

NTS 201521 E Coli in kippen		openbaar	niet openb.	pers.levenssfeer	onevenredige benadeling
nr.	document				
	1 Email aanvraag inzake einddatum	x			
	2 Beslissing op aanvraag (vergunning)	x			
	3 Aanvraag projectvergunning dierproeven	x			
	4 Vragen DEC aan onderzoeker	x			
	5 niet-technische samenvatting	x			
	6 Email aanvrager over titel NTS	x			
	7 vragenlijst wijzigen DEC (ingevuld)	x			
	8 Advies OBDA aan CCD		x		
	9 Brief aanvrager aanbidding projectplan	x			
	10 Niet-technische samenvatting	x			
	11 Format niet-technische samenvatting	x			
	12 Advies OBDA aan CCD (aangepast)		x		
	13 Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren (Ingevuld)	x			
	14 Email DEC met aanvullende info	x			
AA	Factuur aanvraag projectvergunning			x	x
BB	Acceptatiebrief aan aanvrager			x	x
CC	Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning			x	x

Van: [REDACTED]
Verzonden: woensdag 4 maart 2015 9:05
Aan: ZBO-CCD; [REDACTED]
CC: [REDACTED]
Onderwerp: RE: Einddatum project [REDACTED]

[REDACTED] geef ik desalniettemin te kennen dat de proef op zich een kleine drie weken zou duren maar het wellicht verstandig is deze proef/project voor de duur/periode van 1 jaar aan te vragen waarbinnen de proef uitgevoerd kan worden, omdat we afhankelijk zijn van een aantal onvoorziene factoren: broedcapaciteiten, huisvesting, dieren etc., die nu wel geregeld lijken, maar waar wel een kink in de kabel kan komen. Hopende u voldoende geïnformeerd te hebben, Hoogachtend [REDACTED]

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]
Sent: dinsdag 3 maart 2015 16:41
To: [REDACTED]
Cc: [REDACTED]
Subject: Einddatum project [REDACTED]

Geachte [REDACTED],

Uw aanvraag [REDACTED] getiteld 'Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E.coli weerstand in kippen' valt onder de overgangsregeling, hierdoor is niet expliciet aangegeven wat de geplande start en einddatum van het totale project is en wat daaruit volgend de geldigheidsduur van een vergunning zou moeten zijn.

In uw aanvraag wordt aangegeven dat de studie gepland staat vanaf 05 mei 2015 tot 22 mei 2015 en dit zou derhalve de geldigheidsduur van een mogelijke vergunning zijn, het is niet duidelijk of hierbij rekening gehouden is met onvoorziene omstandigheden waardoor deze planning mogelijk niet gehaald wordt.

Indien u dit niet heeft ingecalculeerd kunt u dan in reply op deze email bevestigen dat u akkoord gaat met een looptijd tot 1 september 2015?

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.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

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

Onze referentie
Aanvraagnummer [REDACTED]
Bijlagen: 4

Datum: 5 maart 2015
Betreft: Beslissing Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 2 februari 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Uw aanvraag heeft betrekking op het project Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen met aanvraagnummer [REDACTED]. Nadien heeft u de einddatum van de vergunning zoals genoemd in uw aanvraag gewijzigd, zodat u mogelijke onvoorziene omstandigheden in het onderzoek kunt opvangen. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Besluit op aanvraag

Naar aanleiding van uw aanvraag delen wij u mede dat is besloten uw aanvraag voor de periode 5 maart 2015 tot 1 mei 2016 **toe te wijzen** (gelet op artikel 10a lid 8 Wet op de dierproeven, hierna: Wod). Hierna kunt u lezen op grond van welke overwegingen wij tot deze beslissing zijn gekomen.

Het besluit wordt afgegeven onder de bepaling dat de bij dit besluit bijgesloten bijlagen deel uitmaken van de beschikking.

Procedure

De besluitvormingsprocedure is uitgevoerd overeenkomstig het bepaalde in paragraaf 3 van de Wod, paragraaf 2 van het Dierproevenbesluit 2014 en paragraaf 3 van de Dierproevenregeling 2014. En de overgangsregeling zoals die door de CCD op haar website is gepubliceerd.

Bij uw aanvraag heeft u een advies gevoegd van de dierexperimentencommissie [REDACTED]. Dit advies met kenmerk 15/01114 is opgesteld op 21 januari 2015. Overeenkomstig artikel 10a lid 3 van de Wod hebben wij dit advies betrokken bij de beoordeling van uw aanvraag. Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de dierexperimentencommissie. In een zodanig geval kan worden volstaan met een verwijzing naar het advies, dat hier als herhaald en ingelast dient te worden beschouwd. Op grondslag van dit advies en op grondslag van de artikelen 9, 10, 10a2, 10a4, 10b, 10d tot en met 10h, 11, 13 en 13f van de Wod besluiten wij de aanvraag toe te kennen.



Meer informatie

Heeft u vragen, kijk dan op www.zbo-ccd.nl. Of neem contact met ons op via telefoonnummer: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut) of per e-mail: ZBO-CCD@minez.nl.

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 nummers in de rechter kantlijn in deze brief.

Het besluit geldt ook tijdens de bezwaarprocedure. 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.

Hoogachtend,

het Bestuur van de Centrale Commissie Dierproeven,

namens ~~de~~ 

Prof. Dr. L. Hellebrekers
Voorzitter van de Centrale Commissie Dierproeven

Dit besluit is genomen met inachtneming van het Besluit mandaat, volmacht en machtiging van de Centrale Commissie Dierproeven CCD 2014 zoals het bestuur van 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:

- Projectvergunning
- Aanvraag
- DEC Advies d.d. 21 januari 2015
- Niet Technische Samenvatting



Projectvergunning

gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: [REDACTED]
Adres: [REDACTED]
Postcode en plaats: [REDACTED]
Deelnemersnummer [REDACTED]

deze projectvergunning voor het tijdvak 5 maart 2015 tot en met 1 mei 2016, voor het project Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen met aanvraagnummer [REDACTED], volgens advies van Dieren experimentencommissie [REDACTED]

De verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

1 Een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 2 februari 2015

2 De bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:

a Projectvoorstel, zoals ontvangen per brief op 2 februari 2015;

b Aangepaste niet-technische samenvatting van het project, zoals ontvangen per e-mail op 20 februari 2015.

c Het DEC advies d.d 21 januari 2015 en kenmerk 15/01114 ontvangen op 11 februari 2015

Naam proef	Diersoort/ Stam	Totaal aantal dieren aangevraagd	Ongerief	Voorwaarden
Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E.coli weerstand in kippen	Kippen / Witte leghorn	810/ project	Ernstig	Zie alinea bijzondere voorwaarden

Bijzondere voorwaarden

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

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarden dat:

- 1) na de pilotstudie in overleg met de IvD de mogelijkheden voor verfijning en vermindering voor het vervollexperiment worden vastgesteld.
- 2) u in overleg met de IvD de feitelijke hoeveelheid dieren per subgroep vast te stellen: uit uw powerberekening komen 94 dieren per subgroep terwijl u voor het experiment 100 dieren per subgroep benoemd.
- 3) uiterlijk 3 maanden na afloop van het project dient aan de CCD te worden gerapporteerd:
 - a. of de doelstellingen van het project werden bereikt;
 - b. de schade die de dieren hebben ondervonden, met inbegrip van de gebruikte aantallen en soorten proefdieren en de ernst van de dierproeven; en
 - c. eventuele elementen die kunnen bijdragen tot het verder in praktijk brengen van artikel 10.



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 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 13c 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 blijven 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 richtlijn artikel 6.

In artikel 13c 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 derde lid 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 waarbij die vallen in de categorie ernstig volgens artikel 10b van de wet en wordt daarom voorzien van retrospectieve toetsing.

11 FEB. 2015



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>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in [REDACTED] ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	[REDACTED]
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]
		KvK-nummer	[REDACTED]
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	[REDACTED]
		Postbus	[REDACTED]
		Postcode en plaats	[REDACTED]
		IBAN	[REDACTED]
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	[REDACTED]
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED] ☒ Dhr. ☐ Mw.
		Functie	Onderzoeker
		Afdeling	[REDACTED]
		Telefoonnummer	[REDACTED]
		E-mailadres	[REDACTED]
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	☐ Dhr. ☐ 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 ☐ Dhr. ☐ 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 4 _ 2 0 1 5
- Einddatum 2 2 _ 0 5 _ 2 0 1 5
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC
- Postadres
- E-mailadres

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 Machtiging
- ☒ 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:

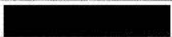
Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

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 

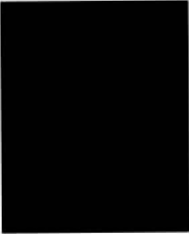
Datum 10 - 02 - 2015

Handtekening 

Geachte [REDACTED]

In de DEC-vergadering van 19 januari jl. is uw proef 'Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen (2014124.b)' opnieuw besproken. De DEC onderschrijft het wetenschappelijke en maatschappelijke belang van de proef, maar heeft nog enkele vragen, waar zij een antwoord op wil alvorens tot een definitieve afweging te kunnen komen (zij verzoekt u de niet-technische samenvatting overeenkomstig aan te passen):

