24-04-2015

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. De DEC heeft vastgesteld dat het project vergunningplichtig is (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag is een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om over de aanvraag te adviseren vanuit het oogpunt van onafhankelijkheid, onpartijdigheid en beschikbare expertises.

C. Beoordeling (inhoud)

1. De DEC heeft vastgesteld dat het project uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord is.
2. De DEC heeft vastgesteld dat de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie in overeenstemming is met de hoofddoelstelling.
3. Het reële belang van het project, te weten een bijdrage leveren aan de ontwikkeling van meer duurzame houderijsystemen voor vleeskuikens en daarmee het verminderen van het risico van het ontwikkelen van antibioticaresistentie, wordt door de DEC onderschreven.
4. De DEC stelt vast dat de expertise van de onderzoekers, de voorzieningen waar de experimenten uitgevoerd worden en de onderzoeksstrategie kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling van het project.
5. De experimenten kunnen alleen op praktijkbedrijven uitgevoerd worden omdat de omstandigheden in praktijksystemen in grote mate afwijken van experimentele omstandigheden. Resultaten verkregen uit experimentele omstandigheden zijn daardoor niet direct overzetbaar naar de praktijk. Voordat nieuwe systemen in de praktijk kunnen worden toegepast is het noodzakelijk om de effecten onder praktijkomstandigheden goed in kaart te brengen om te komen tot een door de praktijk en maatschappij geaccepteerd ontwerp van nieuwe vleeskuikensystemen.
6. De DEC stelt vast dat een cumulatieve inschatting van ongerief als "licht" realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Ongerief in de experimenten zal bestaan uit kortstondig vangen en hanteren van de dieren voor het beoordelen van uitwendige pathologieën of het nemen van een cloacaswab, afnemen van een bloedmonster en/of doden van de kuikens.
7. De DEC heeft vastgesteld dat er geen alternatieven zijn om de doelstelling van het project te realiseren. De experimenten kunnen alleen in het doeldier op praktijkbedrijven uitgevoerd worden om de resultaten bruikbaar te maken voor de praktijk.
8. De DEC heeft vastgesteld dat er optimaal tegemoet gekomen wordt aan de vereiste van vermindering van dierproeven. Hoewel er veel dieren bij de proeven betrokken zijn is de steekproef slechts 1% van de dierpopulatie. Dit is slechts een kleine steekproef maar de DEC is van mening dat met deze steekproefgrootte verschillen gemeten kunnen worden omdat de genetische variatie tussen dieren klein zal zijn. Wanneer uit de eerste resultaten blijkt dat het doel kan worden bereikt met minder experimenten dan zal dat worden gedaan. De aanvrager beschikt over voldoende expertise om te voorkomen dat eerder gedaan onderzoek herhaald wordt.
9. De DEC heeft vastgesteld dat het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven. De tijdsduur van de handelingen zal tot een minimum beperkt worden en maximaal 5 minuten bedragen. De DEC is overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
10. De Instantie voor Dierenwelzijn heeft een positief oordeel over de kwaliteit van de aanvraag uitgebracht en de DEC heeft dit in haar overweging betrokken.
11. De NTS is naar het oordeel van de DEC een evenwichtige weergave van het project, begrijpelijk geformuleerd en voldoet aan de vereisten in de herziene Wod Art. 10.a.1.7.

D. Ethische afweging

- De DEC heeft gediscussieerd over het gevaar dat (bij goede resultaten) de uitkomsten zouden kunnen leiden tot schaalvergroting met ongewenste intensivering: gezondere kuikens die minder zorg nodig hebben groeien sneller, kunnen eerder geslacht worden waardoor de rondes korter worden en er per jaar meer dieren opgezet zouden kunnen worden. De DEC concludeerde dat deze redenering zou impliceren dat iedere verbetering in deze sector, die leidt tot hoger rendement, dan zonder meer ongewenst zou zijn. De DEC is van mening dat het doel van de proef niet primair gericht is op schaalvergroting en intensivering maar op het verbeteren van de gezondheid en een betere overleving van de jonge kuikens.
- De DEC is unaniem van mening dat het doel en de haalbaarheid van het project het gebruik van proefdieren en het ongerief dat de dieren wordt aangedaan rechtvaardigt. Dit project kan een bijdrage leveren aan het ontwikkelen van meer duurzame houderijsystemen voor vleeskuikens met gezondere dieren die minder/geen antibiotica nodig hebben. Maatschappelijk is dat van belang omdat het project kan bijdragen aan het verminderen van het risico van het ontwikkelen van ongevoeligheid voor antibioticagebruik in de humane gezondheidszorg. De uitvoering is verder niet in strijd met andere ethische overwegingen m.b.t. het gebruik van proefdieren.

DATUM
30 april 2015

PAGINA
3 van 3

E. Advies

1. De DEC adviseert unaniem om de vergunning te verlenen.


Met vriendelijke groet





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting DLO

Postbus 59
6700 AW WAGENINGEN


**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD40100201563

Datum 4 mei 2015
Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen
1

Geachte heer/mevrouw,

<Indien initiele aanvraag>

Op <Datum ontvangst> hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project <titel project> met aanvraagnummer <aanvraagnr>. In uw aanvraag zitten voor mij nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Welke informatie nog nodig

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

Niet technische samenvatting

De niet technische samenvatting bij uw aanvraag is niet volledig ingevuld; 3.3 is niet gevuld. Graag ontvangen wij een aangevulde niet technische samenvatting.

Inhoudelijke vragen

In uw aanvraag staat enkele malen benoemd dat de proef 3 jaar zal duren. De vergunning is echter aangevraagd van 1 juni 2015 t/m 31 december 2017 en dit is geen volledige 3 jaar. Wat is correct?

Voor volgende aanvragen wijs ik u erop dat u in deze aanvraag verschillende keren 'gering' ongerief benoemt en deze term in de nieuwe wetgeving niet meer van toepassing is. Voor deze aanvraag hebben wij de term 'gering' gelezen als 'licht' ongerief.

In het projectvoorstel staat dat de experimentele eenheid in een proef een vleeskuikenkoppel is. De statistiek zou dus uitgevoerd moeten worden met het aantal koppels (n=12). Kunt u onderbouwen dat n=12 voldoende informatie geeft om een conclusie te kunnen trekken?

Is het mogelijk een statistische analyse uit te voeren na de eerste productieronde en de tweede productieronde in experiment 1 eventueel al met minder dieren uit te voeren?

Wij vragen u deze informatie te verduidelijken.

Leges

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

Opsturen binnen veertien dagen

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Gebruik hierbij het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Wanneer een beslissing

Zodra wij de aanvullende informatie hebben ontvangen nemen wij uw aanvraag verder in behandeling. Uw aanvraag is niet compleet zolang de leges nog niet zijn betaald. Tot de ontvangst van uw antwoorden en de leges, wordt de termijn van de beoordeling opgeschort. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post

Datum

<datum vandaag>

Onze referentie

Aanvraagnummer

<aanvr nr>



Melding

Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op www.zbo-ccd.nl
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- | | | |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager | | |
| Postcode | | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?
Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.
- | | |
|----------------|--|
| Aanvraagnummer | |
|----------------|--|

2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.
- | | |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> | |
| <input type="checkbox"/> | |
| <input type="checkbox"/> | |

3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- | | | |
|--------------|---|------|
| Naam | | |
| Datum | - | - 20 |
| Handtekening | | |
- Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 1 | Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

De dierproef bestaat uit een serie van maximaal vijf experimenten op commerciële vleeskuikenbedrijven. Per experiment wordt ofwel: (1) een systeemvergelijking uitgevoerd (vleeskuikens komen uit op de broederij, ondergaan daar de gangbare procedures en worden als ééndagskuikens getransporteerd naar het vleeskuikenbedrijf waar zij tot gebruikelijke slachtleeftijd (gewicht 2-2,5 kg volgens gangbare praktijk) worden gehouden (controlegroep), of komen uit op het vleeskuikenbedrijf in de en zijn blootgesteld aan lagere concentraties stof, pathogenen en CO₂ dan op de broederij, zijn niet ontsmet en worden niet getransporteerd als eendagskuikens (proefgroep)); ofwel (2) onderzoek met proefgroepen waarbij tijdens het

uitkomen van de kuikens één of meerdere factoren wordt gemanipuleerd (onderzoek naar enkelvoudige factoren of interactie tussen meerdere factoren). Deze factoren kunnen verschillen tussen de opeenvolgende experimenten waarbij gekozen kan worden voor verschillende concentraties stof of stof met pathogenen tijdens uitkomen, formaldehydebesmetting, vroege voeding van eendagskuikens, verschillende niveaus van bacteriële besmetting in de broederij, verschillende hanteer- of transportmethoden of onderdelen van transport (denk aan geluid of vibratie). Kuikens van de proefgroepen worden tot gelijke slachtleeftijd/gewicht gehouden (2-2,5 kg) zoals bij de systeem vergelijking.

De keuze voor de proefbehandelingen per experiment is afhankelijk van de resultaten van gelijktijdig lopend promotie onderzoek bij [REDACTED] en de resultaten van voorafgaande experimenten onder praktijkomstandigheden.

Per experiment zal een keuze worden gemaakt uit de volgende uitleesparameters. Deze zijn bewezen indicatief voor de diergezondheid, het dierenwelzijn, het adaptief vermogen van de kuikens en de technische prestatie van het koppel. De keuze wordt bepaald door de resultaten van voorafgaand onderzoek en daaruit verkregen inzicht in mechanismen. Bijvoorbeeld, wanneer deze aanwijzingen geven dat wel de darmgezondheid, maar niet de longgezondheid wordt beïnvloed door de proeffactor dan wordt in vervolgonderzoek gekozen om alleen darmgezondheid als uitleesparameter mee te nemen.

De uitleesparameters kunnen zijn:

- Technische kenmerken: uitkomstpercentage, kuikengewicht, % 2^e soort kuikens (kuikens met fysieke afwijkingen), voeropname, voederconversie, groei, uitval (met reden van uitval) gedurende de volledige productieperiode van dag 1 (uitkomen) tot slachtleeftijd.
- Slachtkwaliteit: voetzollaesiescore, afkeurpercentage en reden van afkeur, slachtgewicht en uniformiteit, hakdermatitis, borstirritatie en dijkkrassen, gemeten op de dag van slachten door de slachterij aan de slachtlijn.
- Immunologische ontwikkeling en immunologische capaciteit: bepaling van de immunologische capaciteit van de vleeskuikens en de ontwikkeling daarvan. Dit wordt bepaald door het bepalen van de hoeveelheid natuurlijke antilichamen en complement activiteit in het bloed op maximaal 3 momenten tijdens de groeiperiode, namelijk: dag van uitkomen (dag 1), rond dag 28, vlak voor slachten. Daarnaast kunnen de bloedmonsters worden gebruikt voor challenges met specifieke antigenen om de respons daartegen te bepalen. De leeftijden waarop bemonsterd wordt zijn de uitgangssituatie bij uitkomen (dag 1), het moment waarop de maternale immuniteit afwezig is (minimaal na dag 21, bijvoorbeeld rond dag 28) en vlak voor slachten als uitleesparameter voor de totale groeiperiode van een vleeskuiken.
- Fysiologische stressrespons: bepalen van de concentratie corticosteron in het bloed en het bepalen van de verhouding tussen heterofielen en lymfocyten in het bloed (indicator voor chronische stress bij kippen). Dit kan worden uitgevoerd op gelijke momenten als de bepaling van de immunologische capaciteit (na uitkomen, rond dag 28, slachtleeftijd) en hiervoor kunnen dezelfde bloedmonsters (minimaal 2 ml per dier) worden gebruikt.
- Beoordeling kuikenwelzijn: hiervoor wordt het Welfare Quality monitoringsprotocol gehanteerd (Welfare Quality, 2009) vlak voor slachtleeftijd. Deze metingen worden vlak voor slachten uitgevoerd omdat de druk op het dierenwelzijn op dat moment het hoogst is (dieren ondergaan dan de hoogste dierbezetting in de stal en het gewicht is maximaal). De volgende waarnemingen worden aan de dieren gedaan: bevuilding, voetzollaesies, hakdermatitis, locomotie, hijgen/samenscholen, angstgedrag, beoordeling koppelgedrag. Minimum aantal dieren nodig voor deze waarnemingen zijn beschreven in het protocol (Welfare Quality, 2009) en betreffen minimaal 100 kuikens voor bevuilding, voetzollaesies, hakdermatitis (alles gemeten aan hetzelfde kuiken), minimaal 150 kuikens voor locomotie, waarnemingen in de stal op 5 locaties voor koppelgedrag en hijgen/samenscholen en waarnemingen op minimaal 12 en maximaal 21 locaties voor angstgedrag. Indien gewenst kunnen aanvullende waarnemingen aan het koppelgedrag uitgevoerd worden. Voorzien worden waarnemingen aan de totale koppelactiviteit, de mate waarin natuurlijk gedrag zoals stofbaden en scharrelen wordt uitgevoerd (tijdbudget, aantallen kuikens die deze gedragingen uitvoeren), waarnemingen t.a.v. uitputting van eendagskuikens (slaap/waakritmes), snelheid van voer- en wateropname na uitkomen van eendagskuikens.
- Bepalen van de samenstelling van de microbiota in de darm: er worden cloacaswabs genomen op maximaal vier leeftijden: dag 1, rond dag 8, rond dag

21, rond dag 35. De swabs worden gebruikt voor bepalen van specifieke pathogenen (ESBL (Extended-spectrum bèta-lactamase) producerende bacteriën in experiment 1, andere pathogenen nog nader te bepalen) of bepaling van het microbioom (compleet profiel van de darmbacteriën). De verschillende tijdstippen zijn noodzakelijk indien de ontwikkeling in kaart gebracht moet worden en betreffen een maximum aantal keren dat monsters worden genomen per productieronde.

- Een deel van de kuikens zal na het bloedmonsteren en/of nemen van swabs worden gedood waarna sectie zal plaatsvinden door een dierenarts. Bij de sectie wordt bepaald of er sprake is van pathologieën aan diverse organen (o.a. longen, lever, hart, darmen, poten), worden orgaangewichten bepaald als indicator voor de ontwikkeling van de organen (o.a. lever, hart) en worden weefselmonsters genomen voor bepaling van orgaanontwikkeling (bijvoorbeeld monsters van de darm ter bepaling van de hoogte van villi, diepte van crypten, activiteit van slijmbekercellen). De leeftijden van bemonstering zijn gelijk aan die van het nemen van bloedmonsters en/of swabs zodat dezelfde kuikens kunnen worden gebruikt.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Vleeskuikens worden blootgesteld aan verschillen in uitkomstcondities, d.w.z. van dag 18-21 van het broedproces en het stadium van het uitkomen uit het ei tot het plaatsen van kuikens op het vleeskuikenbedrijf. Voor de controlegroep bedraagt dit de standaard procedures zoals op vleeskuikenbroederijen wordt uitgevoerd en duurt de tijd van uit het ei komen tot plaatsing op het vleeskuikenbedrijf (en toegang tot voer en water) maximaal 60 uur. De proefgroepen worden blootgesteld aan verschillende uitkomstcondities en deze kunnen per experiment verschillen. Ze kunnen bijvoorbeeld bestaan uit verschillende stofconcentraties, blootstelling aan pathogenen, afwezigheid van ontsmetting met formaldehyde, aangepaste hanteermethodiek, afwezigheid van transport, aanpassing transportcondities of blootstelling aan aspecten van transport (geluid, vibraties), verstrekken van vroege voeding en water. De maximale duur van blootstelling aan deze omstandigheden bedraagt 60 uur bij het verstrekken van voer en water. In het geval van hanteren of transport is de maximale duur enkele minuten (hanteren, intern transport op broederij) tot maximaal vier uur (transport naar vleeskuikenbedrijf) duren. In het geval van een systeemvergelijking zal een combinatie van deze factoren worden toegepast en zullen kuikens met de ████████ op een praktijkbedrijf uit het ei komen. De proefbehandeling betreft altijd een te verwachten verbetering van de uitkomstomstandigheden ten opzichte van de controlebehandeling en zal naar verwachting leiden tot een verbetering in diergezondheid en dierenwelzijn bij de proefbehandelingen ten opzichte van de controlegroepen (die conform gangbare praktijk worden behandeld). De mate waarin de gezondheid, het welzijn en de technische resultaten van de kuikens beïnvloed zullen worden door de uitkomstomstandigheden wordt bepaald gedurende de volledige groeiperiode van de kuikens tot slachtleeftijd, zodat acute en chronische effecten bestudeerd kunnen worden. Daartoe worden bovengenoemde uitleesparameters ingezet.

Aard, frequentie en duur van handelingen met betrekking tot uitleesparameters:

De uitleesparameters worden afgelezen vanaf het moment van het uitkomen uit het ei tot slachten van het kuiken (rond dag 35) om een beeld te krijgen van het acute en het lange termijn effect van de behandelingen.

Nemen van bloedmonsters:

- (1) Bij eendagskuikens door decapitatie (toegestaan volgens richtlijn 210/63/EU). Dit is de enige methode waarmee bij eendagskuikens voldoende bloed verzameld kan worden ten behoeve van bepaling van de immunologische- en endocriene parameters. Van vangen van de kuikens tot moment van decapitatie bedraagt de maximale tijdsduur vijf minuten maar bij voorkeur minder dan 2 minuten in verband met het stijgen van de hormoonspiegels door het vangen en hanteren van de kuikens.
- (2) Bij kuikens van ongeveer 28 en 35 dagen leeftijd door middel van een punctie van de vleugelvene. De kuikens worden gevangen en zo snel mogelijk daarna, maar binnen 5 minuten, wordt een bloedmonster van 2 ml uit de vleugelvene genomen.

Nemen van cloacaswabs:

De kuikens worden gevangen en zo snel mogelijk daarna wordt een cloacaswab genomen. Deze handeling duurt minder dan vijf minuten per kuiken. Op de momenten waarop ook bloedmonsters worden genomen worden dezelfde kuikens gebruikt om cloacaswabs te nemen.

Pathologie (inwendig), orgaangewichten en weefselmonsters:

Bij ééndagskuikens worden de kuikens gedecapiteerd voor het nemen van bloedmonsters. Dezelfde kuikens zullen worden gebruikt voor het meten van de ontwikkeling van organen (o.a. gewichten, beoordeling, weefselmonsters). Op 35 dagen leeftijd worden de kuikens gedood (percuterende slag op de kop of CO₂ volgens richtlijn 2010/63/EC), nadat ze zijn gevangen en bloedmonsters zijn afgenomen. Doden vindt zo snel mogelijk maar in ieder geval binnen 5 minuten na de start van het hanteren plaats. Daarna wordt sectie uitgevoerd t.b.v. pathologische beoordeling en beoordeling van orgaanontwikkeling.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Een vleeskuikenkoppel (alle dieren in een stal) is de experimentele eenheid in een proef. Er zijn maximaal 12 bedrijven beschikbaar voor onderzoek met 2 stallen per bedrijf (controle/proefstal). Omdat naar verwachting de variatie tussen bedrijven groot zal zijn door de herkomst van de kuikens (verschillende broederijen en verschillende ouderdierenkoppels) en het gevoerde management op een bedrijf, zullen naar verwachting twee productierondes per experiment nodig zijn voor het verzamelen van voldoende gegevens voor het doen van betrouwbare uitspraken over effecten van behandelingen, waarbij herkomst (ouderdierenkoppel en broederij) als factoren in de analyse meegenomen zullen worden. Er wordt gekozen voor één ras per experiment (meest gangbare ras in Nederland) zodat ras geen extra factor in de analyse zal zijn (en daarmee het aantal benodigde proefdieren relatief beperkt blijft). Na experiment 1 is meer informatie over de variatie bekend en kan het aantal herhalingen indien mogelijk naar beneden worden bijgesteld. Dit zal worden bepaald op basis van statistische analyse.