- De DEC verzoekt u bij 1.a. (te beantwoorden vraag) in te gaan op de vraag of u andere, mildere ziektemodellen hebt overwogen en waarom deze zijn verworpen (te denken valt aan toediening van vaccinatievirussen). Deze vraag is al naar aanleiding van de bespreking in december gesteld, maar is in de huidige aanvraag niet/ onvoldoende beantwoord.
- Daarnaast verzoekt zij u uitgebreider toe te lichten, waarom dit model geschikt is voor het beantwoorden van uw onderzoeksvraag, mede met het oog op de vertaalbaardheid van de resultaten naar de praktijk, aangezien E-coli, voor zover bekend een secundaire trigger is, die in de praktijk met name problemen veroorzaakt in combinatie met andere factoren (bijv. vaccinatie, mycoplasma-besmetting, stress).
- In geval een ander ziektemodel niet mogelijk is, verzoekt de DEC u de humane eindpunten scherper te formuleren. De DEC verzoekt u de dieren intensief te monitoren (dag en nacht, elke 2 uur) op het optreden van ziekteverschijnselen en de dieren te euthanaseren zodra ze het beschreven humane eindpunt hebben bereikt.
- Bovendien verzoekt de DEC u uitgebreider te beargumenteren, waarom u sterfte als enige uitleesparameter kiest (bijvoorbeeld bloedwaarden, scoren van het pathologische of histologische beeld, de mate van polyserositis).
- Daarnaast verzoekt de DEC u aan te geven, hoe u op basis van de pilot de gewenste dosering kiest en wat u doet, als de pilot niet het gewenste resultaat oplevert. In dit verband is het de DEC niet duidelijk, wat u bedoelt met "Een pilotexperiment wordt uitgevoerd om in te schatten welke dosis E. coli tot een 30% sterfte vergelijkbaar aan vleeskuikens kan leiden, **danwel aanleiding geeft tot klinische parameters**" (4.c, toelichting aantal dieren).
- Tevens verzoekt de DEC u bij 4.a. (nadere aanduiding gebruikte dieren) eenduidig aan te geven, of u alleen hennen of ook hanen gebruikt, aangezien hierover tegenstrijdige opmerkingen worden gemaakt: bij 4.a. geeft u aan dat u in totaal 600 leghenkuikens nodig hebt, terwijl u bij 6.a. (proefschema) spreekt van 2 mannelijke en 2 vrouwelijke nakomelingen per moederhen. In geval u alleen hennen gebruikt, vraagt de DEC zich af, of u wel voldoende eieren inlegt (uitgaande van de hatchabi-



lity en sekseverhouding, waar u van uitgaat en het feit, dat u 200 hennen per lijn nodig hebt) en zij verzoekt u hier op in te gaan.

- De DEC verzoekt u bij 4.c. de onderbouwing van het aantal benodigde dieren te geven op basis van de powerberekening. Het is de DEC niet duidelijk, waarom er nu 100 dieren per behandelingsgroep nodig zijn, terwijl in de vorige versie sprake was van 50 dieren groep. Daarnaast verzoekt de DEC u te onderbouwen, waarom voor de controlegroepen 100 dieren nodig zijn.

- U geeft bij 5.a. (Accommodatie) aan dat aerogene spreiding van de E.colibacteriën zelden is gerapporteerd. Het is de DEC niet duidelijk, hoe de luchtweginfectie dan wordt veroorzaakt in de praktijk en zij verzoekt u dit bij 1.a. toe te voegen.

- Aangezien er een kans is dat de placebogroep in dezelfde ruimte gehuisvest wordt als de geïnfecteerde groep afhankelijk van de beschikbare ruimte. De DEC vraagt zich af, of het feit, dat dit zelden is gerapporteerd voldoende zekerheid geeft voor het voorkomen van besmetting van de placebogroep.

- Tevens verzoekt de DEC u bij 5.a. aan te geven, hoeveel dieren er in 1 hok worden gehouden.

- Daarnaast verzoekt de DEC u bij 9. (Alternatieven) in te gaan op de mogelijkheden voor verfijning, die zijn overwogen (bijv. mildere methoden) aangezien de tekst daar geen betrekking op heeft.

Tot slot heeft de DEC enkele tekstuele opmerkingen:

- Bij 9. (Alternatieven) staat onder 'vermindering "Uitgaande van 30% sterfte in de placebogroep..."'. De DEC verzoekt u dit toe te lichten of te wijzigen.

- Tenslotte verzoekt zij u zowel het proefplan als de niet-technische samenvatting na te lopen op type- en taalfouten.

Na aanpassing zal de proef zo mogelijk door de kleine commissie worden afgehandeld.

Met vriendelijke groet,



Secretaris Dierexperimentencommissie

Niet-Technische Samenvatting

Titel van het project	Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli-resistentie in kippen Deze aanvraag is onderdeel van het █████-project 'Divergent selection for natural antibodies in poultry'.		
Looptijd van het project	05-05-2015 tot 22-05-2015		
Trefwoorden	Kip, natuurlijke antilichamen, selectie, fokken, ziekteresistentie, E. coli		
Doel van het project (zie art. 1c Wod)	Fundamenteel onderzoek	Ja	Nee
	Translationeel of toegepast onderzoek	Ja	Nee
	Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie	Ja	Nee
	Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier	Ja	Nee
	Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort	Ja	Nee
	Hoger onderwijs of opleiding	Ja	Nee
	Forensisch onderzoek	Ja	Nee
	Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven	Ja	Nee

Wat zijn de doelstellingen van het project?	Kuikens worden via de luchtwegen besmet met darmbacteriën (<i>Escherichia coli</i>). E. coli infecties van de luchtwegen vormen een
--	---

	probleem bij pluimvee. NB: in de darm kunnen deze bacteriën meestal geen kwaad doen. Kippen met veel natuurlijk aangeboren antistoffen in hun bloed worden mogelijk minder ziek van deze besmetting dan kippen met weinig natuurlijke antistoffen in hun bloed.
Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang, waaronder het belang van de gezondheid of voeding van mens of dier?	De vraag wordt beantwoord of het mogelijk is dieren te fokken op de hoeveelheid natuurlijke antistoffen, waardoor ze zelf beter bestand zijn tegen infecties, en daardoor het gebruik van antibiotica in de dierhouderij sterk verminderd kan worden.
Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Luchtweginfecties met <i>E. coli</i> 's zijn vooral een probleem bij kippen en worden met antibiotica bestreden. In een eerste beperkte proef worden 60 normale dieren getest op hun weerstandsreactie tegen verschillende hoeveelheden <i>E. coli</i> 's. In een tweede, grotere proef worden 300 dieren geïnfecteerd met één dosis <i>E. coli</i> 's en 300 met een controle (zoutoplossing)behandeling. Er worden drie typen dieren getest: dieren met veel-, dieren met weinig natuurlijke antistoffen, en 'gewone' kippen. Daardoor kunnen we ook meten of de genetische herkomst van de kippen van belang is.
Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren die geïnfecteerd worden met <i>E. coli</i> 's zullen naar verwachting of direct dood gaan aan een acute bloedvergiftiging, of weerstand bieden en geheel ziektevrij blijven of tijdelijk ziek zijn en herstellen. Dit gaat niet gepaard met pijn of langdurig lijden, maar eventueel lijden van de dieren zal zoveel mogelijk beperkt worden. Alle dieren worden na afloop van de proef (maximaal 7 dagen) gedood en hun weefsels beoordeeld op de aanwezigheid van <i>E. coli</i> 's of ontstekingen.

De drie V's	
1. Vervanging	Kippen zijn gefokt op veel en weinig natuurlijke antistoffen in hun bloed. Om het voordeel of nadeel daarvan te weten, moeten de dieren zelf besmet worden met een ziekteverwekker als <i>E. coli</i>'s. <i>E. coli</i> is vooral op jonge leeftijd van vooral kippen een belangrijke ziekteverwekker, maar die ook op latere leeftijd aanwezig is en bij een verminderde weerstand toe kan slaan. Als dieren gefokt kunnen worden op een hogere weerstand, dan zou dit zeer bij kunnen

	dragen aan verminderd gebruik van medicijnen of antibiotica. Vooral voor kippen, wereldwijd het meest gehouden en meest geconsumeerde landbouwhuisdier, is dit van belang.
2. Vermindering	Voor deze proef worden 2 experimenten uitgevoerd. Eerst bepalen we de hoeveelheid <i>E. coli</i>'s die tot 30% sterfte leidt binnen 7 dagen in 4 groepen van 15 kuikens. Met deze dosis worden vervolgens 3 groepen van 100 kuikens: met hoge, dan wel lage natuurlijke antistofniveaus en de 'normale' lijn getest op hun weerstand. De benodigde aantallen dieren zijn met statistische methoden berekend.
3. Verfijning	Natuurlijke antistoffen lijken erfelijk bepaald. Niet alleen remmen zij infecties, maar voorkomen zij ook ontstekingen en bloedvergiftigingen. Mogelijk zouden zij dus jonge dieren kunnen beschermen tegen een acute bloedvergiftiging of diverse acute en dodelijke ontstekingsreacties in de luchtwegen en andere organen. Het fokken van dieren op hun natuurlijke weerstand kan een goede aanvulling zijn op bijvoorbeeld het gebruik van vaccins of als alternatief voor medicijngebruik. Voor <i>E. coli</i> infecties zijn goede vaccins niet voorhanden, en gestreefd wordt naar vermindering van antibioticagebruik. Het eerste kleinere experiment is ook bedoeld voor vermindering en verfijning van het grotere experiment

Van: [REDACTED]
Verzonden: dinsdag 10 maart 2015 9:11
Aan: ZBO-CCD; [REDACTED]
Onderwerp: RE: Niet-technische samenvatting

Ik zou inderdaad het woord [REDACTED] in de projecttitel laten vallen, voor de overige punten: 3.5 en 4.3 heb ik geen verdere aanvullingen of opmerkingen, Hoogachtend [REDACTED]

From: ZBO-CCD [<mailto:ZBO-CCD@minez.nl>]
Sent: maandag 9 maart 2015 18:30
To: [REDACTED]
Cc: [REDACTED]
Subject: Niet-technische samenvatting

Geachte [REDACTED],

Bij uw aanvraag [REDACTED] getiteld 'Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E.coli weerstand in kippen' heeft u de CCD ook een Niet Technische Samenvatting toegezonden. Voor publicatie heeft de CCD uw tekst in het CCD format gekopieerd. Hierdoor bleek er een klein verschil te zijn tussen het door u aangeleverde format en het CCD waardoor niet alle vragen ingevuld waren.

Waar mogelijk zijn de vragen als suggestie beantwoord met tekst uit het projectvoorstel. Wilt u bij punt 3.5 en punt 4.3 (algemene maatregelen om negatieve gevolgen beperkt te houden) controleren of u het eens bent met deze suggestie of waar nodig aanvullen.

Wilt u daarnaast beslissen of u de referentie naar het [REDACTED] project in de subtitel wilt laten staan omdat dit mogelijk afbreuk doet aan de anonimiteit van de Niet Technische Samenvatting.zb

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.

VRAGENLIJST WIJZIGEN DEC	Naam PDD: [REDACTED] Postadres: [REDACTED] Tel. nr.: [REDACTED] Email: [REDACTED]	Datum: 19-2-2015
---------------------------------	--	---------------------

Vragen te beantwoorden bij wijzigingen van dierproefprotocollen

DEC-nummer: [REDACTED]

Naam artikel 9 functionaris: [REDACTED]

Titel OZP:

Verlenging van de geldigheidsduur van een positief advies van de DEC of een wijziging van de proefopzet kan worden aangevraagd via email waarin de antwoorden op de onderstaande vragen is verwerkt.

1. We ke veranderingen worden aangevraagd in: handelingen, ingrepen, proefopzet, groepsgrootte, tijdsas of uitvoerenden van het project of de studie?

De volgende veranderingen worden aangevraagd:

- 1) De gebruikte ouderdieren voor deelexperiment 2 worden 3 weken langer individueel gehuisvest.
- 2) De gebruikte dieren in deelexperiment 2 bestaat uit zowel hennen als hanen.
- 3) De gebruikte dieren (exclusief ouderdieren) worden na challenge tot 7 dagen aangehouden.
- 4) Een "verklikkergroep" van 15 dieren (5 dieren/lijn) wordt toegevoegd aan deelexperiment 2.

2. Waarom is de wijziging noodzakelijk of wenselijk?

Door fok- [REDACTED] en infectie-experts [REDACTED] en [REDACTED], [REDACTED] zijn enkele aanbevelingen gedaan die het dierwelzijn en de kwaliteit van de dierproef bevorderen:

- 1) Door de ouderdieren een langere rustperiode tussen de twee KI-momenten (fokken van Generatie 4, en fokken van de proefdieren beschreven in deze proef) te geven zal de kwaliteit van de bevruchting verbeteren. Dit is het gevolg van een toename in zaadkwaliteit bij de hanen, die gebaat zijn bij een langere rustperiode.
- 2) Verschil in *E. coli* resistentie tussen sekse is niet waargenomen bij vleeskuikens. Er zijn geen bezwaren in deze proef zowel hennen als hanen te gebruiken. Eventuele sekseverschillen bij legkippen kunnen op deze manier worden ontdekt, en kan relevante informatie geven over de regulatie van het immuunsysteem op jonge leeftijd bij hennen en hanen.
- 3) De eerste mortaliteitspiek als gevolg van acute bloedvergiftiging vindt plaats binnen 24 uur. Geïnfekteerde dieren die niet sterven als gevolg van deze acute reactie, sterven mogelijk als gevolg van een (luchtweg)infectie binnen 7 dagen, of herstellen van de infectie. Om deze laatste twee groepen te onderscheiden is het van belang de dieren tot 7 dagen na challenge te volgen.

VRAGENLIJST WIJZIGEN DEC	Naam PDD: [REDACTED] Postadres: [REDACTED] Tel. nr.: [REDACTED] Email: [REDACTED]	Datum: 19-2-2015
---------------------------------	--	---------------------

4) Een verklikkergroep is noodzakelijk om eventuele natuurlijk aanwezigheid van *Infectieuze bronchitis (IB)* virus in de omgeving te ontdekken. Daarnaast kan deze groep gecontroleerd worden op de aanwezigheid van andere infecties. De groep wordt niet behandeld, wordt apart gehuisvest in de stal en wordt gedood aan het einde van de proef, waarna bloedmonsters naar de GD in Deventer gestuurd worden voor detectie van eventuele infecties.

3. Wat is het gevolg van de wijziging voor het ongerief van de dieren?

- 1) Geen wijziging in ongerief.
- 2) Geen wijziging in ongerief.
- 3) Geen wijziging in ongerief.
- 4) Toevoeging van diergroep met geen(/minimaal) ongerief.

4. Wat zijn de eventuele verdere consequenties en waarom? (Denk aan looptijd proef, aantal dieren, huisvesting)

- 1) Geen aanvullende consequenties.
- 2) Minder broedeieren zijn nodig voor het verkrijgen van het benodigde aantal dieren (~50% afname), echter het surplus aan uitgekomen dieren is geen onderdeel van de aanvraag. Voor de ouderdieren geldt dat twee KI-momenten (van de vijf aangevraagde KI-momenten) overbodig zijn.
- 3) De dieren worden voor langere tijd geobserveerd: De eerste 48 uur worden de dieren om de 2 uur geobserveerd en indien nodig uit de proef genomen. Vanaf dag 2 (na challenge) tot einde proef (dag 7 na challenge) worden de dieren om de 8 uur geobserveerd en indien nodig uit de proef genomen.
- 4) De 15 verklikkerdieren worden verkregen uit het verwachte surplus aan uitgekomen kuikens.

| The Netherlands

Centrale Commissie Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Geachte heer/ mevrouw,

Bij deze bied ik u formeel het projectplan 'Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen (2014124.d)' aan, vergezeld van de niet-technische samenvatting. Dit projectplan is door de DEC [REDACTED] van een positief advies voorzien volgens de procedure die geldt tijdens de overgangssituatie. Het is behandeld tijdens de DEC-vergadering van 15 december j.l. en vervolgens door de aanvrager aangepast conform de voorwaarden, die de DEC heeft gesteld.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten maximaal ernstige ongerief dat de dieren ondergaan en dat de vraag m.b.t. alternatieven voldoende is beantwoord. De DEC heeft geen overige opmerkingen die relevant zijn voor de ethische afweging.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]
Gemandateerd vergunninghouder

Bijlagen: Mandaat Vergunninghouder
Projectplan 2014124
Niet-technische samenvatting

Niet-Technische Samenvatting

Titel van het project	Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli-resistentie in kippen Deze aanvraag is onderdeel van het [REDACTED] project 'Divergent selection for natural antibodies in poultry'.		
Looptijd van het project	05-05-2015 tot 22-05-2015		
Trefwoorden	Kip, natuurlijke antilichamen, selectie, fokken, ziekteresistentie, E. coli		
Doel van het project (zie art. 1c Wod)	Fundamenteel onderzoek	Ja	Nee
	Translationeel of toegepast onderzoek	Ja	Nee
	Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie	Ja	Nee
	Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier	Ja	Nee
	Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort	Ja	Nee
	Hoger onderwijs of opleiding	Ja	Nee
	Forensisch onderzoek	Ja	Nee

	Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven ¹	Ja	Nee
--	---	----	-----

Wat zijn de doelstellingen van het project?	In het kader van een project wordt onderzocht of kippen divergent geselecteerd kunnen worden op natuurlijke-antilichaamniveaus (NAb) tegen het modelantigeen keyhole limpet hemocyanine (KLH), en wat de consequenties van deze selectie zijn voor ziekteresistentie en immunologische en fysiologische eigenschappen. Het doel van dit experiment is om te bepalen of selectie voor Nab-niveaus effect heeft op weerstand van de kippen lijnen. Gekozen is voor een <i>Escherichia coli</i>-infectie. E. coli-infecties van de luchtwegen vormen een probleem bij pluimvee. Dit experiment is een <i>proof-of-principle</i> waarin we willen aantonen dat de genetische selectie van invloed is op weerstand tegen E. coli. In een eerder experiment werd al aangetoond dat de selectielijnen verschillend immunologisch reageren op verschillende modelantigenen. Dit experiment wordt in nauwe samenwerking uitgevoerd met een expert van de Faculteit Diergeneeskunde, die grote ervaring heeft met E. coli-luchtweg-infecties bij vleeskuikens. De oorspronkelijke ouderlijn van waaruit de selectielijnen gefokt zijn wordt ook getest om te schatten of de divergente selectie tot hogere of lagere weerstand heeft geleid t.o.v. de ouderlijn.
Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang, waaronder het belang van de gezondheid of voeding van mens of dier?	Verwacht wordt dat een verschil in weerstand tegen E. coli wordt gevonden tussen de twee lijnen (hoge en lage Nab-niveaus). Dan kan worden overwogen om Nab-niveaus (en geassocieerde genen) op te nemen in de selectieprocedure bij de commerciële pluimveefokkerij. Daarnaast kan ook de fokkerij van andere diersoorten profiteren van de opgedane kennis van selectie op NAb. Daarmee kan ook het antibioticagebruik in de sector worden teruggedrongen, indien NAb de verwachte beschermende werking blijken te hebben.
Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen	Voor dit experiment worden leghennen gebruikt, die gefokt worden uit twee lijnen, geselecteerd voor hoge en lage Nab-niveaus. Na een pilotstudie met 60 dieren, worden naar verwachting en in overleg