Ook binnen de stal is de variatie tussen individuele dieren groter dan onder experimentele omstandigheden. Dit komt door verschil in kuikenkwaliteit binnen een stal, maar ook door verschil in de precieze locatie in een stal waar een kuiken meestal verblijft. Daarbij moet in het achterhoofd gehouden worden dat praktijkstallen zeer groot kunnen zijn en aantallen van 20.000-30.000 kuikens per stal gemeengoed zijn. Voor het bepalen van het aantal te bemonsteren kuikens per stal is rekening gehouden met de volgende overwegingen:

Op dit moment zijn er nog geen gegevens bekend over de te verwachten variatie in uitleesparameters voor immuun competentie, bepaling stresshormonen, orgaanontwikkeling, pathologie (na sectie) onder praktijkcondities (waarin een grotere variatie wordt verwacht dan onder experimentele omstandigheden). Daarom is het niet mogelijk een statistische onderbouwing te geven voor het aantal te bemonsteren kuikens. In een voorafgaand experiment onder experimentele condities (klimaatrespiratiecellen) met veel/weinig stof, wel/geen ontsmetting en wel/geen vroege voeding als proeffactoren zijn maximaal 25 kuikens per leeftijd per behandeling gebruikt voor het bepalen van orgaangewichten, pathologie en immunologische capaciteit (De Gouw, 2015). Vanwege de onduidelijkheid over de variatie onder praktijkcondities gaan we in deze dierproef uit van maximaal 50 kuikens per stal per leeftijd in experiment 1 voor immunologische capaciteit, hormoonconcentraties en pathologie. Na uitvoering van experiment 1 zijn gegevens over de variatie in bovengenoemde uitleesparameters bekend. Indien de statistische analyse na experiment 1 aanleiding geeft tot het bijstellen van het aantal dieren naar beneden zal dat bij experiment 2-5 plaatsvinden.

Voor beoordeling van de kuikenkwaliteit worden dezelfde ééndagskuikens gebruikt als voor het nemen van bloedmonsters (50 kuikens per stal). Ook voor kuikenkwaliteit is onduidelijk welke variatie tussen kuikens in praktijkstallen verwacht kan worden. Tegelijk met het hanteren van de kuikens voor het bemonsteren wordt een beoordeling gemaakt van de navel- en pootkwaliteit per kuiken. Op basis van de gevonden variatie in experiment 1 kan dit aantal (na

statistische berekening van het aantal benodigde kuikens) in volgende experimenten naar beneden worden bijgesteld.

Voor bepaling van de hoeveelheid ESBL producerende bacteriën in cloacaswabs is ter bepaling van een schatting van de prevalentie van ESBL dragende kuikens berekend dat met 95% en een betrouwbaarheidsinterval van maximaal 30%, uitgaande van een prevalentie van 50% (de prevalentie waarbij je meeste monsters genomen moeten worden), er 42 monsters genomen moeten worden (berekend op basis van bekende variatie uit praktijkstudies). Tellingen worden bij een deel van de monsters uitgevoerd, daarvoor kunnen dezelfde monsters worden gebruikt. Het is nog onduidelijk of er analyse wordt gedaan op aanwezigheid van andere pathogenen of het volledige microbiële profiel bij kuikens van verschillende behandelingen en het is nog onduidelijk hoeveel monsters daarvoor nodig zijn. Naar verwachting zal dat echter nooit meer dan 50 cloacaswabs per stal per leeftijd bedragen.

Voor het uitvoeren van de Welfare Quality welzijnsmonitor wordt het minimum aantal dieren per stal per uitleesparameter weergegeven in het protocol (Welfare Quality, 2009). Dit aantal dieren zal worden aangehouden bij het uitvoeren van deze waarnemingen. Voor het bepalen van bevuilding, voetzollaesies, hakdermatitis en eventueel borstirritatie betreft dit een minimum van 100 vleeskuikens per stal, voor het bepalen van de locomotiescore betreft dit een minimum van 150 dieren per stal uit een andere steekproef. Ervaring in voorgaande projecten heeft uitgewezen dat bij het vangen van kuikens op 4-6 locaties in een stal voor beide waarnemingen, en het feit dat alle kuikens in een vangkooi beoordeeld moeten worden, een maximum van 125 kuikens wordt beoordeeld voor uitwendige kwaliteit en een maximum van 175 voor locomotie.

Referenties:

De Gouw, P., Van de Ven, L.J.F., Kemp, B., Van den Brand, H., 2015. Effects of dust, formaldehyde, and delayed feeding on early postnatal development of broiler chickens. Poultry Sciences, submitted for publication.

Welfare Quality, 2009. The Welfare Quality assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality consortium, Lelystad, The Netherlands.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: kippen (vleeskuikens), niet genetisch gemodificeerd, van dag 0 tot slachtleeftijd (gewicht 2-2,5 kg), hennen en haantjes ('as hatched')

Herkomst: van commerciële kuikenbroederijen gevestigd in Nederland.

Onderbouwing diersoort/herkomst: proef wordt uitgevoerd onder commerciële omstandigheden en is gericht op vleeskuikens, deze zijn derhalve de gebruikte diersoort. Vleeskuikens zoals opgroeien op gangbare praktijkbedrijven worden gebruikt. Per experiment wordt gebruik gemaakt van één ras.

Geschatte aantallen per stal (maximaal aantal dieren per ongeriefcategorie en per handeling/leeftijd):

Licht ongerief (vangen en hanteren van eendagskuikens voor beoordeling kuikenkwaliteit, nemen cloacaswabs, bloedmonsters na decapitatie):

Maximaal 50 kuikens per stal, daarvan worden maximaal 50 kuikens gedecapiteerd om bloed te verzamelen (als statistische analyse na experiment 1 aanleiding geeft om minder kuikens te decapiteren dan zullen dit er minder zijn in de vervolggexperimenten).

Gering ongerief (alleen cloacaswab op dag 7 en 21):

Maximaal 50 kuikens per stal per leeftijd (aantallen bepaald op basis van statistische analyse).

Licht ongerief (bloedmonster uit vleugelvene op dag 28):

Maximaal 50 kuikens per stal (aantal wordt na experiment 1 naar beneden bijgesteld als statistische analyse aangeeft dat dat mogelijk is).

Licht ongerief (bloedmonster uit vleugelader vlak voor slachten):

Maximaal 50 kuikens (steekproef) per stal (aantal wordt na experiment 1 naar beneden bijgesteld als de statistische analyse aangeeft dat dat mogelijk is). Van deze dieren worden er maximaal 25 gedood (kopslag of CO2) voor het verzamelen van weefselmonsters, orgaangewichten en bepalen van pathologieën door middel van sectie. Voorafgaand aan de bloedmonstering wordt bij maximaal 50 dieren een cloacaswab genomen.

Totaal aantal koppels per experiment (een koppel is alle dieren uit een stal en de experimentele eenheid): maximaal 24 (2 stallen (koppels) per bedrijf, d.w.z. een controle en proefbehandeling per bedrijf). De metingen vinden plaats gedurende maximaal 2 productierondes, dus in totaal bij 48 koppels. Na experiment 1 is meer bekend over variatie tussen bedrijven en als statistische analyse aanleiding geeft om het aantal herhalingen per behandeling naar beneden bij te stellen dan wordt dat in vervollexperimenten gedaan.

Er is een kleine kans dat kuikens meerdere handelingen ondergaan omdat voor b.v. de cloacaswabs steekproeven van 50 kuikens per stal worden genomen op verschillende leeftijden. Gezien het totaal aantal kuikens in een vleeskuikenstal (20.000-30.000) wordt deze kans als zeer klein beschouwd.

Totaal aantal experimenten: maximaal 5

Totaal maximale aantal dieren per ongeriefcategorie voor het volledige project: licht ongerief, 250 kuikens per stal; in totaal 48 koppels x 5 proeven x 250 kuikens = 60.000 vleeskuikens (dit is ongeveer 0.8 – 1.2% van het totale aantal kuikens dat in alle stallen gedurende deze vijf proeven wordt gehouden).

Daarvan zijn maximaal 12.000 eendagskuikens en de overige kuikens worden in de periode tussen 7 en 35 dagen leeftijd gebruikt.

Zoals boven aangegeven, als de resultaten van experiment 1 aanleiding geven voor het naar beneden bijstellen van het aantal proefdieren dan zal dat in de vervollexperimenten worden gedaan en zal het aantal proefdieren over de totale projectperiode lager uitvallen.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging:

Deze proef is gericht op het effect van uitkomstcondities op het welzijn en de gezondheid van vleeskuikens en dit kan derhalve niet zonder het uitvoeren van een dierproef worden onderzocht. Om een goed beeld te krijgen van de verschillende gezondheids- en welzijnsaspecten is het noodzakelijk een steekproef

van kuikens per stal te onderwerpen aan gering ongerief. Wanneer deze waarnemingen niet kunnen worden uitgevoerd, zal het gestelde doel, namelijk het bepalen van het effect van uitkomstomstandigheden op gezondheid en welzijn van vleeskuikens, niet kunnen worden bereikt.

Vermindering:

Omdat het hier een proef onder praktijkcondities betreft is het de verwachting dat de variatie in uitleesparameters groter is dan onder volledig gecontroleerde experimentele condities. Daarmee is rekening gehouden in de proefopzet, zowel met het aantal te bemonsteren dieren binnen een proef, als met het aantal herhalingen van de behandelingen. Nadrukkelijk wordt gekozen voor één ras per experiment zodat er geen rekening met variatie tussen rassen gehouden hoeft te worden binnen een experiment. Aangegeven is dat het aantal herhalingen en het aantal te bemonsteren dieren maxima zijn, die naar beneden bijgesteld worden als de resultaten van experiment 1 daar aanleiding voor geven.

Verfijning:

Het ongerief in deze proef is gering. Het is niet mogelijk om bloed te verzamelen, cloacaswabs te nemen of uitwendige/inwendige pathologieën te beoordelen zonder enige ongerief te veroorzaken. Het aantal te bemonsteren dieren wordt tot een minimum beperkt als nodig is om mogelijke behandelingseffecten vast te stellen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De procedures voor het vangen en hanteren zijn zodanig dat dieren kortstondig geïmmobiliseerd worden (maximaal 5 minuten). Het nemen van cloacaswabs of bloedmonsters uit de vleugelveen zijn kortdurende handelingen die minder dan 1 minuut duren. Daarmee is de tijd dat de dieren lijden aan angst en pijn tot een minimum beperkt.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Bij de opzet van het onderzoek is een uitgebreide literatuurstudie uitgevoerd. Wageningen UR is voor zover wij weten de enige organisatie die werkt aan onderzoek naar effecten van uitkomstcondities op welzijn en gezondheid van vleeskuikens zoals hier beschreven. Het promotie onderzoek bij WU-Adaptatiefysiologie richt zich ook op het effect van uitkomstcondities, maar beperkt zich tot onderzoek onder experimentele omstandigheden en tot enkele dagen leeftijd (maximaal dag 7). Het hier beschreven onderzoek onder praktijkcondities werkt nauw samen met het promotie onderzoek maar is aanvullend/breder dan het promotie onderzoek en een noodzakelijke tussenstap naar de ontwikkeling van nieuwe praktijksystemen.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

x Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Deze proef wordt uitgevoerd op commerciële vleeskuikenbedrijven. Dit houdt in dat de vleeskuikens op een voor de praktijk gangbare wijze worden gehuisvest, waarbij voldaan wordt aan de eisen ten aanzien van dierenwelzijn zoals geformuleerd in de EU Broiler Directive (2007/43/EC) en het Nederlandse Vleeskuikenbesluit (<https://mijn.rvo.nl/welzijnseisen-voor-vleeskuikens>).

De proef wordt uitgevoerd onder praktijkomstandigheden omdat deze in belangrijke mate verschillen ten opzichte van experimentele omstandigheden. Onder experimentele omstandigheden worden vleeskuikens gehuisvest onder zeer gecontroleerde klimatologische condities met uniform management en in zeer kleine groepen (tiental tot maximaal enkele honderden dieren per groep). In de commerciële vleeskuikenhouderij is er grote variatie in management en klimatologische omstandigheden en worden vele duizenden dieren per stal gehouden. Dat houdt ook in dat effecten van de, in dit geval, uitkomstomstandigheden sterk kunnen verschillen ten opzichte van proeven onder experimentele condities, en dat kan zowel in positieve als negatieve zin zijn. Voordat nieuwe systemen in de praktijk kunnen worden toegepast (bij vele tienduizenden dieren per bedrijf) is het daarom noodzakelijk de effecten onder praktijkomstandigheden goed in kaart te brengen om te komen tot een door de praktijk en maatschappij geaccepteerd ontwerp van nieuwe vleeskuikensystemen. Daarom wordt in onderzoek naar nieuwe houderijsystemen bij landbouwhuisdieren bijna zonder uitzondering gekozen voor een tussenstap tussen onderzoek onder experimentele omstandigheden en implementatie in de gangbare praktijk.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Maximaal 12 commerciële vleeskuikenbedrijven, waar per individueel bedrijf twee identieke stallen worden gebruikt voor het onderzoek.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

De keuze hiervoor is inherent aan de keuze voor onderzoek onder praktijkomstandigheden, dit is alleen mogelijk buiten een inrichting die onder verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt. De motivatie voor onderzoek onder praktijkomstandigheden wordt hierboven weergegeven. Een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren wordt gewaarborgd doordat deze bedrijven wettelijk verplicht zijn zich te houden aan de Vleeskuikenrichtlijn (2007/43/EC) en het Nederlandse Vleeskuikenbesluit wat betreft de reguliere huisvesting en verzorging van de dieren, en het uitvoeren van dierproeftechnische handelingen valt onder verantwoording van een onderzoeker die voldoet aan artikel 9 van de Wod en wordt uitgevoerd door biotechnici.

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Het betreft hier kortdurende handelingen (bloedmonsters uit vleugelvene, duur minder dan 1 minuut) met gering ongerief, waarbij het praktisch niet uitvoerbaar en noodzakelijk is om daarbij pijnbestrijding toe te passen. Daarnaast kan pijnbestrijding mogelijk een effect hebben op enkele uitleesparameters

(bijvoorbeeld stresshormoon concentraties in het bloed).

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief door experimentele handelingen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Kortstondig vangen van de dieren en hanteren van dieren voor het beoordelen van uitwendige pathologieën of het nemen van een cloacaswab, vangen en hanteren gevolgd door bemonsteren van bloed en/of doden van de kuikens volgens toegestane methoden in richtlijn 2010/63/EU.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Het minimum aantal dieren benodigd voor een valide waarneming zal worden gevangen en gehanteerd, maar niet meer dieren dan minimaal benodigd. De tijdsduur dat de dieren in hun vrijheid beperkt (bijvoorbeeld in een vangkooi, waarin een groepje van maximaal 30 dieren tussen vier draadgazen panelen van 1 x 1 meter wordt ingesloten ter beoordeling van uitwendige pathologieën, bevuiling of locomotie) wordt zo kort mogelijk gehouden. Deze tijdsduur bedraagt nooit meer dan 15 minuten. De tijd tussen vangen en hanteren voor beoordelen, en vangen en bloedmonsteren en/of euthanasie wordt zoveel mogelijk beperkt gehouden en bedraagt niet meer dan vijf minuten. Dit laatste is ook noodzakelijk om een mogelijke effect van vangen op bloedparameters, zoals concentraties hormonen (bijvoorbeeld corticosteron) te voorkomen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Licht ongerief

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

x Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Het verzamelen van voldoende bloed bij ééndagskuikens, om immunologische bepalingen uit te voeren ten aanzien van de hoeveelheid natuurlijke antilichamen, complement, of respons tegen specifieke antigenen onder laboratoriumcondities, kan alleen plaatsvinden door decapitatie van de kuikens. Het beoordelen van organen met betrekking tot pathologie of orgaanontwikkeling (bijvoorbeeld hoogte van villi, diepte van crypten, activiteit slijmbekercellen in darmweefsel, maar ook orgaangewichten) kan alleen plaatsvinden na doden van kuikens.

Na afloop van het experiment worden alle overgebleven kuikens geslacht op een commerciële vleeskuikenslachterij volgens de in de praktijk gangbare procedures, waarna de kuikens bestemd zijn voor humane consumptie.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

x Ja



08 MEI 2015

10

Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. 40100
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 1 | Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

De dierproef bestaat uit een serie van maximaal vijf experimenten op commerciële vleeskuikenbedrijven. Per experiment wordt ofwel: (1) een systeemvergelijking uitgevoerd (vleeskuikens komen uit op de broederij, ondergaan daar de gangbare procedures en worden als ééndagskuiken getransporteerd naar het vleeskuikenbedrijf waar zij tot gebruikelijke slachtleeftijd (gewicht 2-2,5 kg volgens gangbare praktijk) worden gehouden (controlegroep), of komen uit op het vleeskuikenbedrijf in de [redacted] en zijn blootgesteld aan lagere concentraties stof, pathogenen en CO2 dan op de broederij, zijn niet ontsmet en worden niet getransporteerd als eendagskuiken (proefgroep)); ofwel (2) onderzoek met proefgroepen waarbij tijdens het

uitkomen van de kuikens één of meerdere factoren wordt gemanipuleerd (onderzoek naar enkelvoudige factoren of interactie tussen meerdere factoren). Deze factoren kunnen verschillen tussen de opeenvolgende experimenten waarbij gekozen kan worden voor verschillende concentraties stof of stof met pathogenen tijdens uitkomen, formaldehydebesmetting, vroege voeding van eendagskuikens, verschillende niveaus van bacteriële besmetting in de broederij, verschillende hanteer- of transportmethoden of onderdelen van transport (denk aan geluid of vibratie). Kuikens van de proefgroepen worden tot gelijke slachtleeftijd/gewicht gehouden (2-2,5 kg) zoals bij de systeem vergelijking.

De keuze voor de proefbehandelingen per experiment is afhankelijk van de resultaten van gelijktijdig lopend promotie onderzoek bij Wageningen Universiteit-leerstoelgroep Adaptatiefysiologie en de resultaten van voorafgaande experimenten onder praktijkomstandigheden.

Per experiment zal een keuze worden gemaakt uit de volgende uitleesparameters. Deze zijn bewezen indicatief voor de diergezondheid, het dierenwelzijn, het adaptief vermogen van de kuikens en de technische prestatie van het koppel. De keuze wordt bepaald door de resultaten van voorafgaand onderzoek en daaruit verkregen inzicht in mechanismen. Bijvoorbeeld, wanneer deze aanwijzingen geven dat wel de darmgezondheid, maar niet de longgezondheid wordt beïnvloed door de proeffactor dan wordt in vervolgonderzoek gekozen om alleen darmgezondheid als uitleesparameter mee te nemen.

De uitleesparameters kunnen zijn:

- Technische kenmerken: uitkomstpercentage, kuikengewicht, % 2^e soort kuikens (kuikens met fysieke afwijkingen), voeropname, voederconversie, groei, uitval (met reden van uitval) gedurende de volledige productieperiode van dag 1 (uitkomen) tot slachtleeftijd.
- Slachtkwaliteit: voetzoollaesiescore, afkeurpercentage en reden van afkeur, slachtgewicht en uniformiteit, hakdermatitis, borstirritatie en dijkkrassen, gemeten op de dag van slachten door de slachterij aan de slachtlijn.
- Immunologische ontwikkeling en immunologische capaciteit: bepaling van de immunologische capaciteit van de vleeskuikens en de ontwikkeling daarvan. Dit wordt bepaald door het bepalen van de hoeveelheid natuurlijke antilichamen en complement activiteit in het bloed op maximaal 3 momenten tijdens de groeiperiode, namelijk: dag van uitkomen (dag 1), rond dag 28, vlak voor slachten. Daarnaast kunnen de bloedmonsters worden gebruikt voor challenges met specifieke antigenen om de respons daartegen te bepalen. De leeftijden waarop bemonsterd wordt zijn de uitgangssituatie bij uitkomen (dag 1), het moment waarop de maternale immuniteit afwezig is (minimaal na dag 21, bijvoorbeeld rond dag 28) en vlak voor slachten als uitleesparameter voor de totale groeiperiode van een vleeskuiken.
- Fysiologische stressrespons: bepalen van de concentratie corticosteron in het bloed en het bepalen van de verhouding tussen heterofielen en lymfocyten in het bloed (indicator voor chronische stress bij kippen). Dit kan worden uitgevoerd op gelijke momenten als de bepaling van de immunologische capaciteit (na uitkomen, rond dag 28, slachtleeftijd) en hiervoor kunnen dezelfde bloedmonsters (minimaal 2 ml per dier) worden gebruikt.
- Beoordeling kuikenwelzijn: hiervoor wordt het Welfare Quality monitoringsprotocol gehanteerd (Welfare Quality, 2009) vlak voor slachtleeftijd. Deze metingen worden vlak voor slachten uitgevoerd omdat de druk op het dierenwelzijn op dat moment het hoogst is (dieren ondergaan dan de hoogste dierbezetting in de stal en het gewicht is maximaal). De volgende waarnemingen worden aan de dieren gedaan: bevuiling, voetzoollaesies, hakdermatitis, locomotie, hijgen/samenscholen, angstgedrag, beoordeling koppelgedrag. Minimum aantal dieren nodig voor deze waarnemingen zijn beschreven in het protocol (Welfare Quality, 2009) en betreffen minimaal 100 kuikens voor bevuiling, voetzoollaesies, hakdermatitis (alles gemeten aan hetzelfde kuiken), minimaal 150 kuikens voor locomotie, waarnemingen in de stal op 5 locaties voor koppelgedrag en hijgen/samenscholen en waarnemingen op minimaal 12 en maximaal 21 locaties voor angstgedrag. Indien gewenst kunnen aanvullende waarnemingen aan het koppelgedrag uitgevoerd worden. Voorzien worden waarnemingen aan de totale koppelactiviteit, de mate waarin natuurlijk gedrag zoals stofbaden en scharrelen wordt uitgevoerd (tijdbudget, aantallen kuikens die deze gedragingen uitvoeren), waarnemingen t.a.v. uitputting van eendagskuikens (slaap/waakritmes), snelheid van voer- en wateropname na uitkomen van eendagskuikens.
- Bepalen van de samenstelling van de microbiota in de darm: er worden cloacaswabs genomen op maximaal vier leeftijden: dag 1, rond dag 8, rond dag

21, rond dag 35. De swabs worden gebruikt voor bepalen van specifieke pathogenen (ESBL (Extended-spectrum bèta-lactamase) producerende bacteriën in experiment 1, andere pathogenen nog nader te bepalen) of bepaling van het microbioom (compleet profiel van de darmbacteriën). De verschillende tijdstippen zijn noodzakelijk indien de ontwikkeling in kaart gebracht moet worden en betreffen een maximum aantal keren dat monsters worden genomen per productieronde.

-Een deel van de kuikens zal na het bloedmonsteren en/of nemen van swabs worden gedood waarna sectie zal plaatsvinden door een dierenarts. Bij de sectie wordt bepaald of er sprake is van pathologieën aan diverse organen (o.a. longen, lever, hart, darmen, poten), worden orgaangewichten bepaald als indicator voor de ontwikkeling van de organen (o.a. lever, hart) en worden weefselmonsters genomen voor bepaling van orgaanontwikkeling (bijvoorbeeld monsters van de darm ter bepaling van de hoogte van villi, diepte van crypten, activiteit van slijmbekercellen). De leeftijden van bemonstering zijn gelijk aan die van het nemen van bloedmonsters en/of swabs zodat dezelfde kuikens kunnen worden gebruikt.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Vleeskuikens worden blootgesteld aan verschillen in uitkomstcondities, d.w.z. van dag 18-21 van het broedproces en het stadium van het uitkomen uit het ei tot het plaatsen van kuikens op het vleeskuikenbedrijf. Voor de controlegroep bedraagt dit de standaard procedures zoals op vleeskuikenbroederijen wordt uitgevoerd en duurt de tijd van uit het ei komen tot plaatsing op het vleeskuikenbedrijf (en toegang tot voer en water) maximaal 60 uur. De proefgroepen worden blootgesteld aan verschillende uitkomstcondities en deze kunnen per experiment verschillen. Ze kunnen bijvoorbeeld bestaan uit verschillende stofconcentraties, blootstelling aan pathogenen, afwezigheid van ontsmetting met formaldehyde, aangepaste hanteermethodiek, afwezigheid van transport, aanpassing transportcondities of blootstelling aan aspecten van transport (geluid, vibraties), verstrekken van vroege voeding en water. De maximale duur van blootstelling aan deze omstandigheden bedraagt 60 uur bij het verstrekken van voer en water. In het geval van hanteren of transport is de maximale duur enkele minuten (hanteren, intern transport op broederij) tot maximaal vier uur (transport naar vleeskuikenbedrijf) duren. In het geval van een systeemvergelijking zal een combinatie van deze factoren worden toegepast en zullen kuikens met de [REDACTED] op een praktijkbedrijf uit het ei komen. De proefbehandeling betreft altijd een te verwachten verbetering van de uitkomstomstandigheden ten opzichte van de controlegroepen (die conform gangbare praktijk worden behandeld). De mate waarin de gezondheid, het welzijn en de technische resultaten van de kuikens beïnvloed zullen worden door de uitkomstomstandigheden wordt bepaald gedurende de volledige groeiperiode van de kuikens tot slachtleeftijd, zodat acute en chronische effecten bestudeerd kunnen worden. Daartoe worden bovengenoemde uitleesparameters ingezet.

Aard, frequentie en duur van handelingen met betrekking tot uitleesparameters:

De uitleesparameters worden afgelezen vanaf het moment van het uitkomen uit het ei tot slachten van het kuiken (rond dag 35) om een beeld te krijgen van het acute en het lange termijn effect van de behandelingen.

Nemen van bloedmonsters:

- (1) Bij eendagskuikens door decapitatie (toegestaan volgens richtlijn 210/63/EU). Dit is de enige methode waarmee bij eendagskuikens voldoende bloed verzameld kan worden ten behoeve van bepaling van de immunologische- en endocriene parameters. Van vangen van de kuikens tot moment van decapitatie bedraagt de maximale tijdsduur vijf minuten maar bij voorkeur minder dan 2 minuten in verband met het stijgen van de hormoonspiegels door het vangen en hanteren van de kuikens.
- (2) Bij kuikens van ongeveer 28 en 35 dagen leeftijd door middel van een punctie van de vleugelvene. De kuikens worden gevangen en zo snel mogelijk daarna, maar binnen 5 minuten, wordt een bloedmonster van 2 ml uit de vleugelvene genomen.

Nemen van cloacaswabs:

De kuikens worden gevangen en zo snel mogelijk daarna wordt een cloacaswab genomen. Deze handeling duurt minder dan vijf minuten per kuiken. Op de momenten waarop ook bloedmonsters worden genomen worden dezelfde kuikens gebruikt om cloacaswabs te nemen.

Pathologie (inwendig), orgaangewichten en weefselmonsters:

Bij ééndagskuikens worden de kuikens gedecapiteerd voor het nemen van bloedmonsters. Dezelfde kuikens zullen worden gebruikt voor het meten van de ontwikkeling van organen (o.a. gewichten, beoordeling, weefselmonsters). Op 35 dagen leeftijd worden de kuikens gedood (percusterende slag op de kop of CO2 volgens richtlijn 2010/63/EC), nadat ze zijn gevangen en bloedmonsters zijn afgenomen. Doden vindt zo snel mogelijk maar in ieder geval binnen 5 minuten na de start van het hanteren plaats. Daarna wordt sectie uitgevoerd t.b.v. pathologische beoordeling en beoordeling van orgaanontwikkeling.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Een vleeskuikenkoppel (alle dieren in een stal) is de experimentele eenheid in een proef. Er zijn maximaal 12 bedrijven beschikbaar voor onderzoek met 2 stallen per bedrijf (controle/proefstal), dat wil zeggen 12 herhalingen per behandeling. Omdat naar verwachting de variatie tussen bedrijven groot zal zijn door de herkomst van de kuikens (verschillende broederijen en verschillende ouderdierenkoppels) en het gevoerde management op een bedrijf, zullen naar verwachting twee productierondes per experiment nodig zijn (24 herhalingen per behandeling) voor het verzamelen van voldoende gegevens voor het doen van betrouwbare uitspraken over effecten van behandelingen, waarbij herkomst (ouderdierkoppel en broederij) als factoren in de analyse meegenomen zullen worden. Er wordt gekozen voor één ras per experiment (meest gangbare ras in Nederland) zodat ras geen extra factor in de analyse zal zijn (en daarmee het aantal benodigde proefdieren relatief beperkt blijft). Na de eerste productieronde in experiment 1 (dus na 12 koppels/behandeling) is meer informatie over de variatie bekend en kan er een keuze worden gemaakt om het aantal herhalingen in experiment 1 en de daarop volgende proeven te reduceren. Dit zal worden bepaald op basis van statistische analyse. Na afronding van experiment 1 zal (als er meer dan 12 herhalingen per behandeling zijn ingezet) deze analyse nogmaals worden uitgevoerd.

Ook binnen de stal is de variatie tussen individuele dieren groter dan onder experimentele omstandigheden. Dit komt door verschil in kuikenkwaliteit binnen een stal, maar ook door verschil in de precieze locatie in een stal waar een kuiken meestal verblijft. Daarbij moet in het achterhoofd gehouden worden dat praktijkstallen zeer groot kunnen zijn en aantallen van 20.000-30.000 kuikens per stal gemeengoed zijn. Voor het bepalen van het aantal te bemonsteren kuikens per stal is rekening gehouden met de volgende overwegingen:

Op dit moment zijn er nog geen gegevens bekend over de te verwachten variatie in uitleesparameters voor immuun competentie, bepaling stresshormonen, orgaanontwikkeling, pathologie (na sectie) onder praktijkcondities (waarin een grotere variatie wordt verwacht dan onder experimentele omstandigheden). Daarom is het niet mogelijk een statistische onderbouwing te geven voor het aantal te bemonsteren kuikens. In een voorafgaand experiment onder experimentele condities (klimaatrespiratiecellen) met veel/weinig stof, wel/geen ontsmetting en wel/geen vroege voeding als proeffactoren zijn maximaal 25 kuikens per leeftijd per behandeling gebruikt voor het bepalen van orgaangewichten, pathologie en immunologische capaciteit (De Gouw, 2015). Vanwege de onduidelijkheid over de variatie onder praktijkcondities gaan we in deze dierproef uit van maximaal 50 kuikens per stal per leeftijd in experiment 1 voor immunologische capaciteit, hormoonconcentraties en pathologie. Na uitvoering van experiment 1 zijn gegevens over de variatie in bovengenoemde uitleesparameters bekend. Indien de statistische analyse tijdens en/of na experiment 1 aanleiding geeft tot het bijstellen van het aantal dieren naar beneden zal dat bij experiment 2-5 plaatsvinden.

Voor beoordeling van de kuikenkwaliteit worden dezelfde ééndagskuikens gebruikt als voor het nemen van bloedmonsters (50 kuikens per stal). Ook voor

kuikenkwaliteit is onduidelijk welke variatie tussen kuikens in praktijkstallen verwacht kan worden. Tegelijk met het hanteren van de kuikens voor het bemonsteren wordt een beoordeling gemaakt van de navel- en pootkwaliteit per kuiken. Op basis van de gevonden variatie in experiment 1 kan dit aantal (na statistische berekening van het aantal benodigde kuikens) in volgende experimenten naar beneden worden bijgesteld.

Voor bepaling van de hoeveelheid ESBL producerende bacteriën in cloacaswabs is ter bepaling van een schatting van de prevalentie van ESBL dragende kuikens berekend dat met 95% en een betrouwbaarheidsinterval van maximaal 30%, uitgaande van een prevalentie van 50% (de prevalentie waarbij je meeste monsters genomen moeten worden), er 42 monsters genomen moeten worden (berekend op basis van bekende variatie uit praktijkstudies). Tellingen worden bij een deel van de monsters uitgevoerd, daarvoor kunnen dezelfde monsters worden gebruikt. Het is nog onduidelijk of er analyse wordt gedaan op aanwezigheid van andere pathogenen of het volledige microbiële profiel bij kuikens van verschillende behandelingen en het is nog onduidelijk hoeveel monsters daarvoor nodig zijn. Naar verwachting zal dat echter nooit meer dan 50 cloacaswabs per stal per leeftijd bedragen.

Voor het uitvoeren van de Welfare Quality welzijnsmonitor wordt het minimum aantal dieren per stal per uitleesparameter weergegeven in het protocol (Welfare Quality, 2009). Dit aantal dieren zal worden aangehouden bij het uitvoeren van deze waarnemingen. Voor het bepalen van bevulling, voetzoollaesies, hakdermatitis en eventueel borstirritatie betreft dit een minimum van 100 vleeskuikens per stal, voor het bepalen van de locomotiescore betreft dit een minimum van 150 dieren per stal uit een andere steekproef. Ervaring in voorgaande projecten heeft uitgewezen dat bij het vangen van kuikens op 4-6 locaties in een stal voor beide waarnemingen, en het feit dat alle kuikens in een vangkooi beoordeeld moeten worden, een maximum van 125 kuikens wordt beoordeeld voor uitwendige kwaliteit en een maximum van 175 voor locomotie.

Referenties:

De Gouw, P., Van de Ven, L.J.F., Kemp, B., Van den Brand, H., 2015. Effects of dust, formaldehyde, and delayed feeding on early postnatal development of broiler chickens. Poultry Sciences, submitted for publication.

Welfare Quality, 2009. The Welfare Quality assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality consortium, Lelystad, The Netherlands.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: kippen (vleeskuikens), niet genetisch gemodificeerd, van dag 0 tot slachtleeftijd (gewicht 2-2,5 kg), hennen en haantjes ('as hatched')

Herkomst: van commerciële kuikenbroederijen gevestigd in Nederland.

Onderbouwing diersoort/herkomst: proef wordt uitgevoerd onder commerciële omstandigheden en is gericht op vleeskuikens, deze zijn derhalve de gebruikte diersoort. Vleeskuikens zoals opgroeien op gangbare praktijkbedrijven worden gebruikt. Per experiment wordt gebruik gemaakt van één ras.

Geschatte aantallen per stal (maximaal aantal dieren per ongeriefcategorie en per handeling/leeftijd):

Licht ongerief (vangen en hanteren van eendagskuikens voor beoordeling kuikenkwaliteit, nemen cloacaswabs, bloedmonsters na decapitatie):

Maximaal 50 kuikens per stal, daarvan worden maximaal 50 kuikens gedecapiteerd om bloed te verzamelen (als statistische analyse na experiment 1 aanleiding geeft om minder kuikens te decapiteren dan zullen dit er minder zijn in de vervolggexperimenten).

Licht ongerief (alleen cloacaswab op dag 7 en 21):

Maximaal 50 kuikens per stal per leeftijd (aantallen bepaald op basis van statistische analyse).

Licht ongerief (bloedmonster uit vleugelvene op dag 28):

Maximaal 50 kuikens per stal (aantal wordt na experiment 1 naar beneden bijgesteld als statistische analyse aangeeft dat dat mogelijk is).

Licht ongerief (bloedmonster uit vleugelader vlak voor slachten):

Maximaal 50 kuikens (steekproef) per stal (aantal wordt na experiment 1 naar beneden bijgesteld als de statistische analyse aangeeft dat dat mogelijk is).

Van deze dieren worden er maximaal 25 gedood (kopslag of CO2) voor het verzamelen van weefselmonsters, orgaangewichten en bepalen van pathologieën door middel van sectie. Voorafgaand aan de bloedmonstering wordt bij maximaal 50 dieren een cloacaswab genomen.

De metingen vinden plaats gedurende maximaal 2 productierondes per experiment, d.w.z. in totaal bij maximaal 48 koppels (12 bedrijven met 2 stallen, maximaal gedurende 2 productierondes, dat is maximaal 24 koppels/behandeling, in totaal maximaal 48 koppels). Na de eerste productieronde in experiment 1 is meer bekend over variatie tussen koppels en als statistische analyse aanleiding geeft om het aantal herhalingen per behandeling naar beneden bij te stellen dan wordt dat in de tweede productieronde van experiment 1 gedaan. Indien relevant zal deze berekening ook nog na experiment 1 worden uitgevoerd ter bepaling van het aantal herhalingen in de vervolgentoelagen.

Er is een kleine kans dat kuikens meerdere handelingen ondergaan omdat voor b.v. de cloacaswabs steekproeven van 50 kuikens per stal worden genomen op verschillende leeftijden. Gezien het totaal aantal kuikens in een vleeskuikenstal (20.000-30.000) wordt deze kans als zeer klein beschouwd.

Totaal aantal experimenten: maximaal 5

Totaal maximale aantal dieren per ongeriefcategorie voor het volledige project: licht ongerief, 250 kuikens per stal; in totaal 48 koppels x 5 proeven x 250 kuikens = 60.000 vleeskuikens (dit is ongeveer 0.8 – 1.2% van het totale aantal kuikens dat in alle stallen gedurende deze vijf proeven wordt gehouden).

Daarvan zijn maximaal 12.000 eendagskuikens en de overige kuikens worden in de periode tussen 7 en 35 dagen leeftijd gebruikt.

Zoals boven aangegeven, als de resultaten van experiment 1 aanleiding geven voor het naar beneden bijstellen van het aantal proefdieren dan zal dat in de tweede ronde van experiment 1 en in vervolgentoelagen worden gedaan en zal het aantal proefdieren over de totale projectperiode lager uitvallen.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging:

Deze proef is gericht op het effect van uitkomstcondities op het welzijn en de gezondheid van vleeskuikens en dit kan derhalve niet zonder het uitvoeren van een dierproef worden onderzocht. Om een goed beeld te krijgen van de verschillende gezondheids- en welzijnsaspecten is het noodzakelijk een steekproef van kuikens per stal te onderwerpen aan licht ongerief. Wanneer deze waarnemingen niet kunnen worden uitgevoerd, zal het gestelde doel, namelijk het bepalen van het effect van uitkomstomstandigheden op gezondheid en welzijn van vleeskuikens, niet kunnen worden bereikt.

Vermindering:

Omdat het hier een proef onder praktijkcondities betreft is het de verwachting dat de variatie in uitleesparameters groter is dan onder volledig gecontroleerde experimentele condities. Daarmee is rekening gehouden in de proefopzet, zowel met het aantal te bemonsteren dieren binnen een proef, als met het aantal herhalingen van de behandelingen. Nadrukkelijk wordt gekozen voor één ras per experiment zodat er geen rekening met variatie tussen rassen gehouden hoeft te worden binnen een experiment. Aangegeven is dat het aantal herhalingen en het aantal te bemonsteren dieren maxima zijn, die naar beneden bijgesteld worden als de resultaten van experiment 1 daar aanleiding voor geven.

Verfijning:

Het ongerief in deze proef is licht. Het is niet mogelijk om bloed te verzamelen, cloacaswabs te nemen of uitwendige/inwendige pathologieën te beoordelen zonder enige ongerief te veroorzaken. Het aantal te bemonsteren dieren wordt tot een minimum beperkt als nodig is om mogelijke behandelingseffecten vast te stellen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De procedures voor het vangen en hanteren zijn zodanig dat dieren kortstondig geïmmobiliseerd worden (maximaal 5 minuten). Het nemen van cloacaswabs of bloedmonsters uit de vleugelvane zijn kortdurende handelingen die minder dan 1 minuut duren. Daarmee is de tijd dat de dieren lijden aan angst en pijn tot een minimum beperkt.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Bij de opzet van het onderzoek is een uitgebreide literatuurstudie uitgevoerd. Wageningen UR is voor zover wij weten de enige organisatie die werkt aan onderzoek naar effecten van uitkomstcondities op welzijn en gezondheid van vleeskuikens zoals hier beschreven. Het promotie onderzoek bij [REDACTED] richt zich ook op het effect van uitkomstcondities, maar beperkt zich tot onderzoek onder experimentele omstandigheden en tot enkele dagen leeftijd (maximaal dag 7). Het hier beschreven onderzoek onder praktijkcondities werkt nauw samen met het promotie onderzoek maar is aanvullend/breder dan het promotie onderzoek en een noodzakelijke tussenstap naar de ontwikkeling van nieuwe praktijksystemen.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

x Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Deze proef wordt uitgevoerd op commerciële vleeskuikenbedrijven. Dit houdt in dat de vleeskuikens op een voor de praktijk gangbare wijze worden gehuisvest, waarbij voldaan wordt aan de eisen ten aanzien van dierenwelzijn zoals geformuleerd in de EU Broiler Directive (2007/43/EC) en het Nederlandse Vleeskuikenbesluit (<https://mijn.rvo.nl/welzijnseisen-voor-vleeskuikens>).