¹ Dit is een dierproef in de zin der wet indien sprake is van ongerief als gevolg van de genetische modificatie. Met 'niet gebruikt in andere proeven' wordt bedoeld dat het gebruikte dier maar een keer als dierproef telt en het gebruik in een experiment niet wordt opgevat als hergebruik.

worden gebruikt?	met de plaatselijke IvD 300 dieren geïnfecteerd met een E. coli-infectie (en 300 met een controle (sham)behandeling); 400 dieren van het 2 ^e experiment worden verkregen uit eigen fok van 150 geselecteerde ouderdieren van de hoge en lage lijnen; 200 ouderlijndieren worden verkregen van de fokkerijorganisatie. Het gebruik van geselecteerde en getypeerde dieren biedt de mogelijkheid genetische effecten op de weerstand tegen E. coli te bepalen.
Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? ² Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst? ³ Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De uitgebroede dieren: Alle dieren krijgen een vleugelmerk bij uitkomst. Alle dieren worden gehanteerd, gefixeerd, gesekst en geïnfecteerd (E.coli danwel zoutoplossing). De dieren worden verdeeld over 4 behandelingen: Behandeling 1: Geïnfecteerd met fysiologische zoutoplossing als placebo --> Gering ongerief, geen extra ongerief als gevolg van behandeling. Behandeling 2: Geïnfecteerd met 1:100 verdunde E. colicultuur (10^7 CFU/ml) --> Ernstig ongerief als gevolg van E. coli-infectie voor een klein deel van de dieren (naar verwachting). Behandeling 3: Geïnfecteerd met 1:10 verdunde E. colicultuur (10^8 CFU/ml) --> Ernstig ongerief als gevolg van E. coli infectie voor een deel van de dieren (naar verwachting). Behandeling 4: Geïnfecteerd met onverdunde E. colicultuur (10^9 CFU/ml) --> Ernstig ongerief als gevolg van E. coli-infectie voor een groot deel van de dieren (naar verwachting). NB: mortaliteit als gevolg van E. coli-infectie treedt doorgaans zeer snel op (binnen 24 uur), echter indien lagere doses E. coli niet tot acute sterfte lijden zouden lagere E. colidoses theoretisch tot een ernstiger lijden kunnen leiden dan een hoge dosis. Het lijden van dieren is daardoor beperkt tot een zeer korte periode. Het experiment wordt begeleid door een ervaren pluimveedierenarts en staat onder directe toezicht van de aanwezige proefdierdeskundige. Geselecteerde vaderdieren: Individuele huisvesting voor 5 weken. 4

² Geef een omschrijving van de negatieve gevolgen die de proefdieren als gevolg van de dierproeven in dit project zullen ondervinden.

³ De indeling naar ernst zoals bedoeld in artikel 10b, eerste lid, van de Wet op de dierproeven. Toelichting op de indeling naar ernst van procedures is te vinden in Bijlage VIII van richtlijn 2010/63/EU.

	maal sperma verzamelen voor KI. --> Gering ongerief Geselecteerde moederdieren: Individuele huisvesting voor 5 weken. 4 maal sperma aanbrengen voor KI. 1 maal bloedafname (1.0 ml). --> Gering/matig ongerief Surplus aan kuikens als gevolg van fok en niet te gebruiken sekse: Gedood direct na uitkomst --> Gering ongerief De geselecteerde ouderdieren worden na uitkomst van de nakomelingen gedood door middel van cervicale dislocatie. Uitleesparameters in de behandelde kuikens in zowel experimenten 1 als 2 zijn a. de uitval van de dieren als gevolg van E. coli-infectie binnen 48 uur, en b. histologie en door de dierenarts te scoren pathologische en anatomische parameters: fibrinedeposities op de luchtzakken, orgaangroottes: lever en milt; c. Serologie, en d. DNA-analyse. Ingeval opvallend sterk lijden van de dieren (i.e. het niet meer in staat zijn om zelfstandig voedsel of water tot zich te nemen, verlamingsverschijnselen of ademhalingsmoeilijkheden en gesloten ogen als humaan eindpunt zullen deze in overleg met de dierenarts en de proefdierdeskundige uit de proef worden genomen. Alle niet-uitgevallen dieren worden gedood na afloop van de proef (i.e. 48 uur na het infecteren) en zoals boven beschreven geanalyseerd.
--	--

De drie V's	
1. Vervanging	Aangezien het doel van het project is het verbeteren van de gezondheidsstatus van pluimvee middels de productie van antistoffen op basis van genetische selectie, is een invitrobepaling geen bruikbare optie Pathogeen: 1. E. coli is in principe op jonge leeftijd van (vlees)kuikens een primair pathogeen, maar op latere leeftijd t.g.v. waarschijnlijk huisvesting en management wel een altijd aanwezige opportunist die toeslaat als de weerstand om de een of andere reden verminderd is. Lagere Nab-niveaus kunnen mogelijk een lagere

	weerstand illustreren. 2. NABs zullen waarschijnlijk niet direct veel bijdragen aan weerstand tegen hoog pathogene (Lijst A-)ziekten. Dergelijke, met name virale ziektes worden bestreden en beheersbaar gehouden door vaccinaties of eradicatie. Juist het weerstand kunnen bieden aan altijd aanwezige opportunisten (en 'huis-, tuin- en keukeninfecties') is het belang van natuurlijke antistoffen. 3. Een E. colistam waarmee gericht gecontroleerde infectie-experimenten bij (vlees)pluimvee zijn uitgevoerd is aanwezig en parameters voor gevoeligheid (met name acute sterfte) zijn beschikbaar. Het diermodel: Pluimvee is een ideaal model voor het fokken op weerstand, vanwege het relatief korte generatie-interval, de vele verschillende lijnen, en de kennis van het immuunsysteem. Daarnaast is pluimvee wereldwijd het meest geconsumeerde voedseldier en ook het meest verspreid m.b.t. locaties en omgeving. Selectie op een algemene immunologische parameter en een effect daarvan op weerstand tegen algemeen voorkomende opportunisten zou een bijdrage kunnen leveren aan het verminderen van medicatie en antibioticagebruik. Indien succesvol zou een genetische strategie ook voor andere diersoorten in beeld kunnen komen.
2. Vermindering	Voor deze proef worden 2 experimenten uitgevoerd. In het eerste experiment wordt met een beperkt aantal dieren (15 stuks per behandeling) een dosis gezocht die aanleiding zou kunnen geven tot het praktijkrelevante sterftepercentage van 30%, zoals gemeten bij vleeskuikens. Voor de pilot worden dieren van WL-achtergrond aangekocht, omdat het logistiek in de proefaccommodatie niet mogelijk is zelf een apart legsel voor alleen de pilot te organiseren. De selectielijnen zijn van een WL-achtergrond. Deze pilot dient om een optimale E. colidososis voor experiment 2 te bepalen en kan eventueel gebruikt worden om variatie in responsen te schatten. Voor Experiment 2 is het uitgangspunt dat de acute sterfte tussen de lijnen met 50% wordt verminderd door een lijneffect. Uitgaande van 30% sterfte in de geïnfecteerde groep zijn dan volgens een Poweranalyse 100 dieren per groep nodig.
3. Verfijning	E. coli-infecties vormen een probleem bij vleeskuikens, maar het probleem is groeiend bij legpluimvee. NAB leveren waarschijnlijk

	een belangrijke (a-)specifieke bijdrage aan de weerstand tegen bacteriën. De gevolgen van een E. coli-infectie bij vleeskuikens zijn divers: klinische eigenschappen zijn echter niet E. coli-specifiek, variëren met de leeftijd, zijn afhankelijk van de betrokken organen en zijn ook afhankelijk van eventueel gelijktijdig optredende andere ziektes. Jonge dieren sterven waarschijnlijk aan een acute bloedvergiftiging of diverse acute ontstekingsreacties in de luchtwegen, milt, lever en hart. Sterfte t.g.v. bloedvergiftiging lijkt vooralsnog de best interpreteerbare uitleesparameter. Naar ons beste weten zijn er voor E. coli-infecties geen mildere modellen voorhanden, E. colivaccins zijn niet goed ontwikkeld. Bovendien zou een E. colivaccinatie, indien al mogelijk, lastig te onderscheiden zijn van het natuurlijk aanwezige niveau van E. coli. Dit E. coli-infectiemodel berust op een bij vleeskuikens uitgetest model met een specifieke E. colistam verantwoordelijk voor problemen bij pluimvee. Het pilotexperiment kan mogelijkheden voor verfijning en vermindering opleveren voor experiment 2.
--	--

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:

Afdeling:

Titel dierproef: Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen**Aanmeldcode / Protocol:** 2014124.d**Stadia van de proef:**

28-01-2015

Aangemeld

30-01-2015

Positief advies na behandeling DEC

Secretaris van de DEC

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting: project is door [redacted] goedgekeurd en gefinancierd voor een looptijd van 6 jaar. Het project (4160105400) is eerder ter kennisgeving aan de DEC toegestuurd. Zie voor de DEC aanvragen van de generaties: protocol 2012084.d, 2013075.d, 2014048.b en 2014081.b.