De proef wordt uitgevoerd onder praktijkomstandigheden omdat deze in belangrijke mate verschillen ten opzichte van experimentele omstandigheden. Onder experimentele omstandigheden worden vleeskuikens gehuisvest onder zeer gecontroleerde klimatologische condities met uniform management en in zeer kleine groepen (tiental tot maximaal enkele honderden dieren per groep). In de commerciële vleeskuikenhouderij is er grote variatie in management en klimatologische omstandigheden en worden vele duizenden dieren per stal gehouden. Dat houdt ook in dat effecten van de, in dit geval, uitkomstomstandigheden sterk kunnen verschillen ten opzichte van proeven onder experimentele condities, en dat kan zowel in positieve als negatieve zin zijn. Voordat nieuwe systemen in de praktijk kunnen worden toegepast (bij vele tienduizenden dieren per bedrijf) is het daarom noodzakelijk de effecten onder praktijkomstandigheden goed in kaart te brengen om te komen tot een door de praktijk en maatschappij geaccepteerd ontwerp van nieuwe vleeskuikensystemen. Daarom wordt in onderzoek naar nieuwe houderijsystemen bij landbouwhuisdieren bijna zonder uitzondering gekozen voor een tussenstap tussen onderzoek onder experimentele omstandigheden en implementatie in de gangbare praktijk.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

X Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Maximaal 12 commerciële vleeskuikenbedrijven, waar per individueel bedrijf twee identieke stallen worden gebruikt voor het onderzoek.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

De keuze hiervoor is inherent aan de keuze voor onderzoek onder praktijkomstandigheden, dit is alleen mogelijk buiten een inrichting die onder verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt. De motivatie voor onderzoek onder praktijkomstandigheden wordt hierboven weergegeven. Een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren wordt gewaarborgd doordat deze bedrijven wettelijk verplicht zijn zich te houden aan de Vleeskuikenrichtlijn (2007/43/EC) en het Nederlandse Vleeskuikenbesluit wat betreft de reguliere huisvesting en verzorging van de dieren, en het uitvoeren van dierproeftechnische handelingen valt onder verantwoording van een onderzoeker die voldoet aan artikel 9 van de Wod en wordt uitgevoerd door biotechnici.

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

x Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

x Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Het betreft hier kortdurende handelingen (bloedmonsters uit vleugelvene, duur minder dan 1 minuut) met licht ongerief, waarbij het praktisch niet uitvoerbaar en noodzakelijk is om daarbij pijnbestrijding toe te passen. Daarnaast kan pijnbestrijding mogelijk een effect hebben op enkele uitleesparameters (bijvoorbeeld stresshormoon concentraties in het bloed).

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief door experimentele handelingen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Kortstondig vangen van de dieren en hanteren van dieren voor het beoordelen van uitwendige pathologieën of het nemen van een cloacaswab, vangen en hanteren gevolgd door bemonsteren van bloed en/of doden van de kuikens volgens toegestane methoden in richtlijn 2010/63/EU.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Het minimum aantal dieren benodigd voor een valide waarneming zal worden gevangen en gehanteerd, maar niet meer dieren dan minimaal benodigd. De tijdsduur dat de dieren in hun vrijheid beperkt (bijvoorbeeld in een vangkooi, waarin een groepje van maximaal 30 dieren tussen vier draadgazen panelen van 1 x 1 meter wordt ingesloten ter beoordeling van uitwendige pathologieën, bevulling of locomotie) wordt zo kort mogelijk gehouden. Deze tijdsduur bedraagt nooit meer dan 15 minuten. De tijd tussen vangen en hanteren voor beoordelen, en vangen en bloedmonsters en/of euthanasie wordt zoveel mogelijk beperkt gehouden en bedraagt niet meer dan vijf minuten. Dit laatste is ook noodzakelijk om een mogelijke effect van vangen op bloedparameters, zoals concentraties hormonen (bijvoorbeeld corticosteron) te voorkomen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

x Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Licht ongerief

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Het verzamelen van voldoende bloed bij ééndagskuikens, om immunologische bepalingen uit te voeren ten aanzien van de hoeveelheid natuurlijke antilichamen, complement, of respons tegen specifieke antigenen onder laboratoriumcondities, kan alleen plaatsvinden door decapitatie van de kuikens. Het beoordelen van organen met betrekking tot pathologie of orgaanontwikkeling (bijvoorbeeld hoogte van villi, diepte van crypten, activiteit slijmbekercellen in darmweefsel, maar ook orgaangewichten) kan alleen plaatsvinden na doden van kuikens.

Na afloop van het experiment worden alle overgebleven kuikens geslacht op een commerciële vleeskuikenslachterij volgens de in de praktijk gangbare procedures, waarna de kuikens bestemd zijn voor humane consumptie.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Bijlage

Beschrijving dierproeven

- Deze bijlage voegt u bij uw projectvoorstel dierproeven.
- Per type dierproef moet u deze bijlage invullen en toevoegen.
- Meer informatie vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef |
|------------|---|
| 1 | Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

Beschrijf de keuze van de experimentele aanpak en de primaire uitkomstparameters.

De dierproef bestaat uit een serie van maximaal vijf experimenten op commerciële vleeskuikenbedrijven. Per experiment wordt ofwel: (1) een systeemvergelijking uitgevoerd (vleeskuikens komen uit op de broederij, ondergaan daar de gangbare procedures en worden als ééndagskuikens getransporteerd naar het vleeskuikenbedrijf waar zij tot gebruikelijke slachtleeftijd (gewicht 2-2,5 kg volgens gangbare praktijk) worden gehouden (controlegroep), of komen uit op het vleeskuikenbedrijf in de [REDACTED] en zijn blootgesteld aan lagere concentraties stof, pathogenen en CO2 dan op de broederij, zijn niet ontsmet en worden niet getransporteerd als eendagskuikens (proefgroep)); ofwel (2) onderzoek met proefgroepen waarbij tijdens het

uitkomen van de kuikens één of meerdere factoren wordt gemanipuleerd (onderzoek naar enkelvoudige factoren of interactie tussen meerdere factoren). Deze factoren kunnen verschillen tussen de opeenvolgende experimenten waarbij gekozen kan worden voor verschillende concentraties stof of stof met pathogenen tijdens uitkomen, formaldehydebesmetting, vroege voeding van eendagskuikens, verschillende niveaus van bacteriële besmetting in de broederij, verschillende hanteer- of transportmethoden of onderdelen van transport (denk aan geluid of vibratie). Kuikens van de proefgroepen worden tot gelijke slachtleeftijd/gewicht gehouden (2-2,5 kg) zoals bij de systeem vergelijking.

De keuze voor de proefbehandelingen per experiment is afhankelijk van de resultaten van gelijktijdig lopend promotie onderzoek bij [REDACTED] en de resultaten van voorafgaande experimenten onder praktijkomstandigheden.

Per experiment zal een keuze worden gemaakt uit de volgende uitleesparameters. Deze zijn bewezen indicatief voor de diergezondheid, het dierenwelzijn, het adaptief vermogen van de kuikens en de technische prestatie van het koppel. De keuze wordt bepaald door de resultaten van voorafgaand onderzoek en daaruit verkregen inzicht in mechanismen. Bijvoorbeeld, wanneer deze aanwijzingen geven dat wel de darmgezondheid, maar niet de longgezondheid wordt beïnvloed door de proeffactor dan wordt in vervolgonderzoek gekozen om alleen darmgezondheid als uitleesparameter mee te nemen.

De uitleesparameters kunnen zijn:

- Technische kenmerken: uitkomstpercentage, kuikengewicht, % 2^e soort kuikens (kuikens met fysieke afwijkingen), voeropname, voederconversie, groei, uitval (met reden van uitval) gedurende de volledige productieperiode van dag 1 (uitkomen) tot slachtleeftijd.
- Slachtkwaliteit: voetzollaesiescore, afkeurpercentage en reden van afkeur, slachtgewicht en uniformiteit, hakdermatitis, borstirritatie en dijkrassen, gemeten op de dag van slachten door de slachterij aan de slachtlijn.
- Immunologische ontwikkeling en immunologische capaciteit: bepaling van de immunologische capaciteit van de vleeskuikens en de ontwikkeling daarvan. Dit wordt bepaald door het bepalen van de hoeveelheid natuurlijke antilichamen en complement activiteit in het bloed op maximaal 3 momenten tijdens de groeiperiode, namelijk: dag van uitkomen (dag 1), rond dag 28, vlak voor slachten. Daarnaast kunnen de bloedmonsters worden gebruikt voor challenges met specifieke antigenen om de respons daartegen te bepalen. De leeftijden waarop bemonsterd wordt zijn de uitgangssituatie bij uitkomen (dag 1), het moment waarop de maternale immuniteit afwezig is (minimaal na dag 21, bijvoorbeeld rond dag 28) en vlak voor slachten als uitleesparameter voor de totale groeiperiode van een vleeskuiken.
- Fysiologische stressrespons: bepalen van de concentratie corticosteron in het bloed en het bepalen van de verhouding tussen heterofielen en lymfocyten in het bloed (indicator voor chronische stress bij kippen). Dit kan worden uitgevoerd op gelijke momenten als de bepaling van de immunologische capaciteit (na uitkomen, rond dag 28, slachtleeftijd) en hiervoor kunnen dezelfde bloedmonsters (minimaal 2 ml per dier) worden gebruikt.
- Beoordeling kuikenwelzijn: hiervoor wordt het Welfare Quality monitoringsprotocol gehanteerd (Welfare Quality, 2009) vlak voor slachtleeftijd. Deze metingen worden vlak voor slachten uitgevoerd omdat de druk op het dierenwelzijn op dat moment het hoogst is (dieren ondergaan dan de hoogste dierbezetting in de stal en het gewicht is maximaal). De volgende waarnemingen worden aan de dieren gedaan: bevuilding, voetzollaesies, hakdermatitis, locomotie, hijgen/samenscholen, angstgedrag, beoordeling koppelgedrag. Minimum aantal dieren nodig voor deze waarnemingen zijn beschreven in het protocol (Welfare Quality, 2009) en betreffen minimaal 100 kuikens voor bevuilding, voetzollaesies, hakdermatitis (alles gemeten aan hetzelfde kuiken), minimaal 150 kuikens voor locomotie, waarnemingen in de stal op 5 locaties voor koppelgedrag en hijgen/samenscholen en waarnemingen op minimaal 12 en maximaal 21 locaties voor angstgedrag. Indien gewenst kunnen aanvullende waarnemingen aan het koppelgedrag uitgevoerd worden. Voorzien worden waarnemingen aan de totale koppelactiviteit, de mate waarin natuurlijk gedrag zoals stofbaden en scharrelen wordt uitgevoerd (tijdbudget, aantallen kuikens die deze gedragingen uitvoeren), waarnemingen t.a.v. uitputting van eendagskuikens (slaap/waakritmes), snelheid van voer- en wateropname na uitkomen van eendagskuikens.
- Bepalen van de samenstelling van de microbiota in de darm: er worden cloacaswabs genomen op maximaal vier leeftijden: dag 1, rond dag 8, rond dag

21, rond dag 35. De swabs worden gebruikt voor bepalen van specifieke pathogenen (ESBL (Extended-spectrum bèta-lactamase) producerende bacteriën in experiment 1, andere pathogenen nog nader te bepalen) of bepaling van het microbioom (compleet profiel van de darmbacteriën). De verschillende tijdstippen zijn noodzakelijk indien de ontwikkeling in kaart gebracht moet worden en betreffen een maximum aantal keren dat monsters worden genomen per productieronde.

- Een deel van de kuikens zal na het bloedmonsteren en/of nemen van swabs worden gedood waarna sectie zal plaatsvinden door een dierenarts. Bij de sectie wordt bepaald of er sprake is van pathologieën aan diverse organen (o.a. longen, lever, hart, darmen, poten), worden orgaangewichten bepaald als indicator voor de ontwikkeling van de organen (o.a. lever, hart) en worden weefselmonsters genomen voor bepaling van orgaanontwikkeling (bijvoorbeeld monsters van de darm ter bepaling van de hoogte van villi, diepte van crypten, activiteit van slijmbekercellen). De leeftijden van bemonstering zijn gelijk aan die van het nemen van bloedmonsters en/of swabs zodat dezelfde kuikens kunnen worden gebruikt.

Beschrijf de beoogde behandeling van de dieren (inclusief de aard, de frequentie en de duur van de behandelingen waaraan de dieren worden blootgesteld) en onderbouw de gekozen aanpak.

Vleeskuikens worden blootgesteld aan verschillen in uitkomstcondities, d.w.z. van dag 18-21 van het broedproces en het stadium van het uitkomen uit het ei tot het plaatsen van kuikens op het vleeskuikenbedrijf. Voor de controlegroep bedraagt dit de standaard procedures zoals op vleeskuikenbroederijen wordt uitgevoerd en duurt de tijd van uit het ei komen tot plaatsing op het vleeskuikenbedrijf (en toegang tot voer en water) maximaal 60 uur. De proefgroepen worden blootgesteld aan verschillende uitkomstcondities en deze kunnen per experiment verschillen. Ze kunnen bijvoorbeeld bestaan uit verschillende stofconcentraties, blootstelling aan pathogenen, afwezigheid van ontsmetting met formaldehyde, aangepaste hanteermethodiek, afwezigheid van transport, aanpassing transportcondities of blootstelling aan aspecten van transport (geluid, vibraties), verstrekken van vroege voeding en water. De maximale duur van blootstelling aan deze omstandigheden bedraagt 60 uur bij het verstrekken van voer en water. In het geval van hanteren of transport is de maximale duur enkele minuten (hanteren, intern transport op broederij) tot maximaal vier uur (transport naar vleeskuikenbedrijf) duren. In het geval van een systeemvergelijking zal een combinatie van deze factoren worden toegepast en zullen kuikens met de ████████ op een praktijkbedrijf uit het ei komen. De proefbehandeling betreft altijd een te verwachten verbetering van de uitkomstomstandigheden ten opzichte van de controlebehandeling en zal naar verwachting leiden tot een verbetering in diergezondheid en dierenwelzijn bij de proefbehandelingen ten opzichte van de controlegroepen (die conform gangbare praktijk worden behandeld). De mate waarin de gezondheid, het welzijn en de technische resultaten van de kuikens beïnvloed zullen worden door de uitkomstomstandigheden wordt bepaald gedurende de volledige groeiperiode van de kuikens tot slachtleeftijd, zodat acute en chronische effecten bestudeerd kunnen worden. Daartoe worden bovengenoemde uitleesparameters ingezet.

Aard, frequentie en duur van handelingen met betrekking tot uitleesparameters:

De uitleesparameters worden afgelezen vanaf het moment van het uitkomen uit het ei tot slachten van het kuiken (rond dag 35) om een beeld te krijgen van het acute en het lange termijn effect van de behandelingen.

Nemen van bloedmonsters:

- (1) Bij eendagskuikens door decapitatie (toegestaan volgens richtlijn 210/63/EU). Dit is de enige methode waarmee bij eendagskuikens voldoende bloed verzameld kan worden ten behoeve van bepaling van de immunologische- en endocriene parameters. Van vangen van de kuikens tot moment van decapitatie bedraagt de maximale tijdsduur vijf minuten maar bij voorkeur minder dan 2 minuten in verband met het stijgen van de hormoonspiegels door het vangen en hanteren van de kuikens.
- (2) Bij kuikens van ongeveer 28 en 35 dagen leeftijd door middel van een punctie van de vleugelvene. De kuikens worden gevangen en zo snel mogelijk daarna, maar binnen 5 minuten, wordt een bloedmonster van 2 ml uit de vleugelvene genomen.

Nemen van cloacaswabs:

De kuikens worden gevangen en zo snel mogelijk daarna wordt een cloacaswab genomen. Deze handeling duurt minder dan vijf minuten per kuiken. Op de momenten waarop ook bloedmonsters worden genomen worden dezelfde kuikens gebruikt om cloacaswabs te nemen.

Pathologie (inwendig), orgaangewichten en weefselmonsters:

Bij ééndagskuikens worden de kuikens gedecapiteerd voor het nemen van bloedmonsters. Dezelfde kuikens zullen worden gebruikt voor het meten van de ontwikkeling van organen (o.a. gewichten, beoordeling, weefselmonsters). Op 35 dagen leeftijd worden de kuikens gedood (percuterende slag op de kop of CO₂ volgens richtlijn 2010/63/EC), nadat ze zijn gevangen en bloedmonsters zijn afgenomen. Doden vindt zo snel mogelijk maar in ieder geval binnen 5 minuten na de start van het hanteren plaats. Daarna wordt sectie uitgevoerd t.b.v. pathologische beoordeling en beoordeling van orgaanontwikkeling.

Geef aan welke overwegingen en statistische methoden worden gebruikt om het aantal benodigde dieren tot een minimum te beperken.

Een vleeskuikenkoppel (alle dieren in een stal) is de experimentele eenheid in een proef. Er zijn maximaal 12 bedrijven beschikbaar voor onderzoek met 2 stallen per bedrijf (controle/proefstal), dat wil zeggen 12 herhalingen per behandeling. Omdat naar verwachting de variatie tussen bedrijven groot zal zijn door de herkomst van de kuikens (verschillende broederijen en verschillende ouderdierenkoppels) en het gevoerde management op een bedrijf, zullen naar verwachting twee productierondes per experiment nodig zijn (24 herhalingen per behandeling) voor het verzamelen van voldoende gegevens voor het doen van betrouwbare uitspraken over effecten van behandelingen, waarbij herkomst (ouderdierkoppel en broederij) als factoren in de analyse meegenomen zullen worden. Er wordt gekozen voor één ras per experiment (meest gangbare ras in Nederland) zodat ras geen extra factor in de analyse zal zijn (en daarmee het aantal benodigde proefdieren relatief beperkt blijft). Na de eerste productieronde in experiment 1 (dus na 12 koppels/behandeling) is meer informatie over de variatie bekend en kan er een keuze worden gemaakt om het aantal herhalingen in experiment 1 en de daarop volgende proeven te reduceren. Dit zal worden bepaald op basis van statistische analyse. Na afronding van experiment 1 zal (als er meer dan 12 herhalingen per behandeling zijn ingezet) deze analyse nogmaals worden uitgevoerd.

Ook binnen de stal is de variatie tussen individuele dieren groter dan onder experimentele omstandigheden. Dit komt door verschil in kuikenkwaliteit binnen een stal, maar ook door verschil in de precieze locatie in een stal waar een kuiken meestal verblijft. Daarbij moet in het achterhoofd gehouden worden dat praktijkstallen zeer groot kunnen zijn en aantallen van 20.000-30.000 kuikens per stal gemeengoed zijn. Voor het bepalen van het aantal te bemonsteren kuikens per stal is rekening gehouden met de volgende overwegingen:

Op dit moment zijn er nog geen gegevens bekend over de te verwachten variatie in uitleesparameters voor immuun competentie, bepaling stresshormonen, orgaanontwikkeling, pathologie (na sectie) onder praktijkcondities (waarin een grotere variatie wordt verwacht dan onder experimentele omstandigheden). Daarom is het niet mogelijk een statistische onderbouwing te geven voor het aantal te bemonsteren kuikens. In een voorafgaand experiment onder experimentele condities (klimaatrespiratiecellen) met veel/weinig stof, wel/geen ontsmetting en wel/geen vroege voeding als proeffactoren zijn maximaal 25 kuikens per leeftijd per behandeling gebruikt voor het bepalen van orgaangewichten, pathologie en immunologische capaciteit (De Gouw, 2015). Vanwege de onduidelijkheid over de variatie onder praktijkcondities gaan we in deze dierproef uit van maximaal 50 kuikens per stal per leeftijd in experiment 1 voor immunologische capaciteit, hormoonconcentraties en pathologie. Na uitvoering van experiment 1 zijn gegevens over de variatie in bovengenoemde uitleesparameters bekend. Indien de statistische analyse tijdens en/of na experiment 1 aanleiding geeft tot het bijstellen van het aantal dieren naar beneden zal dat bij experiment 2-5 plaatsvinden.

Voor beoordeling van de kuikenkwaliteit worden dezelfde ééndagskuikens gebruikt als voor het nemen van bloedmonsters (50 kuikens per stal). Ook voor

kuikenkwaliteit is onduidelijk welke variatie tussen kuikens in praktijkstallen verwacht kan worden. Tegelijk met het hanteren van de kuikens voor het bemonsteren wordt een beoordeling gemaakt van de navel- en pootkwaliteit per kuiken. Op basis van de gevonden variatie in experiment 1 kan dit aantal (na statistische berekening van het aantal benodigde kuikens) in volgende experimenten naar beneden worden bijgesteld.

Voor bepaling van de hoeveelheid ESBL producerende bacteriën in cloacaswabs is ter bepaling van een schatting van de prevalentie van ESBL dragende kuikens berekend dat met 95% en een betrouwbaarheidsinterval van maximaal 30%, uitgaande van een prevalentie van 50% (de prevalentie waarbij je meeste monsters genomen moeten worden), er 42 monsters genomen moeten worden (berekend op basis van bekende variatie uit praktijkstudies). Tellingen worden bij een deel van de monsters uitgevoerd, daarvoor kunnen dezelfde monsters worden gebruikt. Het is nog onduidelijk of er analyse wordt gedaan op aanwezigheid van andere pathogenen of het volledige microbiële profiel bij kuikens van verschillende behandelingen en het is nog onduidelijk hoeveel monsters daarvoor nodig zijn. Naar verwachting zal dat echter nooit meer dan 50 cloacaswabs per stal per leeftijd bedragen.

Voor het uitvoeren van de Welfare Quality welzijnsmonitor wordt het minimum aantal dieren per stal per uitleesparameter weergegeven in het protocol (Welfare Quality, 2009). Dit aantal dieren zal worden aangehouden bij het uitvoeren van deze waarnemingen. Voor het bepalen van bevuilding, voetzollaesies, hakdermatitis en eventueel borstirritatie betreft dit een minimum van 100 vleeskuikens per stal, voor het bepalen van de locomotiescore betreft dit een minimum van 150 dieren per stal uit een andere steekproef. Ervaring in voorgaande projecten heeft uitgewezen dat bij het vangen van kuikens op 4-6 locaties in een stal voor beide waarnemingen, en het feit dat alle kuikens in een vangkooi beoordeeld moeten worden, een maximum van 125 kuikens wordt beoordeeld voor uitwendige kwaliteit en een maximum van 175 voor locomotie.

Referenties:

De Gouw, P., Van de Ven, L.J.F., Kemp, B., Van den Brand, H., 2015. Effects of dust, formaldehyde, and delayed feeding on early postnatal development of broiler chickens. Poultry Sciences, submitted for publication.

Welfare Quality, 2009. The Welfare Quality assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality consortium, Lelystad, The Netherlands.

B. De dieren

Benoem de diersoorten, herkomst, geschatte aantallen en levensstadia. Onderbouw deze keuzes.

Diersoort: kippen (vleeskuikens), niet genetisch gemodificeerd, van dag 0 tot slachtleeftijd (gewicht 2-2,5 kg), hennen en haantjes ('as hatched')

Herkomst: van commerciële kuikenbroederijen gevestigd in Nederland.

Onderbouwing diersoort/herkomst: proef wordt uitgevoerd onder commerciële omstandigheden en is gericht op vleeskuikens, deze zijn derhalve de gebruikte diersoort. Vleeskuikens zoals opgroeien op gangbare praktijkbedrijven worden gebruikt. Per experiment wordt gebruik gemaakt van één ras.

Geschatte aantallen per stal (maximaal aantal dieren per ongeriefcategorie en per handeling/leeftijd):

Licht ongerief (vangen en hanteren van eendagskuikens voor beoordeling kuikenkwaliteit, nemen cloacaswabs, bloedmonsters na decapitatie):

Maximaal 50 kuikens per stal, daarvan worden maximaal 50 kuikens gedecapiteerd om bloed te verzamelen (als statistische analyse na experiment 1 aanleiding geeft om minder kuikens te decapiteren dan zullen dit er minder zijn in de vervolggexperimenten).

Licht ongerief (alleen cloacaswab op dag 7 en 21):

Maximaal 50 kuikens per stal per leeftijd (aantallen bepaald op basis van statistische analyse).

Licht ongerief (bloedmonster uit vleugelvene op dag 28):

Maximaal 50 kuikens per stal (aantal wordt na experiment 1 naar beneden bijgesteld als statistische analyse aangeeft dat dat mogelijk is).

Licht ongerief (bloedmonster uit vleugelader vlak voor slachten):

Maximaal 50 kuikens (steekproef) per stal (aantal wordt na experiment 1 naar beneden bijgesteld als de statistische analyse aangeeft dat dat mogelijk is).

Van deze dieren worden er maximaal 25 gedood (kopslag of CO₂) voor het verzamelen van weefselmonsters, orgaangewichten en bepalen van pathologieën door middel van sectie. Voorafgaand aan de bloedmonstering wordt bij maximaal 50 dieren een cloacaswab genomen.

De metingen vinden plaats gedurende maximaal 2 productierondes per experiment, d.w.z. in totaal bij maximaal 48 koppels (12 bedrijven met 2 stallen, maximaal gedurende 2 productierondes, dat is maximaal 24 koppels/behandeling, in totaal maximaal 48 koppels). Na de eerste productieronde in experiment 1 is meer bekend over variatie tussen koppels en als statistische analyse aanleiding geeft om het aantal herhalingen per behandeling naar beneden bij te stellen dan wordt dat in de tweede productieronde van experiment 1 gedaan. Indien relevant zal deze berekening ook nog na experiment 1 worden uitgevoerd ter bepaling van het aantal herhalingen in de vervolggexperimenten.

Er is een kleine kans dat kuikens meerdere handelingen ondergaan omdat voor b.v. de cloacaswabs steekproeven van 50 kuikens per stal worden genomen op verschillende leeftijden. Gezien het totaal aantal kuikens in een vleeskuikenstal (20.000-30.000) wordt deze kans als zeer klein beschouwd.

Totaal aantal experimenten: maximaal 5

Totaal maximale aantal dieren per ongeriefcategorie voor het volledige project: licht ongerief, 250 kuikens per stal; in totaal 48 koppels x 5 proeven x 250 kuikens = 60.000 vleeskuikens (dit is ongeveer 0.8 – 1.2% van het totale aantal kuikens dat in alle stallen gedurende deze vijf proeven wordt gehouden).

Daarvan zijn maximaal 12.000 eindagskuikens en de overige kuikens worden in de periode tussen 7 en 35 dagen leeftijd gebruikt.

Zoals boven aangegeven, als de resultaten van experiment 1 aanleiding geven voor het naar beneden bijstellen van het aantal proefdieren dan zal dat in de tweede ronde van experiment 1 en in vervolggexperimenten worden gedaan en zal het aantal proefdieren over de totale projectperiode lager uitvallen.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

x Nee, ga door met vraag D.

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

Is er in het voorgaande of in het geplande gebruik sprake van (of een risico van) ernstig ongerief?

x Nee

Ja > Geef aan op basis van welke overwegingen hergebruik in dit geval acceptabel wordt geacht.

D. Vervanging, vermindering en verfijning

Laat zien hoe de toepassing van methoden voor vervanging, vermindering en verfijning zijn meegewogen bij het bepalen van de experimentele strategie, de keuze van de dieren en de opzet van de dierproef en welke keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging:

Deze proef is gericht op het effect van uitkomstcondities op het welzijn en de gezondheid van vleeskuikens en dit kan derhalve niet zonder het uitvoeren van een dierproef worden onderzocht. Om een goed beeld te krijgen van de verschillende gezondheids- en welzijnsaspecten is het noodzakelijk een steekproef van kuikens per stal te onderwerpen aan licht ongerief. Wanneer deze waarnemingen niet kunnen worden uitgevoerd, zal het gestelde doel, namelijk het bepalen van het effect van uitkomstomstandigheden op gezondheid en welzijn van vleeskuikens, niet kunnen worden bereikt.

Vermindering:

Omdat het hier een proef onder praktijkcondities betreft is het de verwachting dat de variatie in uitleesparameters groter is dan onder volledig gecontroleerde experimentele condities. Daarmee is rekening gehouden in de proefopzet, zowel met het aantal te bemonsteren dieren binnen een proef, als met het aantal herhalingen van de behandelingen. Nadrukkelijk wordt gekozen voor één ras per experiment zodat er geen rekening met variatie tussen rassen gehouden hoeft te worden binnen een experiment. Aangegeven is dat het aantal herhalingen en het aantal te bemonsteren dieren maxima zijn, die naar beneden bijgesteld worden als de resultaten van experiment 1 daar aanleiding voor geven.

Verfijning:

Het ongerief in deze proef is licht. Het is niet mogelijk om bloed te verzamelen, cloacaswabs te nemen of uitwendige/inwendige pathologieën te beoordelen zonder enige ongerief te veroorzaken. Het aantal te bemonsteren dieren wordt tot een minimum beperkt als nodig is om mogelijke behandelingseffecten vast te stellen.

Geef aan welke maatregelen zijn genomen om de kans op pijn, lijden of angst bij de dieren en de kans op nadelige milieueffecten tot een minimum te beperken.

De procedures voor het vangen en hanteren zijn zodanig dat dieren kortstondig geïmmobiliseerd worden (maximaal 5 minuten). Het nemen van cloacaswabs of bloedmonsters uit de vleugelvene zijn kortdurende handelingen die minder dan 1 minuut duren. Daarmee is de tijd dat de dieren lijden aan angst en pijn tot een minimum beperkt.

Herhaling en duplicering

E. Herhaling

Geef aan hoe is nagegaan of deze dierproeven niet al eerder zijn uitgevoerd. Indien van toepassing geef aan waarom duplicatie noodzakelijk is.

Bij de opzet van het onderzoek is een uitgebreide literatuurstudie uitgevoerd. ██████████ is voor zover wij weten de enige organisatie die werkt aan onderzoek naar effecten van uitkomstcondities op welzijn en gezondheid van vleeskuikens zoals hier beschreven. Het promotie onderzoek bij ██████████ richt zich ook op het effect van uitkomstcondities, maar beperkt zich tot onderzoek onder experimentele omstandigheden en tot enkele dagen leeftijd (maximaal dag 7). Het hier beschreven onderzoek onder praktijkcondities werkt nauw samen met het promotie onderzoek maar is aanvullend/breder dan het promotie onderzoek en een noodzakelijke tussenstap naar de ontwikkeling van nieuwe praktijksystemen.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

Worden de dieren anders dan volgens de eisen in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest en/of verzorgd?

Nee

x Ja > Geef, indien dit kan resulteren in nadelige effecten op het dierenwelzijn, aan op welke wijze de dieren worden gehuisvest en verzorgd en motiveer de keuze om af te wijken van de eisen in bovengenoemde bijlage III.

Deze proef wordt uitgevoerd op commerciële vleeskuikenbedrijven. Dit houdt in dat de vleeskuikens op een voor de praktijk gangbare wijze worden gehuisvest, waarbij voldaan wordt aan de eisen ten aanzien van dierenwelzijn zoals geformuleerd in de EU Broiler Directive (2007/43/EC) en het Nederlandse Vleeskuikenbesluit (<https://mijn.rvo.nl/welzijnseisen-voor-vleeskuikens>).

De proef wordt uitgevoerd onder praktijkomstandigheden omdat deze in belangrijke mate verschillen ten opzichte van experimentele omstandigheden. Onder experimentele omstandigheden worden vleeskuikens gehuisvest onder zeer gecontroleerde klimatologische condities met uniform management en in zeer kleine groepen (tiental tot maximaal enkele honderden dieren per groep). In de commerciële vleeskuikenhouderij is er grote variatie in management en klimatologische omstandigheden en worden vele duizenden dieren per stal gehouden. Dat houdt ook in dat effecten van de, in dit geval, uitkomstomstandigheden sterk kunnen verschillen ten opzichte van proeven onder experimentele condities, en dat kan zowel in positieve als negatieve zin zijn. Voordat nieuwe systemen in de praktijk kunnen worden toegepast (bij vele tienduizenden dieren per bedrijf) is het daarom noodzakelijk de effecten onder praktijkomstandigheden goed in kaart te brengen om te komen tot een door de praktijk en maatschappij geaccepteerd ontwerp van nieuwe vleeskuikensystemen. Daarom wordt in onderzoek naar nieuwe houderijsystemen bij landbouwhuisdieren bijna zonder uitzondering gekozen voor een tussenstap tussen onderzoek onder experimentele omstandigheden en implementatie in de gangbare praktijk.

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

Worden de dierproeven geheel of gedeeltelijk uitgevoerd bij een inrichting die niet onder de rechtstreekse verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder Wod valt?

Nee > Ga verder met vraag H.

X Ja > Geef aan wat voor bedrijf of instelling dit betreft.

Maximaal 12 commerciële vleeskuikenbedrijven, waar per individueel bedrijf twee identieke stallen worden gebruikt voor het onderzoek.

Waarom is hiervoor gekozen en hoe wordt een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren gewaarborgd?

De keuze hiervoor is inherent aan de keuze voor onderzoek onder praktijkomstandigheden, dit is alleen mogelijk buiten een inrichting die onder verantwoordelijkheid van een instellingsvergunninghouder valt. De motivatie voor onderzoek onder praktijkomstandigheden wordt hierboven weergegeven. Een adequate huisvesting, verzorging en behandeling van de dieren wordt gewaarborgd doordat deze bedrijven wettelijk verplicht zijn zich te houden aan de Vleeskuikenrichtlijn (2007/43/EC) en het Nederlandse Vleeskuikenbesluit wat betreft de reguliere huisvesting en verzorging van de dieren, en het uitvoeren van dierproeftechnische handelingen valt onder verantwoording van een onderzoeker die voldoet aan artikel 9 van de Wod en wordt uitgevoerd door biotechnici.

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

Valt te voorzien dat er pijn kan optreden bij de dieren?

Nee > Ga verder met vraag I.

x Ja > Worden in dat geval verdoving, pijnstilling en/of andere pijnverlichtingsmethoden toegepast?

x Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Het betreft hier kortdurende handelingen (bloedmonsters uit vleugelvele, duur minder dan 1 minuut) met licht ongerief, waarbij het praktisch niet uitvoerbaar en noodzakelijk is om daarbij pijnbestrijding toe te passen. Daarnaast kan pijnbestrijding mogelijk een effect hebben op enkele uitleesparameters (bijvoorbeeld stresshormoon concentraties in het bloed).

Ja

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Ongerief door experimentele handelingen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Kortstondig vangen van de dieren en hanteren van dieren voor het beoordelen van uitwendige pathologieën of het nemen van een cloacaswab, vangen en hanteren gevolgd door bemonsteren van bloed en/of doden van de kuikens volgens toegestane methoden in richtlijn 2010/63/EU.

Beschrijf welke maatregelen worden genomen om deze schadelijke effecten te voorkomen of waar mogelijk te minimaliseren.

Het minimum aantal dieren benodigd voor een valide waarneming zal worden gevangen en gehanteerd, maar niet meer dieren dan minimaal benodigd. De tijdsduur dat de dieren in hun vrijheid beperkt (bijvoorbeeld in een vangkooi, waarin een groepje van maximaal 30 dieren tussen vier draadgazen panelen van 1 x 1 meter wordt ingesloten ter beoordeling van uitwendige pathologieën, bevuiling of locomotie) wordt zo kort mogelijk gehouden. Deze tijdsduur bedraagt nooit meer dan 15 minuten. De tijd tussen vangen en hanteren voor beoordelen, en vangen en bloedmonsters en/of euthanasie wordt zoveel mogelijk beperkt gehouden en bedraagt niet meer dan vijf minuten. Dit laatste is ook noodzakelijk om een mogelijke effect van vangen op bloedparameters, zoals concentraties hormonen (bijvoorbeeld corticosteron) te voorkomen.

J. Humane eindpunten

Valt te voorzien dat zich bij deze dierproef omstandigheden voordoen waarbij het toepassen van humane eindpunten geïndiceerd is om verder lijden van de dieren te voorkomen?

x Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Welk percentage van de dieren loopt kans deze criteria te halen?

K. Classificatie van ongerief

Geef aan hoe in het licht van alle hierboven beschreven negatieve effecten het cumulatief ongerief wordt geclassificeerd in termen van 'terminaal', 'licht', 'matig' of 'ernstig' ongerief.

Licht ongerief

Einde experiment

L. Wijze van doden

Worden de dieren als onderdeel van het experiment of na afloop van het experiment gedood?

Nee > Ga verder met de ondertekening.

Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Het verzamelen van voldoende bloed bij ééndagskuikens, om immunologische bepalingen uit te voeren ten aanzien van de hoeveelheid natuurlijke antilichamen, complement, of respons tegen specifieke antigenen onder laboratoriumcondities, kan alleen plaatsvinden door decapitatie van de kuikens. Het beoordelen van organen met betrekking tot pathologie of orgaanontwikkeling (bijvoorbeeld hoogte van villi, diepte van crypten, activiteit slijmbekercellen in darmweefsel, maar ook orgaangewichten) kan alleen plaatsvinden na doden van kuikens.

Na afloop van het experiment worden alle overgebleven kuikens geslacht op een commerciële vleeskuikenslachterij volgens de in de praktijk gangbare procedures, waarna de kuikens bestemd zijn voor humane consumptie.

Wordt er een methode(n) van doden uit bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU toegepast?

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



Format Projectvoorstel dierproeven

- Dit format gebruikt u om uw projectvoorstel van de dierproeven te schrijven
- Bij dit format hoort de bijlage Beschrijving dierproeven. Per type dierproef moet u deze bijlage toevoegen.
- Meer informatie over het projectvoorstel vindt u op de website www.zbo-ccd.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul de titel van het project in.

2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- 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 Algemene projectbeschrijving

3.1 Achtergrond

Licht het project toe. Beschrijf de aanleiding, de achtergrond en de context. Besteed aandacht aan de bij vraag 2 aangekruiste categorieën.

- Geef in geval van 'wettelijk vereiste dierproeven' aan welke wettelijke eisen (in relatie tot beoogd gebruik en markttoelating) van toepassing zijn.
- Geef in geval van 'routinematige productie' aan welk(e) product(en) het betreft en voor welke toepassing(en).
- Geef in geval van 'hoger onderwijs of opleiding' aan waarom in dit project, in relatie tot het opleidingsprogramma en eindtermen, is gekozen voor dierproeven.

Aanleiding

Nagenoeg alle commercieel gehouden pluimvee wordt wereldwijd uitgebroed in broederijen waarbij het broedproces in 2 fasen is opgedeeld. De eerste fase, de voorbroedfase, vindt plaats in de broedmachine en duurt 18 dagen. Na 18 dagen worden de eieren geschouwd, en enkel bevruchte eieren worden overgeplaatst naar uitkomstbakken die in een uitkomstmachine gezet worden. Hier vinden de laatste 3 dagen van het broeden plaats. De meest gangbare uitkomstmachines hebben een capaciteit van 10.000 tot 42.000 eieren. Een natuurlijke variatie in snelheid van embryonale ontwikkeling leidt tot een variatie in het moment van uitkomst. Deze variatie in uitkomst wordt bovendien beïnvloed door andere factoren, zoals kleine temperatuurverschillen tijdens het broeden, leeftijd van de moederdieren, en variatie in opslagduur van eieren. In praktijk resulteren deze factoren in een uitkomstspreading van 24-48 uur. De uitkomstkasten worden na een broedperiode van in totaal 21,5 dag geopend, waarna de kuikens uit de uitkomstbakken worden gehaald. Ze worden gescheiden van de eischalen en de niet-uitgekomen kuikens, geteld, gevaccineerd, en met vrachtwagens naar het vleeskuikenbedrijf of opfokbedrijf (in geval van leghennen of ouderdieren) gebracht. Tussen het moment van uitkomen en het plaatsen in de stal wordt aan de kuikens doorgaans geen voer of water verstrekt. Deze periode van voer- en wateronthouding kan in Nederlandse omstandigheden, waar de transportduur normaal gesproken kort is, oplopen tot zo'n 60 uur.