De opzet van dit experiment is gebaseerd op eerdere infectie-experimenten binnen de [redacted] protocol 2009042.e), alsmede op eerdere experimenten aan [redacted]

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

In 2013 is gestart met een [redacted] project, waarbij kippen divergent geselecteerd worden op hoog dan wel laag niveau van natuurlijke antilichamen (natural antibodies (NAb)) gericht tegen het antigeen keyhole limpet hemocyanin (KLH) op 16 weken leeftijd (zie [redacted] projectvoorstel en protocol 2012084.d, 2013075.d, 2014048.b en 2014081.b). In een eerder experiment zagen we dat na twee selectiemomenten (generatie 2) de twee lijnen immunologisch verschilden in hun reactie tegen verschillende modelantigenen. Nu willen we onderzoeken of na vier selectiemomenten (generatie 4) de lijnen ook daadwerkelijk een andere weerstand hebben tegen een pathogeen. Gekozen is voor een Escherichia coli-infectie in de luchtwegen om de volgende 4 redenen:

1. E. coli infecties in de luchtwegen zijn een groot probleem in de pluimveesector, met name voor vleeskuikens, maar ook in toenemende mate bij legpluimvee.

2. De beschikbaarheid en bereidwilligheid van een expert op E. coli-luchtweginfecties bij pluimvee [redacted]

3. Met virussen, zijnde vaccin- of veldvirussen die wij experimenteel mogen gebruiken, is geen pathologie op te wekken. Vaccinvirussen zijn erg mild, en immuunreacties tegen vaccinvirussen zijn onderdeel van de vraagstelling van het project.

4. Bovendien willen we graag kijken wat de impact is van een bacteriële infectie op legkippen. Dit omdat door de reductie van antibiotica in de dierhouderij wij willen onderzoeken of er geselecteerd kan worden op meer resistentie tegen onder meer bacteriële aandoeningen. Wij gebruiken dit E. coli model omdat dit model uitvoerig is getest en beschreven bij vleeskuikens [redacted] Graag willen we nagaan of dit model ook kan gebruikt worden bij leghennen.

Natuurlijke antilichamen worden verondersteld te functioneren als een 'first line of defense' tegen virale en bacteriële infecties. Door hun relatief hoge en continue aanwezigheid en hun aspecificiteit (d.w.z. NABs kunnen vaak meerdere verschillende niet-gerelateerde antigenen binden) remmen ze als het ware de entree van infectieuze agens en bieden daarom tijd voor een ontwikkeling van het meer specifieke immuunsysteem. Daarnaast kunnen NABs de pool vormen van waaruit specifieke antilichamen tijdens de infectie gerekruteerd worden. Een 'tekort' of gebrek aan NABs is ook gerelateerd aan een hogere kans op ontstekingsreacties, omdat NABs verbindingen die ontsteking kunnen veroorzaken (endotoxines, of celafvalproducten) kunnen wegvangen. Eerder door ons uitgevoerd onderzoek suggereerde dat hogere NAB niveaus bij legpluimveelijnen gepaard gaan met een hogere overlevingskans van de legperiode. In deze proef willen we het effect van een hoger dan wel lager niveau van NABs

(gericht tegen KLH) meten middels de twee selectielijnen die gekenmerkt worden door een onderling verschil in NAb niveaus. De hypothese is dat de Hoge NAb lijn minder gevoelig zal zijn voor een *E. coli* infectie in de luchtwegen dan de Lage NAb lijn, mogelijk omdat NAb de penetratie of aanhechting van *E. coli*'s in de luchtzakken hinderen, de spreiding van *E. coli*'s in het lichaam van de kip hinderen, de vorming van polyserositis in de luchtzakken verminderen, dan wel endotoxines als LPS wegvangen. In eerste instantie is dit een 'proof of principle' dat NAb niveaus gerelateerd kunnen zijn aan weerstand tegen infecties. De leeftijd dat de kuikens gechallenged worden maakt het aannemelijk dat maternale immuniteit (waarschijnlijk antistoffen) in hoge mate bepalend zullen zijn voor een eventueel verschil in weerstand tegen *E. coli*.

E. coli gerelateerde sterfte percentages in de praktijk van vleeskuikens van 30% komen voor. *E. coli* is voor vleeskuikens tot 2 weken leeftijd een primair pathogeen. Na de leeftijd van 2 weken zijn andere triggers nodig om een *E. coli* infectie te laten aanslaan. Dit is het geval voor vleeskuikens. Omdat in vleeskuikens recentelijk is vastgesteld dat er een genetische basis blijkt te zijn voor de gevoeligheid voor *E. coli*, wordt ook dit model van vleeskuikens getoetst bij leghennen. Indien dit model ook zou werken bij leghennen zou dat immens veel mogelijkheden bieden voor het onderzoeken naar de effectiviteit van selectie op weerstand en andere toepassingen. Het is dus nog niet bekend of ook bij legpluimveekuilens *E. coli* problematiek op kan treden, en of een verschil in NAb niveau tussen kippen een wezenlijk verschil voor de weerstand van de kuikens uit zal maken. Daarom zullen twee experimenten worden uitgevoerd:

In experiment 1 (een pilot experiment) zullen drie doses van *E. coli* worden uitgetest op een beperkt aantal dieren per behandeling (15 aangekochte Witte leghorn hennetjes). Uit deze gegevens zullen in experiment 2 100 hennen van de hoge NAb lijn, 100 hennen van de lage NAb lijn en 100 hennen van de oorspronkelijke ouderlijn met 1 dosis *E. coli* via de luchtwegen worden geïnfecteerd, naast dezelfde aantallen hennen die met een sham infectie (zoutoplossing) worden behandeld. De dieren van de oorspronkelijke ouderlijn worden meegenomen om na te gaan of selectie op NAb's tegen KLH tot een verbetering dan wel verslechtering van de weerstand t.o.v. de oorspronkelijke ouderlijn heeft geleid.

1.b. Het uiteindelijk doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

Naast specifieke antilichamen gericht tegen een specifiek antigeen (t.g.v. immunisatie, vaccinatie, infectie) beschikken dieren over zogenaamde natuurlijke antistoffen (NAb): dit zijn immuunglobulinen die gericht zijn tegen antigenen waar het dier nooit eerder mee in contact is geweest (of zal komen). Ondanks discussies is het aannemelijk dat NAb's identiek zouden kunnen zijn aan het basisniveau aan antistoffen tgv continue, willekeurige vorming van nieuwe B cellen. NAb's kunnen dan dus ook representatief zijn voor het B-celrepertoire van een individu. Voor de kip (evenals alle tot nu toe geteste diersoorten) zijn grote hoeveelheden NAb's gericht tegen Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) aangetoond. Anti-KLH NAb's zijn bij legkippen goed meetbaar vanaf 16 weken leeftijd. Eerdere (AIO-)onderzoeken binnen de Leerstoelgroepen [] en [] hebben aangetoond dat:

- NAb niveaus tegen KLH op 16 weken erfelijk zijn ($h^2=0.12$).
- Kippen met een hoog niveau aan NAb's tegen KLH een hogere overleving tijdens de legperiode vertonen, gepaard met een verhoogde mate van immuunreactiviteit. (Dit kan worden verklaard door de belangrijke functies die NAb hebben binnen het immuunsysteem.)
- Er genetische verbanden zijn tussen het niveau van NAb en genen die coderen voor andere belangrijke immuuncomponenten
- De hoge en lage lijn geselecteerde hennen na twee selectiemomenten al immunologisch verschillend reageren op antigenen, waarbij de resultaten suggereren dat de hoge lijn een hogere algemene innate bescherming heeft dan de lage lijn.

Deze resultaten geven aanleiding om te testen of de hoge en lage lijn ook daadwerkelijk verschillen in bescherming tegen een pathogeen, waarbij gekozen is voor een *E. coli*-infectie (zie 1.a.). Hogere weerstand van één van de lijnen (naar verwachting de hoge NAb lijn) zou in belangrijke mate kunnen bijdragen aan verminderd antibioticagebruik, omdat de natuurlijke weerstand van het dier beter ten nutte komt, en NAb niveaus geïncorporeerd kunnen worden in de fokkerij.

1.c. Lekensamenvatting:

Zie NTS

Zie NTS

2. Gepland vanaf: 05-05-2015 tot 22-05-2015

3. Specificatie diergroepen:

1	100	kippen	shaminfectie hoge lijn (behandeld met 0.2 ml fysiologische zoutoplossing)
2	100	kippen	shaminfectie lage lijn (behandeld met 0.2 ml fysiologische zoutoplossing)
3	100	kippen	<i>E. coli</i> infectie hoge lijn in 0.2 ml zoutoplossing
4	100	kippen	<i>E. coli</i> infectie lage lijn in 0.2 ml zoutoplossing
5	100	kippen	shaminfectie controle lijn (behandeld met 0.2 ml fysiologische

zoutoplossing)

6	100	kippen	E. coli infectie controle lijn in 0.2 ml zoutoplossing
7	15	kippen	pilotinfectie E. coli 1:100 verdunde E. coli cultuur
8	15	kippen	pilotinfectie E. coli 1:10 verdunde E. coli cultuur
9	15	kippen	pilotinfectie E. coli onverdunde coli cultuur
10	15	kippen	pilotinfectie sham (0.2 ml fysiologische zoutoplossing)
11	50	kippen	Geselecteerde vaderdieren van generatie 3
12	100	kippen	Geselecteerde moederdieren van generatie 3

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Voor het pilot experiment 1 zijn 60 aangekochte WL leghennetjes nodig, voor Experiment 2 in totaal 600 leghennetjes van 3 verschillende lijnen, waarvan 400 in eigen beheer worden gefokt en 200 worden verkregen van ISA. Voor de 400 in eigen beheer gefokte hennetjes zijn 50 hanen en 100 hennen als ouderdieren nodig. De eieren van de ouderlijn van [] worden wel samen met de eigen eieren uitgebroed op [] in principe worden alleen henkuikens gebruikt. Voor een eerder experiment met vleeskuikens zijn evenveel hennen als hanen gebruikt per groep en geen verschil in sterfte en pathologie gevonden. Maar of dit ook voor leghennen geldt is onbekend. Immunologisch is ook van pluimvee vastgesteld dat er sexe verschillen optreden bij vele afweereacties inclusief het niveau van natuurlijke antistoffen, dat meestal hoger is in hennen dan in hanen.