In de laatste jaren is er veel literatuur verschenen over de effecten van deze vroege periode van voer- en water onthouding op de ontwikkeling van het kuiken. Onder experimentele omstandigheden is aangetoond dat de ontwikkeling van het immuunsysteem, de darmen, de thermoregulatie, en de technische prestaties (groei, voederconversie) positief worden gestimuleerd als kuikens direct na uitkomst voer- en water tot hun beschikking krijgen. Vencomatic werkt sinds 2006 aan een alternatieve oplossing (op praktijkschaal) om kuikens direct na het uitkomen voer- en watertoegang te geven: 18-daagse voorgebroede eieren worden niet overgebracht naar een uitkomstmachine, maar in plaats daarvan direct in de pluimveestal geplaatst. Kuikens komen dus uit het ei in de omgeving waarin zij ook tot het einde van hun leven verblijven. In eerste instantie werd hiervoor een speciaal huisvestingssysteem ontwikkeld, de Patio, waarbij kuikens in etages worden gehuisvest. Meer recent werd een toepassing ontwikkeld voor het uit laten komen van kuikens in de traditionele grondstal (de gebruikelijke condities waarin vleeskuikens in de commerciële praktijk worden gehouden): het [REDACTED]

Resultaten van de afgelopen 1,5 jaar laten zien dat de voordelen op gezondheidsvlak die in het Patio systeem gerealiseerd werden (minder sterfte, geen antibiotica nodig), voor een groot deel ook met het [REDACTED] in gangbare praktijkstallen (grondstallen) behaald kunnen worden. De vroege voer- en watertoegang van kuikens lijkt daarbij een belangrijke rol te spelen. Echter, andere factoren, die tot op heden nauwelijks bestudeerd werden, lijken ook een belangrijke invloed te hebben op de kuikengezondheid. Met name de concentratie van stof en pathogenen tijdens het uitkomen van de eieren en de effecten van kuikenhandeling op de broederij en transport naar het vleeskuikenbedrijf lijken van belang te zijn.

De omstandigheden tijdens het uitkomen en de vroege opfokfase in de [REDACTED] en het [REDACTED], zoals luchttemperatuur, relatieve luchtvochtigheid,

luchtsnelheid, CO₂ niveau, stofniveau, het al dan niet desinfecteren, luchtvolume per ei, en kuikenbehandeling en transport verschillen in grote mate van de omstandigheden die doorgaans in gangbare uitkomstsystemen worden gevonden. Zo is bijvoorbeeld de concentratie stof en CO₂ in de lucht veel hoger in de uitkomstkast op de broederij dan wanneer kuikens op het vleeskuikenbedrijf in de [REDACTED] uitkomen. Ook de luchtsnelheid, omgevingstemperatuur en relatieve luchtvochtigheid zijn veel hoger in een uitkomstkast dan in de [REDACTED] op het vleeskuikenbedrijf. Hoewel het geen vooraf vastgesteld doel was om in het [REDACTED] antibioticavrij te werken, bleek het nooit nodig te zijn antibiotica in te zetten sinds in gebruik name van een [REDACTED] waarin sinds februari 2008 30.000 vleeskuikens worden gehouden (tot juli 2014 ging het om 42 productierondes, dus resultaten van ruim 1,2 miljoen dieren). Deze data geven sterke aanwijzingen voor een positief effect van de vroege leefomgeving op de kuikengezondheid. Hieruit volgt de hypothese dat de omstandigheden tijdens de perinatale fase in het uitkomst/opfokstelsel een positief effect kunnen hebben op de gezondheid van het vleeskuiken en daardoor op het antibioticagebruik. Welke van de omstandigheden hierbij kritisch zijn, is tot nu toe nog niet duidelijk.

Achtergrond

Er is veel onderzoek gepubliceerd naar omstandigheden tijdens de voorbroedfase (tot dag 18) op de embryonale ontwikkeling, uitkomstpercentage en kuikenkwaliteit. Onderzoek naar de effecten van uitkomstomstandigheden (dag 18-21) op de fysiologie en gezondheid van kuikens is echter nauwelijks beschikbaar. In de volgende paragrafen wordt een status van de huidige kennis gegeven.

Verschillende omgevingscondities die mogelijk de fysiologische en immunologische ontwikkeling van kuikens beïnvloeden zijn hierboven benoemd. In dit projectvoorstel beperken we ons tot stofconcentratie, pathogenen, en het al dan niet desinfecteren tijdens de uitkomst, in combinatie met het al dan niet aanbieden van voer- en water direct na het uitkomen, en het transporteren van kuikens, omdat deze het meest kritisch lijken te zijn voor kuikengezondheid. De huidige stand van zaken van kennis van het effect van deze afzonderlijke factoren wordt hieronder kort besproken.

Stofconcentratie en pathogenen

Tijdens het uitkomstproces worden hoge niveaus van stof geproduceerd (Tymczyna et al., 2007). Stof is een belangrijk transportmechanisme voor potentiële pathogenen (Cason et al., 1994, Cox et al., 1997, Chmielowiec-Korzeniowska et al., 2007). De combinatie van hoge stofconcentraties met hoge luchtsnelheden in de uitkomstmachine geeft een hoog potentieel risico op kruisbesmetting (Bailey et al., 1992). Mitchell et al. (2002) toonde aan dat een reductie in stofconcentratie door het gebruik van een electrostatisch ladingssysteem effectief in staat was het totale aantal aerobe bacteriën, enterobacteriën en Salmonella's in commerciële uitkomstsystemen te reduceren. Echter, deze kennis heeft tot nu toe nog niet geleid tot aanpassing van de omstandigheden in commerciële uitkomstsystemen.

Daarnaast is bekend dat het immuunsysteem van vleeskuikens in de perinatale fase nog niet gematureerd is. De combinatie van een hoge pathogene druk met een immatuur immuunsysteem kan resulteren in een verhoogd risico op infecties bij jonge vleeskuikens met nadelige gevolgen voor hun gezondheid in het latere leven, en mogelijk de noodzaak om antibiotica in te zetten.

Onderzoek naar de effecten van bovenstaande omgevingsfactoren tijdens de perinatale fase op de ontwikkeling en gezondheid van de vleeskuikens is niet bekend. De hypothese kan gesteld worden dat stof het effect van een hoge pathogene druk versterkt. Lai et al. (2009, 2011) toonde aan dat intratracheale toediening van pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMPs), die algemeen voorkomen op stof in stallen met vleeskuikens van 3 weken leeftijd, een negatief effect had op de lichaamsgroei, hartmorfologie en de immunrespons van traag groeiende kuikens. Deze bevindingen suggereren dat stof het immuunsysteem zou prikkelen. Als het immuunsysteem op het zelfde moment wordt blootgesteld aan hoge niveaus van pathogenen kan dit resulteren in het overbelasten van het immuunsysteem en vervolgens in gezondheidsproblemen.

In kader van de match/mismatch hypothese beschreven door Schmidt (2011), kan men aan de andere kant stellen dat hoge stof- en pathogeenconcentraties in het vroege kuikenleven het immuunsysteem zouden stimuleren en de maturatie van het immuunsysteem zouden ondersteunen, zodat het zich aanpast op het stof- en pathogeen niveau dat het kuiken in het latere leven tegen zal komen (Lai et al., 2012, Prokopakis et al., 2013). Het vergroten van de kennis van de effecten van stof en pathogenen tijdens de perinatale fase op de kuikengezondheid gedurende het hele leven helpt daarom bij het verbeteren van de

omgeving waarin de kuikens uitkomen en het beter aanpassen van deze omstandigheden op de behoeften van het kuiken in relatie tot de omstandigheden op het vleeskuikenbedrijf.

Desinfecteren tijdens de uitkomstfase

Om de druk van ziektekiemen tijdens de uitkomstfase te reduceren, worden uitkomstkasten tijdens het uitkomen in broederijen normaal gesproken ontsmet met formaldehyde of waterstofperoxide. Het is algemeen bekend dat deze middelen een negatief effect hebben op het luchtwegepitheel. Sander et al. (1995) toonde aan dat formaldehyde blootstelling resulteert in afgestompte trilhaartjes in de luchtpijp en een negatief effect heeft op de mobiliteit van de trilhaartjes. Zulkifli et al. (1999) demonstreerde dat formaldehyde blootstelling resulteert in een toename aan laesie scores van het luchtpijpepitheel direct na blootstelling waarbij mogelijk entree poorten voor lucht gedragen pathogenen worden gecreëerd. Daarnaast werd een verhoogde voerconversie (VC) aangetoond in kuikens die aan formaldehyde werden blootgesteld in vergelijking met de onbehandelde kuikens (VC $0,95 \pm 0,02$ vs. $0,85 \pm 0,02$ voor formaldehyde vs. onbehandeld) in de eerste levensweek, terwijl lichaamsgewichten gelijk waren tussen de experimentele groepen. Dit verschil in VC hield aan tot aan het einde van de groeiperiode van de kuikens. Een hogere VC met vergelijkbare lichaamsgewichten duidt op een toename aan energiegebruik door de behandelde kuikens. Gesuggereerd werd dat de blootstelling aan formaldehyde een stressrespons induceert, wat energie kost waardoor deze minder in gezet kan worden voor groei (Zulkifli et al., 1999). Een andere werkingsmechanisme kan zijn dat de toename in laesies in het epitheel door formaldehyde blootstelling resulteert in een hogere vatbaarheid van de kuikens voor pathogene infecties, waardoor het immuunsysteem meer energie zou vragen in de groeiperiode.

Desinfectie met formaldehyde tijdens het uitkomstproces wordt ingezet om de pathogene druk te reduceren. Lourens et al. (2011) vonden geen verschillen in uitval tussen kuikens die aan formaldehyde werden bloot gesteld en kuikens die dat niet werden. Echter, de oorzaken van de uitval leken wel te verschillen. Kuikens die aan formaldehyde werden blootgesteld hadden een hogere uitval door longinfecties, terwijl de doodsoorzaken bij niet-blootgestelde kuikens voornamelijk dooierzakontstekingen en enteritis bleken. Het kan daarom worden geconcludeerd dat formaldehyde, hoewel het voordelen geeft door verlaagde druk van ziektekiemen tijdens uitkomen, voor kuikens ook een mogelijk negatief effect creëert op gezondheidsgebied. Het vergroten van kennis over de effecten van desinfectie tijdens het uitkomstproces op de gezondheid gedurende het gehele leven is daarom essentieel voor het optimaliseren van de condities waaronder het kuiken uit het ei komt.

Transport

Transport van eendagskuikens is een multifactoriële stressor, die o.a. bestaat uit veranderingen in omgevingstemperaturen, beweging, geluid en vibraties. Mitchell (2009) identificeerde thermische condities tijdens transport als een van de belangrijkste kritische punten als het gaat om gezondheid, welzijn en fysiologische stress in eendagskuikens. Andere factoren, zoals het hanteren van kuikens, voer- en wateronthouding, geluid en vibraties werden genoemd als stressvolle condities tijdens transport van vleeskuikens naar de slachterij (Mitchell and Kettlewell, 1998, Kettlewell et al., 2000). Studies naar de effecten van stress door eendagskuikentransport op de kuikengezondheid zijn niet gevonden. Onderzoek toonde echter aan dat hittestress de darmgezondheid van kuikens van 35 tot 41 dagen leeftijd beïnvloedt (Quinteiro-Filho et al., 2012, Akbarian et al., 2013). Bovendien toonden Hu et al. (2013) aan dat de combinatie van stressoren bij het spenen van biggen een negatief effect had op de morfologie van de darmwand. Villus hoogte en darmwand functie namen af na het spenen van 20 dagen oude biggen. De abrupte veranderingen in de omgeving die gepaard gaan met spenen van biggen vertonen gelijkenissen met de veranderingen die een eendagskuiken ondergaat wanneer het uit de uitkomstmachine gehaald, gehanteerd en getransporteerd wordt en blootgesteld wordt aan een nieuwe leefomgeving. Echter, onderzoek toont aan dat het eendagskuiken geen stressrespons vertoont dankzij een tijdelijke reductie in de gevoeligheid van de adrenale corticale cellen voor corticosteron (Wise and Frye, 1973, Freeman, 1982), en dat de gevoeligheid van kuikens ongeveer 24-36 uur na uitkomst terug keert (Freeman and Flack, 1980). Door de gebruikelijke uitkomst- en de kuikenbehandelingsprocedures zal echter een groot deel van de kuikens minimaal 24 uur oud zijn voordat ze op transport gaan. Mogelijk zijn kuikens daarom toch gevoelig voor stress tegen de tijd dat ze getransporteerd worden. De effecten van transport op de gezondheid van zowel pas uitgekomen kuikens als in het latere leven zijn onbekend. De hypothese kan gesteld worden dat een combinatie van een hoge pathogene druk tijdens de uitkomstfase gecombineerd met transportstress kan resulteren in een

slechter vermogen van de kuikens om zich aan te passen aan de omstandigheden in de vleeskuiken stal met mogelijke consequenties voor de gezondheid van het kuiken in het latere leven.

Moment van eerste voer- en wateropname

Door het hele proces van uitkomen, kuikenverzameling en transport kan de tijd tussen uitkomst en moment van eerste voer- en wateropname oplopen tot 60 uur. Onderzoek heeft aangetoond dat het moment van eerste voeropname na uitkomst een negatief effect heeft op de ontwikkeling van organen, en de adaptieve capaciteit van kuikens gedurende hun hele leven (Friedman et al., 2003, Walstra, 2011, Van de Ven, 2012). Daarnaast toonde onderzoek aan dat de effecten van voeronthouding na uitkomst leiden tot een suboptimaal technisch presteren van het dier en een verhoogde uitval (Stamps and Andrews, 1995, Halevy et al., 2000, Gonzales et al., 2003).

Dibner et al. (1998) demonstreerde dat het vroeg voeren de ontwikkeling van het immuunsysteem stimuleert. Direct gevoerde dieren hadden hogere bursa gewichten en een grotere lymfocyten proliferatie vergeleken met de niet direct gevoerde kuikens.

Gibbons (1997) toonde aan dat de darm van een kuiken normaal gesproken steriel is op het moment van uitkomen. Bacteriële kolonisatie van de darm begint op het moment dat het kuiken uitkomt en is afhankelijk van de microbiotische samenstelling die het kuiken opneemt uit zijn omgeving (Hrncir et al., 2008).

Walstra (2011) stelde dat de kolonisatie van direct gevoerde dieren anders zal zijn dan van niet gevoerde dieren omdat de microbiota die aanwezig zijn in het voer verschillen van microbiota in de leefomgeving. Het kan daarom geconcludeerd worden dat het moment van eerste voeropname de gezondheid en ontwikkeling van jonge kuikens beïnvloedt met mogelijke gevolgen in het latere leven.

Context

Antibioticagebruik is een grote zorg in de huidige vleeskuikenproductie. Een belangrijke reden voor deze zorg is het risico op de ontwikkeling van antibioticaresistentie in bacteriën door een te hoge antibiotica blootstelling en de mogelijke gevaren voor de volksgezondheid (Mevius et al., 2012). Alhoewel in de afgelopen jaren het antibioticagebruik in de vleeskuikenhouderij aanzienlijk is gedaald, is het noodzakelijk het gebruik verder te reduceren. Om een verdere daling te realiseren zal de kuikengezondheid gedurende het hele leven verbeterd moeten worden, dus, zal het vleeskuiken robuuster moeten worden. Naar verwachting heeft een toegenomen robuustheid van het vleeskuiken niet alleen een positief effect op het antibioticagebruik, maar zullen ook andere welzijnsaspecten en de technische resultaten positief beïnvloed worden. Daarmee wordt ook het economisch rendement van de vleeskuikenhouderij positief beïnvloed. Tensamen zullen deze effecten leiden tot een meer duurzame vorm van vleeskuikens houden. Daarmee voldoet dit project aan de ontwikkeling van een meer duurzame vorm van veehouderij in Nederland en daarbuiten.

Referenties:

Akbarian, A., Golian, A., Kermanshahi, H., Farhoosh, R., Raji, A. R., De Smet, S. & Michiels, J. 2013. Growth performance and gut health parameters of finishing broilers supplemented with plant extracts and exposed to daily increased temperature. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11, 109-119.

Bailey, J., Cox, N., Blankenship, L. & Stern, N. 1992. Hatchery contamination reduces the effectiveness of competitive exclusion treatments to control *Salmonella* colonization of broiler chicks. *Poultry Sci*, 71.

Cason, J. A., Cox, N. A. & Bailey, J. S. 1994. Transmission of *Salmonella typhimurium* during hatching of broiler chicks. *Avian Diseases*, 38, 583-588.

Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyna, L., Skórska, C., Sitkowska, J., Cholewa, G. & Dutkiewicz, J. 2007. Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 141-150.

Cox, N. A., Bailey, J. S. & Berrang, M. E. 1997. The presence of *Listeria monocytogenes* in the integrated poultry industry. *Journal of Applied Poultry Research*, 6, 116-119.

Dibner, J. J., Knight, C. D., Kitchell, M. L., Atwell, C. A., Downs, A. C. & Ivey, F. J. 1998. Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, 7, 425-436.

Freeman, B. M. 1982. Stress non-responsiveness in the newly-hatched fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 72, 251-253.

- Freeman, B. M. & Flack, I. H. 1980. Effects of handling on plasma corticosterone concentrations in the immature domestic fowl. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 66 A, 77-81.
- Friedman, A., Bar-Shira, E. & Sklan, D. 2003. Ontogeny of gut associated immune competence in the chick. *World's Poultry Science Journal*, 59.
- Gibbons, R. J. 1997. Adherence of bacteria to host tissue. In: *Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, DC.
- Gonzales, E., Kondo, N., Saldanha, É. S. P. B., Loddy, M. M., Careghi, C. & Decuypere, E. 2003. Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poultry Science*, 82, 1250-1256.
- Halevy, O., Geyra, A., Barak, M., Uni, Z. & Sklan, D. 2000. Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. *Journal of Nutrition*, 130, 858-864.
- Hrnčir, T., Stepankova, R., Kozakova, H., Hudcovic, T. & Tlaskalova-Hogenova, H. 2008. Gut microbiota and lipopolysaccharide content of the diet influence development of regulatory T cells: Studies in germ-free mice. *BMC Immunology*, 9.
- Hu, C. H., Xiao, K., Luan, Z. S. & Song, J. 2013. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs. *Journal of Animal Science*, 91, 1094-1101.
- Kettlewell, P. J., Hoxey, R. P. & Mitchell, M. A. 2000. Heat produced by broiler chickens in a commercial transport vehicle. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, 75, 315-326.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Aarnink, A. J. A., Kemp, B. & Parmentier, H. K. 2012. Effects of 2 size classes of intratracheally administered airborne dust particles on primary and secondary specific antibody responses and body weight gain of broilers: A pilot study on the effects of naturally occurring dust. *Poultry Science*, 91, 604-615.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Kemp, B., Aarnink, A. J. A. & Parmentier, H. K. 2009. Effects of dust and airborne dust components on antibody responses, body weight gain, and heart morphology of broilers. *Poultry Science*, 88, 1838-1849.
- Lai, H. T. L., Nieuwland, M. G. B., Kemp, B., Aarnink, A. J. A. & Parmentier, H. K. 2011. Effects of repeated intratracheally administered lipopolysaccharide on primary and secondary specific antibody responses and on body weight gain of broilers. *Poultry Science*, 90, 337-351.
- Lourens, A., Jansman, A., Rebel, J., van Harn, J., Veldkamp, T., Stockhofe-Zurwieden, N., Melchior, M., van Emous, R. A. & Kense, M. 2011. Verminderen antibioticagebruik in de vleeskuikensector. Rapport Wageningen UR Livestock Research, Lelystad.
- Mevius, D. J., Koene, M. G. J., Wit, B., Pelt, W. v. & Bondt, N. 2012. MARAN 2010/2011 : Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2009. Wageningen UR, Wageningen.
- Mitchell, B. W., Buhr, R. J., Berrang, M. E., Bailey, J. S. & Cox, N. A. 2002. Reducing airborne pathogens, dust and Salmonella transmission in experimental hatching cabinets using an electrostatic space charge system. *Poultry Science*, 81, 49-55.
- Mitchell, M. A. 2009. Chick transport and welfare. *Avian Biology Research*, 2, 99-105.
- Mitchell, M. A. & Kettlewell, P. J. 1998. Physiological Stress and Welfare of Broiler Chickens in Transit: Solutions Not Problems! *Poultry Science*, 77, 1803-1814.
- Prokopakis, E., Vardouniotis, A., Kawachi, H., Scadding, G., Georgalas, C., Hellings, P., Velegarakis, G. & Kalogjera, L. 2013. The pathophysiology of the hygiene hypothesis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 77, 1065-1071.
- Quinteiro-Filho, W. M., Gomes, A. V. S., Pinheiro, M. L., Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Astolfi-Ferreira, C. S., Ferreira, A. J. P. & Palermo-Neto, J. 2012. Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with *Salmonella* Enteritidis. *Avian Pathology*, 41, 421-427.
- Sander, J. E., Wilson, J. L., Rowland, G. N. & Middendorf, P. J. 1995. Formaldehyde vaporization in the hatcher and the effect on tracheal epithelium of the chick. *Avian Diseases*, 39, 152-157.
- Schmidt, M. V. 2011. Animal models for depression and the mismatch hypothesis of disease. *Psychoneuroendocrinology*, 36, 330-338.
- Stamps, L. K. & Andrews, L. D. 1995. Effects of delayed housing of broiler chicks and three different types of waterers on broiler performance. *Poultry Science*, 74, 1935-1941.
- Tymczyna, L., Chmielowiec-Korzeniowska, A. & Drabik, A. 2007. The effectiveness of various biofiltration substrates in removing bacteria, endotoxins, and

dust from ventilation system exhaust from a chicken hatchery. Poultry Science, 86, 2095-2100.