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

De dieren zijn afkomstig uit twee lijnen geselecteerd voor hoge of lage niveaus van natuurlijke antilichamen, of uit de controle [] ouderlijn. Om het effect van deze natuurlijke antilichamen te testen op weerstand, is gekozen voor deze drie lijnen. Er zijn bij ons geen andere selectie-experimenten bekend waarbij een diersoort wordt geselecteerd op natuurlijke antilichamen. Bovendien is van de hoge en lage lijnen bekend dat zij in eerdere fase van de selectie al verschilden in immuunrespons tegen specifieke antigenen (zie protocol 2014012.c).

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Voor het fokken van de benodigde dieren zijn de 150 geselecteerde ouderdieren (50 hanen, 100 hennen) van generatie 3 vereist. De 200 controle lijn-dieren zijn dieren uit de [] lijn en worden verkregen van []. Per behandeling zijn 100 dieren per lijn nodig. Dit aantal is vereist op basis van eerdere experimenten uitgevoerd [] (aan vleeskuikens van dezelfde leeftijd), waarbij een hoge variatie werd gezien in uitleesparameters omdat in dergelijke experimenten een levend pathogeen wordt gebruikt. De controle [] lijn wordt bestudeerd, omdat dan een goede inschatting gemaakt kan worden of de effecten van divergente selectie omhoog dan wel omlaag zijn opgetreden.

Bij vleeskuikens is dit een werkend model in handen van de []. Indien dit model ook zou werken bij leghennen, kan het van waarde zijn voor gezondheidsonderzoek bij legpluimvee. Vandaar dat we in eerste instantie willen nagaan of dit model ook bruikbaar is bij leghennen. Uit onderzoek van de 70' er jaren (Goren en van Eck, UU) is gebleken dat leghennen minder gevoelig kunnen zijn voor E. coli infecties dan vleeskuikens. Na die tijd hebben wij geen resultaten van dergelijk onderzoek kunnen vinden. Van vleeskuikens weten we dat indien de dosis E. coli te laag is, de spreiding in reactiviteit of gevoeligheid van de dieren te groot wordt, en significante verschillen tussen groepen moeilijk zijn aan te tonen.

Om een correct analyse van de selectielijnen op weerstand tegen E. coli te kunnen uitvoeren willen we eerst met 60 dieren een pilot uitvoeren (experiment 1), en wel met de dosis die gegeven wordt bij vleeskuikens, respectievelijk een log meer (10x meer), en een log minder (10x minder). In deze pilot willen we uitzoeken met welke dosis we ongeveer 30% sterfte op kunnen wekken. Onze verwachting is, dat bij 30% sterfte onder controle dieren relevante verschillen tussen de selectielijnen aangetoond kunnen worden. Een beperkt aantal kuikens, zal commercieel worden aangekocht, om in te schatten welke dosis E. coli tot een 30% sterfte vergelijkbaar aan vleeskuikens kan leiden, dan wel aanleiding geeft tot klinische (histopathologische) parameters. Voor Experiment 2 is het uitgangspunt dat de acute sterfte tussen de lijnen met 50% wordt verminderd door een lijneffect. Uitgaande van 30% sterfte in de controle zijn volgens de binomiale verdeling 94 dieren per groep nodig (eenzijdig getoetst) om een daling van de sterfte met 50%, dus tot 15% significant aan te tonen. (Met een betrouwbaarheid van 95% en een onderscheidend vermogen van 80%).

De infectie uit te voeren in Experiment 2 zal naar verwachting 100 henkuikens per lijn vereisen (na overleg met de IvD en mede afhankelijk van het pilotexperiment kunnen de aantallen nog veranderen). De sham infectie vergt ook 100 hennen per lijn, omdat in dit experiment 2 de henkuikens afkomstig zijn van specifieke genetisch getypeerde moederdieren (dus een bepaalde genetische achtergrond hebben), en we hetzelfde overeenkomstige genetische 'materiaal' in dezelfde verhouding dan ook graag in de sham (controle) groep vertegenwoordigd willen zien.

4.d. Herkomst:

- 1 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 2 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 3 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 4 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

- 5 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 6 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 7 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 8 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 9 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 10 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 11 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 12 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

Experiment 1 (pilot experiment): 60 eendagskuikens van Witte leghorn achtergrond zullen commercieel van een broederij dan wel van [REDACTED] worden verkregen in overleg met de Proefaccommodatie [REDACTED]

Experiment 2: De hoge en lage lijn dieren zijn afkomstig uit het selectie-experiment dat op [REDACTED] wordt uitgevoerd. De geselecteerde ouderdieren uit generatie 3 worden hergebruikt voor het fokken van de benodigde dieren. De 200 controle lijn-dieren zijn dieren van de elite [REDACTED] lijn, verkregen van [REDACTED] toegezegd).

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De geselecteerde ouderdieren uit generatie 3 worden individueel gehuisvest voor 5 weken na afloop van de selectieprocedure voor generatie 4 (zie protocol 2014048.b).

Na uitkomst worden de gefokte hoge en lage lijn hennen en de controle ouderlijndieren (Experiment 2) gehuisvest in groepshuisvesting op strooisel in hokken. Ook de aangekochte WL eendagskuikens (Experiment 1) worden gehuisvest in groepshuisvesting op strooisel in hokken. De niet gebruikte eendags haantjes zullen direct worden gedood.

Alle dieren worden bij voorkeur samen gehuisvest in één stal (op basis van beschikbare ruimte), maar in verschillende hokken, zodat besmetting van de placebogroep niet op zal treden. Uit eerdere onderzoeken met vleeskuikens is gebleken dat niet met deze *E. coli* geïnoculeerde dieren zittend in dezelfde afdeling niet door wel-geïnoculeerde dieren worden besmet. Aerogene spreiding van deze bacteriën is zelden gerapporteerd. *E. coli* is ook een aerogene besmetting in de conventionele vleeskuikenhouderij. Echter dan dient de *E. coli* concentratie in de stallucht erg hoog te zijn, bijv. in geval van slechte ventilatie en een hoge luchtvochtigheid (vaker in de winterperiode). *E. coli* kan echter nog op tal van andere manieren het kuiken infecteren: via de navel, via de huid en via de cloaca. Infecties treden ook op door het pikken in de grond (*E. coli* in mest deeltjes). De proef duurt maximaal 48 uur; dit is te kort om via mest-laars contact van het ene in het andere hok te komen als de hokken in gescheiden ruimtes staan of als er ruimte tussen de hokken is. Desalniettemin worden laarzen gewisseld bij het betreden van het hok. *E. coli* infecties zijn in tientallen eerdere experimenten uitgevoerd met vleeskuikens nog nooit op de placebogroep overgeslagen. Voor overleving van *E. coli* in grote aantallen in de stallucht moeten veel andere factoren aanwezig zijn zoals slechte ventilatie, nat strooisel, hoge luchtvochtigheid. Dergelijke omstandigheden treden niet op in onze proefaccommodatie [REDACTED]

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De geselecteerde ouderdieren uit generatie 3 worden gehouden conform het normale management van de selectieprocedure voor generatie 4 (zie protocol 2014048.b).

De gefokte en de aangekochte kuikens worden gehouden conform het normale management van jonge legpluimvee, met de uitzondering dat de dieren niet gevaccineerd worden. Het vaccineren van deze dieren beïnvloedt de resultaten van de proef.

Voor experiment 1, zullen 15 hennetjes per dosisbehandeling op grondhuisvesting gehouden worden. Voor experiment 2 zullen minimaal 2 hokken met maximaal 300 hennen (grondhuisvesting) in één ruimte gebruikt worden (afhankelijk van de beschikbare ruimte), om redenen eerder beargumenteerd. Lijnen zullen niet gescheiden worden gehouden.

5.c. Voeding:

De geselecteerde ouderdieren uit generatie 3 worden gevoerd met legkorrel. De leghennen krijgen tevens extra grit om kalktekorten te voorkomen (zie protocol 2014048.b).