Van de Ven, L. J. F. 2012. Effects of hatching time and hatching system on broiler chick development. Adaptation physiology. Wageningen University.

Walstra, I. 2011. Adaptive capacity of rearing hens : effects of early life conditions. PhD Thesis, Wageningen University.

Wise, P. M. & Frye, B. E. 1973. Functional development of the hypothalamo hypophyseal adrenal cortex axis in the chick embryo, Gallus domesticus. Journal of Experimental Zoology, 185, 277-292.

Zulkifli, I., Fauziah, O., Omar, A. R., Shaipullizan, S. & Siti Selina, A. H. 1999. Respiratory Epithelium, Production Performance and Behaviour of Formaldehyde-exposed Broiler Chicks. Veterinary Research Communications, 23, 91-99

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

- In het geval het project gericht is op één of meer onderzoeksdoelen: op welke vra(a)g(en) dient dit project antwoord(en) te verschaffen?
- In geval het een ander dan een onderzoeksdoel betreft: in welke concrete behoefte voorziet dit project?

Het doel van dit onderzoek is het identificeren van factoren in het vroege leven van het vleeskuiken die van belang zijn voor een optimale diergezondheid en dierenwelzijn gedurende het gehele leven, zodat geen antibiotica ingezet hoeven te worden en de kwaliteit van het eindproduct optimaal is. Deze kennis wordt toegepast in de ontwikkeling van nieuwe vleeskuikensystemen waarin diergezondheid en dierenwelzijn zijn verbeterd ten opzichte van de huidige systemen. Om het doel te bereiken zullen de volgende kennisvragen beantwoord moeten worden:

- 1 Hoe beïnvloeden gebeurtenissen rondom uitkomen en in de eerste levensdagen de fysiologische, immunologische en gedragsmatige ontwikkeling van het kuiken, niet alleen in de eerste levensdagen maar ook tot aan de slachtleeftijd, en onder praktijkomstandigheden?
- 2 Welke invloed hebben gebeurtenissen rondom uitkomen en in het vroege leven op de diergezondheid gedurende het gehele leven, en daaraan gerelateerd op de technische prestaties en de kwaliteit van het eindproduct, dus op het economisch rendement van de vleeskuikenhouderij?
- 3 Welke factoren in het vroege leven zijn van belang voor het ontwerpen van nieuwe of verbeteren van bestaande huisvestingssystemen voor vleeskuikens, teneinde te komen tot een duurzame, maatschappelijk geaccepteerde en rendabele kuikenvleesproductie en een gegarandeerd residu-vrij en kwalitatief hoogwaardig eindproduct?

Haalbaarheid:

Verwacht wordt dat door de nauwe afstemming van het huidige project met een parallel lopend promotieonderzoek en de nauwe betrokkenheid van het bedrijfsleven in het project (systeemontwikkelaars, vleeskuikenhouders) de hierboven geschreven doelen haalbaar zijn binnen de duur van het project. Vertraging zal naar verwachting alleen optreden als door externe omstandigheden, bijvoorbeeld door het optreden van een besmettelijke dierziekte, de vleeskuikenbedrijven gedurende een bepaalde periode niet toegankelijk zullen zijn.

3.3 Belang

Beschrijf het wetenschappelijk en/of maatschappelijk belang van de hierboven beschreven doelstelling(en).

Het maatschappelijk belang komt tot uiting in de implementatie van systemen met een optimale bescherming voor welzijn en gezondheid van vleeskuikens, veilig voor consument en omgeving en in ketenverband borgbaar, waarbij gestreefd wordt naar het ontwerpen van systemen voor vleeskuikens waar het inzetten van antibiotica ter bescherming van de diergezondheid overbodig zal zijn. Dit draagt bij aan de vermindering van de antibioticumresistentie en dus aan vermindering van het risico voor de volksgezondheid. Daarnaast worden naar verwachting andere aspecten van duurzaamheid (economische prestatie en dierenwelzijn) ook positief beïnvloed waardoor dit onderzoek bijdraagt aan de ontwikkeling van duurzame veehouderijsystemen.

De wetenschappelijke meerwaarde is dat het hier beschreven project nieuwe kennis genereert over het effect van factoren tijdens het vroege leven op gezondheid en welzijn in de latere levensfase. Tot op heden is veel onderzoek uitgevoerd naar de omstandigheden in de voorbroedfase (dag 1-18), met name temperatuur, CO₂ gehalte en luchtvochtigheid, op uitkomstpercentage, embryo ontwikkeling en kuikenkwaliteit. Over de omstandigheden tijdens het uitkomstproces in de huidige uitkomstsystemen en de logistiek rondom het kuiken, tot de vleeskuikenstal aan toe, is echter weinig bekend. De mate waarin de kwaliteit van het eindproduct door deze condities beïnvloed wordt is nauwelijks onderzocht. Kennis die dit onderzoek oplevert wordt verder vertaald naar optimalisatie van gangbare vleeskuikensystemen en de ontwikkeling van nieuwe vleeskuikensystemen.

3.4 Onderzoeksstrategie

3.4.1 Geef een overzicht van de algemene opzet van het project (strategie).

De uitvoering van het hier beschreven project loopt in nauwe samenhang met een promotieonderzoek aan de [REDACTED]. Het promotie onderzoek is begin 2014 gestart en loopt gedeeltelijk vooraf aan en gedeeltelijk gelijktijdig met het hier beschreven project. Waar het promotie onderzoek zich richt op de ontwikkeling van fundamentele kennis (onderliggende mechanismen ten grondslag aan het effect van uitkomstomstandigheden op kuikengezondheid) en ontwikkeling van meetmethodieken, richt het hier beschreven project zich op ontwikkeling en toepassing van deze kennis op praktijkschaal, als logische tussenstap naar volledige implementatie van kansrijke nieuwe systemen in de praktijk. Daarmee wordt in het hier beschreven onderzoek niet alleen fundamentele kennis ontwikkeld maar ook toegepast onderzoek uitgevoerd.

Samenhang tussen het hier beschreven onderzoek en bovengenoemd promotietraject en algemene opzet van dit project:

In het promotieonderzoek worden op experimentele schaal (in klimaatrespiratiecellen) kritische factoren in de uitkomstfase en in de periode tussen uitkomst en plaatsing in de stal geïdentificeerd die de vroege immunologische en fysiologische ontwikkeling van vleeskuikens beïnvloeden. In het promotieonderzoek ligt de focus op de effecten van uitkomstomstandigheden op diergezondheid en technische kenmerken in de eerste levensdagen. Het promotie onderzoek richt zich met name op de factoren stofconcentratie, pathogene druk in het uitkomststelsel, het al dan niet desinfecteren van kuikens, de kuikenhandeling en –transport, en de risico's op kruisbesmetting tijdens de logistieke operatie in de broederij. De resultaten uit dit promotieonderzoek worden gebruikt om binnen het hier beschreven onderzoek testen op praktijkschaal uit te voeren die nodig zijn voor de uiteindelijke toepassing van de kennis in de praktijk. In de praktijktesten worden de effecten van omstandigheden in de perinatale fase op kuikengezondheid en -welzijn in het latere leven onderzocht, en wordt het effect van omstandigheden in de perinatale fase op de kwaliteit van het eindproduct in de slachterij en het economisch rendement onderzocht. Daartoe wordt een serie van maximaal vijf praktijkproeven opgezet (op commerciële vleeskuikenbedrijven) waarin ofwel afzonderlijke factoren worden getoetst ofwel een complete systeemvergelijking wordt uitgevoerd. Welke factoren worden getoetst hangt af van de resultaten van bovengenoemd promotie onderzoek en de resultaten van voorafgaande praktijkproeven. Er is dus een intensieve wisselwerking tussen het hier beschreven project en het promotie onderzoek.

3.4.2 Geef een overzicht op hoofdlijnen van de verschillende onderdelen van het project en de daarbij gebruikte type(n) dierproef of dierproeven.

Er zal een serie praktijkproeven worden opgezet (op commerciële vleeskuikenbedrijven) om de invloed van de kritische factoren in de perinatale fase op diergezondheid, dierwelzijn en technische prestatie gedurende de gehele groeiperiode van de vleeskuikens te onderzoeken. In de praktijktesten worden kuikens afkomstig van eenzelfde koppel moederdieren voorgebroed onder gelijke condities, maar uitgebreed onder verschillende omstandigheden en gedurende de gehele periode op het vleeskuikenbedrijf tot aan de slacht gevolgd. Tijdens de groeiperiode worden gegevens verzameld over de technische prestatie, immunologische parameters, diergezondheid, adaptieve capaciteit en welzijn. Daarnaast wordt de slachtkwaliteit van deze dieren bestudeerd.

De technische prestaties omvatten het uitkomstpercentage, kuikengewicht, % 2e soort kuikens (kuikens die niet verder het productieproces ingaan maar

worden gedood, bijvoorbeeld vanwege lichamelijke afwijkingen), groei, voederconversie en uitval van de dieren.

Om de immunologische ontwikkeling te volgen zal bij een aantal kuikens bloed afgenomen worden om de capaciteit van het immuunsysteem te kunnen bepalen en/of de respons tegen specifieke antigenen.

Om inzicht te krijgen in de adaptieve capaciteit van de kuikens kunnen naast de gedragswaarnemingen (zie onder) hormoonbepalingen (bijvoorbeeld het stresshormoon corticosteron) worden uitgevoerd en kan ook de heterofiel:lymfocyt ratio in het bloed worden bepaald (indicator voor chronische stress bij kippen). Dit kan in dezelfde bloedmonsters als voor bepaling van de immunologische ontwikkeling.

Om meer inzicht te krijgen in effecten op diergezondheid zullen secties worden uitgevoerd bij een steekproef van kuikens per stal en zal specifiek worden gekeken naar orgaanontwikkeling en pathologieën. Ten minste de darm- en longontwikkeling zullen uitgebreider worden bestudeerd door het nemen van weefselmonsters van deze organen. Cloacaswabs worden genomen om de microbiële samenstelling van de darmen te bepalen of meer specifiek naar de aanwezigheid van pathogenen te kijken.

Om het kuikenwelzijn te beoordelen wordt gebruik gemaakt van het Welfare Quality® monitoringsprotocol (Welfare Quality, 2009) dat indien nodig aangevuld wordt met meer uitgebreide gedragswaarnemingen. Standaard worden binnen het Welfare Quality® monitoringsprotocol de volgende kenmerken gemeten bij een steekproef van kuikens per koppel: voetzollaesies, hakdermatitis, borstirritatie, locomotie, koppelgedrag, angstigheid, hijgen/samenscholen, bevulling. Aanvullende gedragswaarnemingen zijn gericht op de snelheid waarmee eendagskuikens voer- en water opnemen, de mate van uitputting bij eendagskuikens, algemene activiteit en de mate waarin natuurlijk gedrag wordt uitgevoerd over de gehele groeiperiode.

Bij de beoordeling van de slachtkwaliteit wordt gekeken naar slachttrendement, pathologische afwijkingen (o.a. aan longen, darmen, lever, poten) en vleeskwaliteit.

De variatie op praktijkbedrijven is veel groter dan onder experimentele condities. Dit wordt veroorzaakt door verschillen in management (bijvoorbeeld klimaatinstellingen, type voer), maar ook doordat bijvoorbeeld kuikens worden aangeleverd vanuit meerdere broederijen en van verschillende leeftijd ouderdieren. Daarom is het noodzakelijk om voldoende herhalingen op te nemen in de verschillende experimenten. Er zijn maximaal 12 praktijkbedrijven beschikbaar voor onderzoek. Deze bedrijven zijn uitgerust met twee gelijke stallen waar de experimentele- en controlebehandelingen gehuisvest kunnen worden en hebben een afspraak met het projectteam over het meewerken aan het onderzoek. Afhankelijk van de te verwachten variatie kan het onderzoek gedurende meerdere productierondes (uitgangspunt maximaal 2 productierondes per experiment) worden uitgevoerd. De vleeskuikenhouders krijgen van tevoren een duidelijk instructie op een voorlichtingsbijeenkomst en worden intensief begeleid door de betrokken partijen Vencomatic en Agrosupply, de dierenarts van de broederij en betrokken onderzoekers.

In totaal zullen er maximaal 5 experimenten onder praktijkcondities worden uitgevoerd, voortbouwend op het gelijktijdig uitgevoerd promotieonderzoek bij WU-Adaptatiefysiologie en de resultaten van voorafgaande experimenten. Deze experimenten zijn deels gelijk van opzet en dienen allen hetzelfde doel (inzicht in factoren tijdens het uitkomen van vleeskuikens die bepalend zijn voor diergezondheid en het ontwerpen van nieuwe vleeskuikensystemen op basis van deze kennis). De afzonderlijke factoren die worden getoetst en de uitleesparameters kunnen per experiment verschillen. Hieronder geven we globaal de opzet van de vijf experimenten (looptijd 2015 tot en met 2017):

1. Inzicht in verschillen in diergezondheid tussen kuikens uitgekomen in de broederij en in de stal [REDACTED] (systeemvergelijking) en aanvullende metingen ter bepaling van verschillen in andere duurzaamheidsindicatoren tussen beide systemen. Deze proef is erop gericht meer inzicht te krijgen in welke aspecten van diergezondheid kuikens uitgekomen in de stal en op de broederij verschillen. Bekend is dat kuikens gezonder zijn als ze met de [REDACTED] in de stal uitkomen en dat er tot nu toe geen antibiotica nodig zijn. Maar in welke gezondheidsaspecten verschillen deze kuikens? Dit experiment geeft inzicht in mogelijk oorzakelijke factoren (specifieke condities tijdens uitkomen) die bepalend zijn voor diergezondheid en zal daarmee belangrijke informatie geven t.b.v. het ontwerp van vervolgentoetsen (zowel onder praktijk- als experimentele omstandigheden). Daarnaast geeft dit onderzoek een beeld van mogelijk andere verschillen in duurzaamheidskenmerken tussen de uitkomstsystemen, wat van belang is voor de uiteindelijke toepassing en acceptatie van nieuwe systemen in de praktijk en door de maatschappij.

2. Onderzoek naar effecten van kuikentransport. Verwacht wordt dat kuikentransport stress veroorzaakt bij jonge kuikens en daarmee een groot effect kan hebben op weerstand, gezondheid en dierenwelzijn. Experimenten zullen uitgevoerd worden waarbij kuikens van een gelijke afkomst worden uitbroeid in

uitkomstsystemen waarbij kuikentransport als extra factor ingebracht wordt. Kuikens worden onder praktijkcondities gehouden tot aan slachtleefijd en kenmerken van diergezondheid, dierenwelzijn, technische prestatie en kwaliteit van het eindproduct worden gemeten.

3. Eventueel vervolgonderzoek met betrekking tot het effect van handeling op de broederij en transport van eendagskuikens. Hierbij wordt voortgebouwd op experiment 2 en wordt het effect van afzonderlijke factoren die samenhangen met transport onderzocht (bijvoorbeeld vibratie en/of geluid) of wordt onderzoek uitgevoerd naar de wijze van handeling op de broederij. De exacte invulling van dit experiment is afhankelijk van de resultaten van experiment 2 en de uitkomsten van het promotie onderzoek. Mocht voorafgaand onderzoek geen aanleiding geven om het onderzoek naar transport en handeling voort te zetten, maar wel aanleiding geven naar verder onderzoek naar het effect van desinfectie op de broederij, dan kan in deze proef ook wel/geen desinfectie als factor worden ingebracht.

4. Risico's van kruisbesmetting tijdens kuikenhandeling en – transport en de invloed daarvan op kuikengezondheid in het latere leven en de productkwaliteit. Naar verwachting kan kruisbesmetting in de broederij grote effecten hebben op diergezondheid. In dit experiment wordt dit specifieke aspect van de broederijomstandigheden onderzocht.

5. Het laatste experiment is weer een systeemvergelijking, waarbij een combinatie van verschillende niveaus van stof, pathogenen, het al dan niet desinfecteren en kuikenhandeling en transport samen komen in verschillende uitkomstsystemen. Kuikengezondheid en –welzijn, en technisch presteren (inclusief medicijngebruik) in het latere leven en slachtkwaliteit worden gevolgd van kuikens die in de verschillende systemen uitkomen. Ook wordt het economisch rendement bepaald.

Referentie: Welfare Quality, 2009. The Welfare Quality assessment protocol for poultry (broilers, laying hens). The Welfare Quality Consortium, Lelystad, The Netherlands.

3.4.3 Beschrijf en benoem de logische samenhang van deze verschillende onderdelen en de eventuele fasering in de uitvoering. Vermeld eventuele mijlpalen en keuzemomenten.

De experimenten onder praktijkomstandigheden sluiten nauw aan op het fundamenteel onderzoek in het kader van het promotie onderzoek bij [REDACTED]. Daar waar het promotie onderzoek wordt uitgevoerd onder experimentele omstandigheden en de mogelijkheid biedt om meetmethoden te ontwikkelen en/of intensieve meetmethoden toe te passen om inzicht te krijgen in de effecten van de verschillende factoren tijdens het uitkomen van eieren, richt het hier beschreven onderzoek zich op praktijkcondities, teneinde de resultaten te kunnen toepassen in de commerciële vleeskuikenproductie.

Het hier beschreven onderzoek is een noodzakelijke tussenstap voor implementatie van nieuwe systemen in de praktijk. Immers, de omstandigheden op experimentele schaal (in dit geval in klimaatrespiratiecellen) zijn perfect toegerust om mechanismen te onderzoeken maar vaak niet representatief voor omstandigheden op praktijkbedrijven die veel variabelere (en dus minder controleerbaar) zijn. Daarnaast is het van belang om niet alleen de effecten van uitkomstomstandigheden op diergezondheid te bepalen, maar juist ook op de technische prestatie en productkwaliteit onder praktijkcondities. Wanneer deze positief worden beïnvloed door de behandelingen, zal de sector veel eerder geneigd zijn om systeemveranderingen door te voeren.