De gefokte en aangekochte kuikens worden gevoerd met opfokkorrel 1, conform de opfok van jong legpluimvee.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Experiment 1 (pilot experiment):

Vier groepen van 15 hennen worden volgens 4 behandelingen getest: PBS als sham/placebo-infectie (0.2 ml):

Groep 10; 1:100 verdunde *E. coli* cultuur in PBS (0.2 ml) Groep 7; 1:10 verdunde *E. coli* cultuur in PBS (0.2 ml),

Groep 8; en onverdunde *E. coli* cultuur in PBS (0.2 ml) (Groep 9). De *E. coli* cultuur (10^9 CFU/ml) is *Escherichia coli* serotype O78K80 (*E. coli* strain 506) en wordt geleverd door de [REDACTED]. De levende *E. coli* stam is geïsoleerd uit een kip die in de praktijk gestorven is aan polyserositis. Dit type komt in de pluimveehouderij het meeste voor en behoort tot de Avian pathogenic *E. coli* variant (APEC). Echter een *E. coli* infectie is nog niet eerder door ons uitgevoerd in legpluimvee. Daarom is gekozen voor 3 verschillende concentraties *E. coli*. In vleeskuikens wordt normaliter 0.3 ml 1:10 *E. coli* cultuur gegeven. Dit is dan ook onze uitgangssituatie. Op 13 dagen leeftijd worden de dieren intratracheaal geïnfecteerd met één van de behandelingen. De dieren worden 48 uur gemonitord en uitval wordt genoteerd. Na 48 uur worden alle niet-uitgevallen dieren gedood door middel van cervicale dislocatie. Van alle dieren wordt post-mortem bloed afgenomen voor additionele bloedbepalingen (antilichaambepaling). Tevens worden de dieren gewogen, en geopend om de luchtzakken te scoren op *E. coli* infectie (histologie en macroscopische fibrine neerslag), en worden lever en milt gewogen.

Experiment 2:

1500 (1000 eigen fok, en 500 aankoop van ISA) eieren worden uitgebroed te [REDACTED]. Dit aantal is gebaseerd op het benodigde aantal hennetjes voor de behandelingsgroepen: in totaal 100 hennen per lijn per behandeling. Een sekseverhouding van 50:50 is normaal. Daaruit volgt dat ongeveer $(200/.5=)$ 400 eieren nodig zijn per lijn, dus 1200 totaal. Een hatchability van 80% is normaal voor het uitbroeden van eieren. Dit resulteert in $(1200/.8=)$ 1500 eieren. Met andere woorden met minmaal 10 dagen eieren rapen, maar voor alle zekerheid zullen we gedurende 14 dagen rapen omdat 100% leg gedurende 10 dagen niet waarschijnlijk is) bij 100 hennen (hoge en lage lijn) levert 1000 eieren en daarnaast 500 eieren voor de controle lijn verkregen van [REDACTED]. In het geval van 100% hatchability zullen maximaal 900 (750 haantjes en 150 hennetjes) dieren direct na uitkomst worden gedood door middel van CO₂-verstikking.

De uitgekomen dieren ontvangen een kuikenmerk en worden gesekst. Haantjes worden door CO₂ gedood. De dieren ontvangen geen vaccinaties gedurende de proef, omdat vaccinaties de resultaten beïnvloeden.

De gefokte (hoge en lage lijn) dieren worden verkregen uit de geselecteerde ouderdieren uit generatie 3 (zie protocol 2014048.b). Deze dieren (50 hanen (Groep 11) en 100 hennen (Groep 12)) worden na afloop van het fokken van generatie 4 nog 5 weken extra individueel gehuisvest tot uitkomst van de benodigde dieren voor de behandelingsgroepen. Individuele huisvesting is van belang, omdat de gefokte dieren zo goed mogelijk generatie 4 van het selectie-experiment moet benaderen. Voor het verkrijgen van de selectielijn nakomelingen wordt dus ook vastgehouden aan het opgestelde kruisingsschema voor het fokken van generatie 4. Hierdoor wordt voorkomen dat een bepaalde haan of hen een grotere dan wel kleinere bijdrage levert aan de nakomelingen t.o.v. generatie 4. Hierdoor is dit infectie-experiment representatief voor generatie 4 uit het selectie-experiment. Tevens stelt ons dit in staat om genetische parameters te gebruiken bij het analyseren van de resultaten. De geselecteerde ouderdieren worden na uitkomst gedood door middel van cervicale dislocatie.

N.a.v. de resultaten van Experiment 1 worden twee behandelingen getest: PBS als sham/placebo-infectie (0.2 ml) (Groepen 1, 2, en 5), en een behandeling met een *E. coli* dosis in PBS (0.2 ml) (Groepen 3, 4, en 6). We willen 100 hennen per lijn per dosis gebruiken gebaseerd op de eerder waargenomen spreiding bij vleeskuikens (zie 4.c.). Als het model niet blijkt te werken met 100 dieren (geen histopathologie of sterfte) dan kan mogelijk worden geconcludeerd dat dit infectie model met *E. coli* alleen werkt bij vleeskuikens.

Op 13 dagen leeftijd worden de dieren intratracheaal geïnfecteerd met één van de behandelingen. Naar verwachting zullen net als in Experiment 1 de dieren 48 uur worden gemonitord en uitval wordt genoteerd. Na 48 uur worden alle niet-uitgevallen dieren gedood door middel van cervicale dislocatie. Van alle dieren wordt gewicht bepaald en post-mortem bloed afgenomen voor additionele bloedbepalingen (bepaling van bijvoorbeeld niveau natuurlijke antilichamen tegen KLH, antilichamen gericht tegen *E. coli* antigeen, acute fase eiwitten). Daarnaast worden de dieren geopend om de luchtzakken te scoren op *E. coli* infectie (polyserositis) en worden lever en milt gewogen. Op jonge leeftijd (13 dagen) is het aannemelijk dat de bescherming van de dieren tegen een *E. coli* infectie voor een groot deel mede bepaald wordt door de maternale antilichamen die via de moeder zijn doorgegeven. Om dit te bepalen is het noodzakelijk bloed (1 ml) af te nemen bij de moederdieren voor aanvang van de raaperperiode (en worden de op dat moment in het ei aanwezige maternale antilichamen in het ei gemeten).

De dieren zullen na infectie gedurende 24 uur intensief worden geobserveerd. Deze vraag is door de DEC van de [REDACTED] ook recent gesteld aan collega [REDACTED]. Naar aanleiding van die vraag is er in [REDACTED] bij recent onderzoek in december 2014 er voor gekozen om de geïnfecteerde dieren permanent te monitoren. De data van dit onderzoek zijn gekend en worden momenteel geanalyseerd. Uit deze data komt naar voren dat er bij de eerste sterfte piek (binnen 24 uur na inoculatie) dieren geen ziekteverschijnselen vertonen, en als het ware terwijl ze aan het eten zijn dood neer vallen. Bij de volgende uitval piek tussen 2 en 4 dagen na infectie is de ziekte wel te zien. Dieren die sterven gaan zich maximaal een half uur voor de dood afzonderen. De eerste 24 uur zullen de dieren intensief gemonitord worden. De proefdierdeskundige van [REDACTED] zal bij het uitvoeren van de pilotproef aanwezig zijn, en de resultaten zullen worden teriggekoppeld met de IvD van [REDACTED]. In overleg met de IvD kunnen mogelijk aantallen dieren en ongerif van de dieren mbt Experiment 2 worden verminderd.

6.b. Mate van ongerief:

1 A. Gering

- 2 A. Gering
- 3 E. Ernstig
- 4 E. Ernstig
- 5 A. Gering
- 6 E. Ernstig
- 7 E. Ernstig
- 8 E. Ernstig
- 9 E. Ernstig
- 10 A. Gering
- 11 A. Gering
- 12 B. Gering/Matig

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

Diergroepen 1-6: Alle gefokte dieren krijgen een vleugelmerk bij uitkomst. Alle dieren worden gehanteerd, gefixeerd, gesekst en (sham)-geïnfecteerd.

Diergroepen 1, 2, 5, en 10: Geïnfecteerd (sham infectie) met fysiologische zoutoplossing --> Gering ongerief, geen extra ongerief als gevolg van behandeling.

Diergroepen 3, 4, 6, 7, 8, en 9: Geïnfecteerd met (verdunde) E. coli cultures --> Onbekend ongerief, maar naar verwachting ernstig. De onverdunde concentratie E. coli cultuur is 10^9 CFU/ml.

Mortaliteit als gevolg van E. coli infectie bij vleeskuikens treedt doorgaans zeer snel op (binnen 24 uur). Het lijden van dieren kan daardoor beperkt zijn tot een zéér korte periode, echter indien lagere doses E. coli niet tot acute sterfte lijden zouden lagere E. coli doses theoretisch tot een ernstiger lijden kunnen leiden dan een hoge dosis.

Diergroep 11: Individuele huisvesting voor 5 weken en 4 maal sperma verzamelen voor KI. --> Gering ongerief

Diergroep 12: Individuele huisvesting voor 5 weken, 4 maal intracloacaal sperma aanbrengen voor KI en 1 maal bloedafname (1 ml). --> Gering/matig ongerief

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

- 1 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 2 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 3 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 4 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 5 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 6 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 7 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 8 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 9 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 10 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 11 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- 12 A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

- 1 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 2 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 3 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 4 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 5 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 6 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 7 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 8 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 9 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 10 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 11 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- 12 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

De proef wordt uitgevoerd op jonge dieren vanwege hun bevattelijkheid voor E. coli. De proef wordt twee dagen na de infectie gestopt. Dieren zullen continu geobserveerd worden door de betrokken dierenarts, en uit de proef genomen worden ingeval humane eindpunten worden bereikt. (Zie einde proef).

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- 1 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 2 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

- 3 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 4 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 5 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 6 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 7 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 8 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 9 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 10 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 11 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 12 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De geselecteerde ouderdieren worden na uitkomst van de nakomelingen gedood door middel van cervicale dislocatie.