De (maximaal) vijf experimenten hebben een logische samenhang. Het eerste experiment is een systeemvergelijking en richt zich op nader onderzoek naar verschillen tussen systemen waarbij kuikens in de broederij en in de stal uitkomen. Deze proef zal richting geven aan het onderzoek naar onderliggende mechanismen en leiden tot een meer gericht vervolgonderzoek, zowel onder praktijk- als experimentele condities. Daarnaast is dit onderzoek van belang om een indruk te krijgen van mogelijk andere duurzaamheidsaspecten waarin de uitkomstsystemen verschillen. De drie vervolgonderzoeken richten zich op afzonderlijke factoren waarvan wij op dit moment inschatten dat deze een groot effect kunnen hebben op kuikengezondheid en -welzijn: transport, handeling en kruisbesmetting op de broederij. Eventueel kan daar de factor ontsmetting bij komen. Naar aanleiding van de resultaten van deze experimenten en de resultaten van het promotie onderzoek (apart project) wordt als laatste stap weer een systeemvergelijking uitgevoerd. Deze laatste systeemvergelijking is een 'proof of principle', waarbij het tot nu toe gangbare systeem wordt vergeleken met een systeem waarbij de uitkomstcondities zo

ideaal mogelijk zijn. In dit experiment wordt ook het economisch rendement bepaald omdat dat van belang is voor toepassing in de praktijk.

Na ieder experiment is er sprake van een go-no go moment en wordt besloten wat de invulling is van het volgende experiment. Indien het resultaat bereikt kan worden met minder dierproeven zal dat uiteraard ook worden gedaan. Binnen de looptijd van het project is de volgende fasering is voorzien:

Jaar 1 (2015): experiment 1. Keuzemoment invulling experiment 2 (eind 2015)

Jaar 2 (2016): experiment 2 en 3. Keuzemoment invulling experiment 3 (mei-juni 2016) en 4 (eind 2016)

Jaar 3 (2017): experiment 4 en 5. Keuzemoment invulling experiment 5 (mei-juni 2017).

3.4.4 Benoem de typen dierproeven. Vul per type dierproef een bijlage Beschrijving dierproeven in.

Volgnummer	Type dierproef
1	Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken
2	
3	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Van: ZBO-CCD
Verzonden: vrijdag 8 mei 2015 17:01
Aan: [Redacted]
Onderwerp: Gestelde vragen AVG40100201563

Geachte DEC-DLO,
Voor de aanvraag van DLO voor project "Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik", met aanvraagnummer AVD40100201563, hebben wij de onderzoeker enkele vragen gesteld. Graag breng ik u op de hoogte van onze vragen. De antwoorden zijn overigens inmiddels ontvangen.

- In de NTS was 3.3 niet gevuld. We hebben een nieuwe NTS ontvangen
- In de aanvraag staat enkele malen dat de proef 3 jaar zal duren. De vergunning is echter aangevraagd van 1 juni 2015 t/m 31 december 2017 en dit is geen volledige 3 jaar. We hebben inmiddels een ander projectvoorstel ontvangen waar niet meer de 3 jaar wordt genoemd.
- Er is verschillende keren 'gering' ongerief benoemd. Deze term komt in de nieuwe wetgeving niet meer voor. Er is inmiddels een nieuwe beschrijving dierproeven ontvangen
- Er is gevraagd om te onderbouwen dat er voldoende gegevens verzameld kunnen worden om conclusies te kunnen trekken. Ook is gevraagd of het mogelijk is of niet ná experiment 1, maar al tijdens experiment 1 te onderzoeken of er minder dieren onderzocht hoeven te worden. Hierop hebben aanpassingen in de beschrijving dierproeven plaatsgevonden.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,

[Redacted Signature]

Centrale Commissie Dierproeven
www.zbo-ccd.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

[REDACTED]

Van: [REDACTED]@wur.nl>
Verzonden: woensdag 6 mei 2015 11:02
Aan: ZBO-CCD
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: Brief AVD40100201563
Bijlagen: format_nts-robust broilers_def2.doc; bijlage_-_beschrijving_dierproeven-nieuw_robust broilers_def3.doc; format_projectvoorstel_CCD_Robust broilers_def.doc

Geachte mevrouw, mijnheer,

Bijgevoegd in deze email de aangepaste documenten betreffende aanvraag AVD40100201563.

Graag wil ik nog even reageren op uw volgende verzoeken:

Niet technische samenvatting

De niet technische samenvatting bij uw aanvraag is niet volledig ingevuld; 3.3 is niet gevuld. Graag ontvangen wij een aangevulde niet technische samenvatting

Deze vraag begrijp ik niet. Paragraaf 3.3. van de NTS was volledig ingevuld. Zie bijlage.

Inhoudelijke vragen

In uw aanvraag staat enkele malen benoemd dat de proef 3 jaar zal duren. De vergunning is echter aangevraagd van 1 juni 2015 t/m 31 december 2017 en dit is geen volledige 3 jaar. Wat is correct?

Het project heeft een looptijd van 3 jaar. De vergunning hoeft niet eerder in te gaan dan 1 juni, omdat het eerste half jaar is gebruikt voor o.a. aanvraag vergunning dierproef. Ik zie zelf de datum van 1 juni niet terug in de documenten, maar ik heb de tekst in de projectaanvraag aangepast.

Voor volgende aanvragen wijs ik u erop dat u in deze aanvraag verschillende keren 'gering' ongerief benoemt en deze term in de nieuwe wetgeving niet meer van toepassing is. Voor deze aanvraag hebben wij de term 'gering' gelezen als 'licht' ongerief.

aangepast

In het projectvoorstel staat dat de experimentele eenheid in een proef een vleeskuikenkoppel is. De statistiek zou dus uitgevoerd moeten worden met het aantal koppels (n=12). Kunt u onderbouwen dat n=12 voldoende informatie geeft om een conclusie te kunnen trekken?

Is het mogelijk een statistische analyse uit te voeren na de eerste productieronde en de tweede productieronde in experiment 1 eventueel al met minder dieren uit te voeren?

Dit is aangepast cq verduidelijkt in de beschrijving dierproeven. Overigens, het aantal koppels is in principe 24 per behandeling (zoals aangegeven in de aanvraag) tenzij analyse na ronde 1 (zie uw tweede vraag) uitwijst dat we met minder koppels toe kunnen.

E.e.a. zal ook per post worden toegestuurd.

Met vriendelijke groet,

Wageningen UR Livestock Research
P.O. Box 338, 6700 AH Wageningen, The Netherlands
De Elst 1, 6708 WD Wageningen, The Netherlands

E [redacted]@wur.nl

<http://www.wageningenur.nl/en/livestockresearch>
[Disclaimer](#)

Follow us on: [Twitter](#), [Facebook](#), [Youtube](#), [LinkedIn](#)

Wageningen UR Livestock Research is part of Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO), and is registered at the Dutch Chamber of Commerce with number 09098104. The institute is NEN-EN-ISO 9001:2008 certified.

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]
Sent: maandag 4 mei 2015 18:58
To: [redacted]
Cc: [redacted]
Subject: Brief AVD40100201563

Geachte mevrouw [redacted]
Bijgaand een brief met enkele vragen over uw aanvraag.

Als er nog vragen zijn, dan hoor ik dat graag.

Met vriendelijke groeten,
Centrale Commissie Dierproeven
www.zbo-ccd.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

Dit bericht kan informatie bevatten die niet voor u is bestemd. Indien u niet de geadresseerde bent of dit bericht abusievelijk aan u is gezonden, wordt u verzocht dat aan de afzender te melden en het bericht te verwijderen.

De Staat aanvaardt geen aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die verband houdt met risico's verbonden aan het elektronisch verzenden van berichten.

This message may contain information that is not intended for you. If you are not the addressee or if this message was sent to you by mistake, you are requested to inform the sender and delete the message.

The State accepts no liability for damage of any kind resulting from the risks inherent in the electronic transmission of messages.

Inkooporder/Purchase order

Pagina 1 van 1

CENTRALE COMMISSIE DIERPROEVEN
BEZUIDENHOUTSEWEG 73 GANG D-6
2594 AC DEN HAAG
Nederland

Datum/Date 15-4-2015
Ordernr./Purchase order no. * **WUR851591**
Klantnr./Customer no.

Contact [Redacted]
Telefoon/Telephone [Redacted]
E-mail [Redacted]@wur.nl

Raamovereenkomst/Framework contract

BTW-nummer/VAT number NL8113.83.696.B09

KvK nr./CoC no.

- * Inkoopordernummer op pakbon, indien van toepassing, en factuur vermelden. Facturen zonder inkoopordernummer worden niet in behandeling genomen.
- * Do quote the purchase order number on packing list, if applicable, and invoice. Invoices lacking purchase order number will not be considered.
- * Facturatie: Wageningen UR accepteert uitsluitend elektronische facturen via het platform van Basware. Voor informatie en registratie zie www.Basware.com/wageningen
- * Invoicing: Wageningen UR will only accept electronic invoices sent through the Basware platform. For information and registration please go to www.Basware.com/wageningen

Artikelnr/ Stock no	Omschrijving product / dienst/ Product / service description	Eenheid/ Unit	Aantal/ Amount	Prijs per eenheid/ Price per unit	Totaal/ Total price	Leverdatum/ Delivery date
1	Robuuste vleeskuikens AVD40100201563	stuk 1,00	1	741,00 EUR	741,00 EUR	15-04-2015

Totaalbedrag excl. BTW/Total amount due excl. tax	741,00 EUR
--	-------------------

Afleveradres/Delivery address	Factuuradres/Invoice address
Wageningen UR, Concernstaf+ t.a.v. Hendriks, Raymond afdeling CS+ ER&I Gebouw 104, Wageningen International Droevendaalsesteeg 4 6708 PB Wageningen Nederland	Wageningen UR, Concernstaf+ t.a.v. Financiële Zaken Droevendaalsesteeg 4 6708 PB Wageningen Nederland E-invoice platform Basware ID# 317481645 Of als PDF-bestand naar: invoices.cstaf@wur.nl

Voor deze inkooporder gelden de volgende opmerkingen./The following remarks apply to this order.

Met vriendelijke groet,/Kind regards,

[Redacted Signature]

Op de *dienst* zijn van toepassing: de Algemene Rijksvoorwaarden voor Diensten (ARVODI) 2011. Klik [hier](#) voor de ARVODI 2011.

Op het *product* zijn van toepassing: de Algemene Rijksvoorwaarden voor Producten (ARIV) 2011. Klik [hier](#) voor de ARIV 2011.

Op het *werk* zijn van toepassing: de Uniforme Administratieve Voorwaarden voor de uitvoering van werken en van technische installatiewerken 2012 (UAV 2012), behoudens indien opdrachtgever schriftelijk andere algemene voorwaarden of een rangregeling van toepassing verklaart, bijvoorbeeld in een offerte-uitvraag, aanbesteding, overeenkomst e.d..


Opdrachtgever/koper wijst (leverings- en betalings) voorwaarden van opdrachtnemer, zijn onderaannemers, leveranciers, fabrikanten e.d. wat betreft deze opdracht en nadere opdrachten die daar uit voortvloeien, uitdrukkelijk van de hand.

General Government Terms and Conditions for Public Service Contracts (ARVODI) 2011 are applicable to purchases of services. Click [here](#) for the ARVODI 2011.

The General Government Purchasing Conditions (ARIV) 2011 are applicable to purchases of products. Click [here](#) for the ARIV 2011.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen UR, Concernstaf
t.a.v. Financiële Zaken
Droevendaalsesteeg 4
6708 PB WAGENINGEN


**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900 28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD40100201563

Factuur

Factuurdatum 4 mei 2015
Vervaldatum 3 juni 2015
Factuurnummer 20157063
Betreft Factuur Aanvraag projectvergunning dierproeven

Omschrijving

Bedrag

Betaling leges projectvergunning dierproeven
Betreft aanvraag AVD40100201563

€ 741,-

Ordernr: WUR851591

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting DLO

t.a.v. [REDACTED]

Postbus 59

6700 AW WAGENINGEN



Centrale Commissie Dierproeven

Postbus 20401

2500 EK Den Haag

www.centralecommissiedierproeven.nl

T 0900-2800028 (10 ct /min)

info@zbo-ccd.nl

Onze referentie

Aanvraagnummer

AVD10300201563

Datum 10 juni 2015

Betreft Beslissing Aanvraag projectvergunning dierproeven

Bijlagen

2

Geachte mevrouw [REDACTED],

Op 30 april 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik" met aanvraagnummer AVD40100201563. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 6 mei 2015 heeft u de Niet-technische Samenvatting, het Projectvoorstel en de Beschrijving Dierproeven aangevuld.

Beslissing

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de dierproeven (hierna de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning.

U kunt met uw project "Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik" starten. De vergunning wordt afgegeven van 10 juni 2015 tot en met 31 december 2017.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-IDLO gevoegd. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de wet. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving liggen ten grondslag aan dit besluit.

Bezwaar

Als u het niet eens bent met deze beslissing, kunt u binnen zes weken na verzending van deze brief schriftelijk een bezwaarschrift indienen.

Een bezwaarschrift kunt u sturen naar Centrale Commissie Dierproeven, afdeling Juridische Zaken, postbus 20401, 2500 EK Den Haag.

Bij het indienen van een bezwaarschrift vragen we u in ieder geval de datum van de beslissing waartegen u bezwaar maakt en het aanvraagnummer te vermelden. U vindt deze gegevens in het colofon.

Bezwaar schorst niet de werking van het besluit waar u het niet mee eens bent. Dat betekent dat dat besluit wel in werking treedt en geldig is. U kunt tijdens deze procedure een voorlopige

Datum

10 juni 2015

Onze referentieAanvraagnummer
AVD40100201563

voorziening vragen bij de Voorzieningenrechter van de rechtbank in de woonplaats van de aanvrager. U moet dan wel kunnen aantonen dat er sprake is van een spoedeisend belang.

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op <http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

De Centrale Commissie Dierproeven
namens deze:

ir. G. de Peuter
Algemeen Secretaris

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals de Centrale Commissie Dierproeven heeft vastgesteld op 19 december 2014, ref 2014-04 en is gepubliceerd in de Staatscourant van 2 januari 2015, Nr. 163

Bijlagen

- Vergunning

- Hiervan deel uitmakend:
- DEC-advies
 - Weergave wet- en regelgeving



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Stichting DLO
Adres: Postbus 59
Postcode en woonplaats: 6700 AW WAGENINGEN
Deelnemersnummer: 40100

deze projectvergunning voor het tijdvak 10 juni 2015 tot en met 31 december 2017, voor het project "Robuuste vleeskuikens: naar een houderij zonder antibiotica gebruik" met aanvraagnummer AVD40100201563, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-DLO.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is wetenschappelijk onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1. een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 30 april 2015
2. de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a. Projectvoorstel, zoals ontvangen bij brief op 6 mei 2015;
 - b. Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen bij brief op 6 mei 2015;
 - c. Advies van Dierexperimentencommissie d.d. 30 april 2015, ontvangen op 30 april 2015.

Dierproeven

Naam dierproef	Diersoort	Aantal dieren	Ernst
Experiment onder praktijkomstandigheden naar effecten van uitkomstcondities bij vleeskuikens op gezondheid, welzijn, technische kenmerken	kippen (vleeskuikens), niet genetisch gemodificeerd	60.000	Licht

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 Wod zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat na ieder experiment het go/no go moment en de invulling van het volgende experiment, wordt afgestemd met de IvD.

Weergave wet- en regelgeving

Dit project en wijzigingen

Volgens artikel 10c van de Wet op de dierproeven (hierna de wet) is het verboden om andere dierproeven uit te voeren dan waar de vergunning voor is verleend. De dierproeven mogen slechts worden verricht in het kader van een project, volgens artikel 10g. Uit artikel 10b volgt dat de dierproeven zijn ingedeeld in de categorieën terminaal, licht, matig of ernstig. Als er wijzigingen in een dierproef plaatsvinden, moeten deze gemeld worden aan de Centrale Commissie Dierproeven. Hebben de wijzigingen negatieve gevolgen voor het dierenwelzijn, dan moet volgens artikel 10a5 de wijziging eerst voorgelegd worden en mag deze pas doorgevoerd worden na goedkeuren door de Centrale Commissie Dierproeven.

Artikel 10b schrijft voor dat het verboden is een dierproef te verrichten die leidt tot ernstige mate van pijn, lijden, angst of blijvende schade die waarschijnlijk langdurig zal zijn en niet kan worden verzacht, tenzij hiervoor door de Minister van Economische Zaken een ontheffing is verleend.

Verzorging

De fokker, leverancier en gebruiker moeten volgens artikel 13f van de wet over voldoende personeel beschikken en ervoor zorgen dat de dieren behoorlijk worden verzorgd, behandeld en gehuisvest. Er moeten ook personen zijn die toezicht houden op het welzijn en de verzorging van de dieren in de inrichting, personeel dat met de dieren omgaat moet toegang hebben tot informatie over de in de inrichting gehuisveste soorten en personeel moet voldoende geschoold en bekwaam zijn. Ook moeten er personen zijn die een eind kunnen maken aan onnodige pijn, lijden, angst of blijvende schade die tijdens een dierproef bij een dier wordt veroorzaakt. Daarnaast zijn er personen die zorgen dat een project volgens deze vergunning wordt uitgevoerd en als dat niet mogelijk is zorgen dat er passende maatregelen worden getroffen.

In artikel 9 staat dat de persoon die het project en de dierproef opzet deskundig en bekwaam moet zijn. In artikel 8 van het Dierproevenbesluit 2014 staat dat personen die dierproeven verrichten, de dieren verzorgen of de dieren doden, hiervoor een opleiding moeten hebben afgerond.

Voordat een dierproef die onderdeel uitmaakt van dit project start, moet volgens artikel 10a3 van de wet de uitvoering afgestemd worden met de instantie voor dierenwelzijn.

Pijnbestrijding en verdoving

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

Einde van een dierproef

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer, pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade

Datum

10 juni 2015

Onze referentieAanvraagnummer
AVD40100201563

zal blijven ondervinden. Als een dier in leven wordt gehouden, krijgt het de verzorging en huisvesting die past bij zijn gezondheidstoestand.

Volgens artikel 13b moet de dood als eindpunt van een dierproef zoveel mogelijk worden vermeden en vervangen door in een vroege fase vaststelbare, humane eindpunten. Als de dood als eindpunt onvermijdelijk is, moeten er zo weinig mogelijk dieren sterven en het lijden zo veel mogelijk beperkt blijven.

Uit artikel 13c volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 13d is vastgesteld dat proefdieren geadopteerd kunnen worden, teruggeplaatst in hun habitat of in een geschikt dierhouderijsysteem, als de gezondheidstoestand van het dier het toelaat, er geen gevaar is voor volksgezondheid, diergezondheid of milieu en er passende maatregelen zijn genomen om het welzijn van het dier te waarborgen.

Locatie

De dierproeven worden (niet allemaal) verricht in een inrichting van een gebruiker volgens artikel 10g van de wet.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting DLO

Postbus 59
6700 AW WAGENINGEN



**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900 28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD40100201563

Datum 4 mei 2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning dierproeven

Geachte heer/mevrouw,

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 30 april 2015.

Het aanvraagnummer dat wij hieraan hebben gegeven is AVD40100201563.

Gebruik dit nummer als u contact met ons opneemt.

Bijlagen
1

Wacht met de uitvoering van uw project

Als wij nog informatie van u nodig hebben dan ontvangt u daarover bericht. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Zodra uw aanvraag compleet is, krijgt u binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. In geval van een complexe aanvraag kan deze termijn met maximaal vijftien werkdagen verlengd worden. U krijgt bericht als de beslisperiode van uw aanvraag vanwege complexiteit wordt verlengd. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

Factuur

Bijgaand treft u de factuur aan voor de betaling van de leges. Wij verzoeken u de leges zo spoedig mogelijk te betalen, zodat we uw aanvraag in behandeling kunnen nemen. Is uw betaling niet binnen dertig dagen ontvangen, dan wordt uw aanvraag buiten behandeling gesteld.

Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven


Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- Factuur



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Wageningen UR, Concernstaf
t.a.v. Financiële Zaken
Droevendaalsesteeg 4
6708 PB WAGENINGEN


**Centrale Commissie
Dierproeven**

Postbus 20401
2500 EK Den Haag
www.zbo-ccd.nl

T 0900 28 000 28 (10 ct /min)
info@zbo-ccd.nl

Onze referentie
Aanvraagnummer
AVD40100201563

Factuur

Factuurdatum 4 mei 2015
Vervaldatum 3 juni 2015
Factuurnummer 20157063
Betreft Factuur Aanvraag projectvergunning dierproeven

Omschrijving

Bedrag

Betaling leges projectvergunning dierproeven
Betreft aanvraag AVD40100201563

€ 741,-

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.