Uitleesparameters in de behandelde kuikens in zowel experimenten 1 als 2 zijn 1. de uitval van de dieren als gevolg van *E. coli* infectie binnen 48 uur en 2. overige (histologie, pathologische en anatomische parameters) door de betrokken dierenarts [REDACTED] fibrinedeposities luchtzakken, orgaangroottes lever en milt. Ingeval opvallend sterk lijden van de dieren (het niet meer in staat zijn om zelfstandig voedsel of water tot zich te nemen, verlamingsverschijnselen of ademhalingsmoeilijkheden en gesloten ogen als humaan eindpunt (Marchwka et al., Poultry Sci. 92: 2588-2599)) zullen deze in overleg met de dierenarts en de aanwezige proefdierdeskundige van WU uit de proef worden genomen. Alle niet-uitgevallen dieren worden gedood na afloop van de proef en geanalyseerd.

9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

In dit experiment wordt specifiek naar het effect van genetische selectie op een immunologische parameter (niveau van antistoffen gericht tegen KLH) op de weerstand tegen een belangrijke ziekte verwekker bij pluimvee gekeken. De volgende alternatieven zijn overwogen:

Vervanging:

Sinds het doel van het project is het verbeteren van de gezondheidsstatus van pluimvee middels de productie van antistoffen op basis van selectie, is een andere diersoort, dan wel een in vitro bepaling vooralsnog geen bruikbare optie

Pathogeen:

1. *E. coli* is in principe op jonge leeftijd van (vlees)kuikens een primair pathogeen, maar op latere leeftijd tgv waarschijnlijk huisvesting en management wel een altijd aanwezige opportunist die toeslaat als de weerstand om de een of andere reden verminderd is. Lagere NAb niveaus kunnen mogelijk een lagere weerstand illustreren.
2. NAbs zullen waarschijnlijk niet direct veel bijdragen aan weerstand tegen hoog pathogene (Lijst A-)ziekten. Dergelijke, met name virale ziektes worden bestreden en beheersbaar gehouden door vaccinaties of eradicatie. Juist het weerstand kunnen bieden aan altijd aanwezige opportunisten (en 'huis-, tuin- en keukeninfecties') is het belang van natuurlijke antistoffen.
3. Een *E. coli* stam waarmee gericht gecontroleerde infectieexperimenten bij (vlees)pluimvee zijn uitgevoerd is aanwezig, en parameters voor gevoeligheid (met name acute sterfte) zijn beschikbaar

Het diermodel:

Pluimvee is een ideaal model voor het fokken op weerstand, vanwege het relatief korte generatieinterval, de vele verschillende lijnen, en de kennis van het immuunsysteem, daarnaast is pluimvee het meest wereldwijd geconsumeerde voedseldier en ook het meest verspreid m.b.t. locaties en omgeving. Selectie op een algemene immunologische parameter en een effect daarvan op weerstand tegen algemeen voorkomende opportunisten zou een zeer grote bijdrage kunnen leveren aan mindere medicatie en antibioticagebruik. Indien succesvol zou een genetische strategie ook voor andere diersoorten in beeld kunnen komen.

Verfijning:

E. coli infecties zijn een groot probleem bij vleeskuikens, maar het probleem is groeiend bij legpluimvee. Het type infectieus agens voldoet in grote mate aan de criteria van weerstand waaraan NAbs een (a-)specifieke bijdrage kunnen leveren aan de weerstand. De gevolgen van een *E. coli* infectie bij vleeskuikens zijn divers: klinische eigenschappen zijn echter niet *E. coli*-specifiek, variëren met de leeftijd, zijn afhankelijk van de betrokken organen en zijn ook afhankelijk van eventueel gelijktijdig optredende andere ziektes. Jonge dieren sterven waarschijnlijk aan acute bloedvergiftiging, maar vertonen weinig letsels, behalve een vergrote hyperemische lever en milt, en een verhoogd vochtgehalte in lichaamsholten. Dieren die de sepsis overleven, ontwikkelen subacute fibrinopurulente luchtzakontsteking, pericarditis, perihepatitis en lymfatische uitputting van de slijmbeurs en de thymus. Hoewel luchtzakontsteking een klassieke laesie is van colibacillosis, is het onduidelijk of die het gevolg is van primaire respiratoire blootstelling aan *E. coli*, of van de uitbreiding van serositis, dan wel gelijktijdig optredende infecties van

andere oorsprong. Sporadische laesies omvatten daarnaast longontsteking, artritis, osteomyelitis, peritonitis en salpingitis. Sterfte tgv sepsis lijkt dus vooralsnog de meest 'harde' uitleesparameter.

Naar ons beste weten zijn er voor *E. coli* infecties geen mildere modellen voorhanden, *E. colivaccins* zijn niet goed ontwikkeld. Bovendien zou een *E. colivaccinatie*, indien al mogelijk, lastig te onderscheiden zijn van het natuurlijk aanwezige niveau van *E. coli*. Dit *E. coli* infectie model berust op een bij vleeskuikens uitgetest model met een specifieke *E. coli*-stam verantwoordelijk voor problemen bij pluimvee. Andere infectiemodellen zijn (zie 1.a.) minder geschikt of niet beschikbaar voor dit onderzoek.

Het pilotexperiment is ook bedoeld voor het opleveren van mogelijkheden voor verfijning en vermindering.

Vermindering:

Voor deze proef worden 2 experimenten uitgevoerd.

In het eerste experiment wordt met een beperkt aantal dieren (15 stuks per behandeling) een dosis gezocht die aanleiding zou kunnen geven tot het praktijkrelevante sterfte percentage van 30%, zoals gemeten bij vleeskuikens. Voor de pilot worden dieren van WL achtergrond aangekocht, omdat het logistiek in [REDACTED] niet mogelijk is zelf een apart legsel voor alleen de pilot te organiseren. De selectielijnen zijn van een WL achtergrond. Deze pilot dient om een optimale *E. coli* dosis voor experiment 2 te bepalen en kan eventueel gebruikt worden om variatie in responsen te schatten.

Voor Experiment 2 is het uitgangspunt dat de acute sterfte tussen de lijnen met 50% wordt verminderd door een lijneffect. Uitgaande van 30% sterfte in de geïnfecteerde groep zijn dan volgens de binomiale verdeling 94 dieren per groep nodig (eenzijdig getoetst) om een afname van sterfte tot 15% met een betrouwbaarheid van 95% en een onderscheidend vermogen van 80% te kunnen aantonen.

10. Namen van direct betrokkenen bij de dierproef (artikel 9- en 12-functionarissen):

[REDACTED] immunoloog, art. 9
 [REDACTED] PhD kandidaat, art. 9
 [REDACTED] immunoloog, art. 9
 [REDACTED] art. 12
 [REDACTED] art. 12
 Personeel proefdieraccommodatie, art. 12
 [REDACTED] pluimveedierenarts, art. 9 [REDACTED]

Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2014124.d (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					36	1	1	01					
1	1	51	1	100					01	1	1	1	1
2	1	51	1	100					01	1	1	1	1
3	1	51	1	100					12	1	1	5	1
4	1	51	1	100					12	1	1	5	1
5	1	51	1	100					12	1	1	1	1
6	1	51	1	100					12	1	1	5	1
7	1	51	1	15					12	1	1	5	1
8	1	51	1	15					12	1	1	5	1
9	1	51	1	15					01	1	1	5	1
10	1	51	1	15					01	1	1	1	1
11	1	51	1	50					01	1	1	1	1
12	1	51	1	100					01	1	1	2	1

Van: [REDACTED]

Verzonden: dinsdag 17 februari 2015 11:42

Aan: ZBO-CCD

Onderwerp: RE: Aanvullende informatie bij DEC-advies [REDACTED]

L.S.

In reactie op uw vraag over de wijze waarop het aantal dieren dat voor aanvang van het experiment als overtollig wordt afgevoerd is meegenomen in het DEC-advies het volgende:

Dit betreft hanen, die in de proef niet worden gebruikt, aangezien de proef zich richt op toepassing in de praktijk, waarin hennen worden gebruikt. De fokhanen zijn overtollig en worden conform normale procedures (zowel in de praktijk als binnen de WoD) geëuthanaseerd. Enkele jaren geleden heeft mondeling overleg met de toenmalige inspecteur VWA (Centrale handhaving dierproeven) geleid tot het beleid, dat eendagshaantjes die gebruikt worden in experimenten, die gericht zijn op hennen niet hoeven te worden geregistreerd als proefdieren, noch als dieren in voorraad. De DEC heeft die lijn gevolgd.

Met vriendelijke groet,

[REDACTED]
Secretaris Dierexperimentencommissie

[REDACTED]

Disclaimer

Dit bericht is uitsluitend bestemd voor geadresseerde. Het bericht kan vertrouwelijke informatie bevatten. Gebruik door derden of openbaarmaking van dit bericht zonder toestemming van de afdeling [REDACTED] is niet toegestaan. Als u dit bericht per abuis heeft ontvangen, wordt u verzocht het te vernietigen en ons te informeren.

Van: [REDACTED] Namens ZBO-CCD

Verzonden: maandag 16 februari 2015 14:01

Aan: [REDACTED]

Onderwerp: Aanvullende informatie bij DEC-advies [REDACTED]

Geachte [REDACTED]

Naar aanleiding van de vergunningsaanvraag "Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E.coli weerstand in kippen" heeft de CCD nog een vraag om aanvullende informatie voor de DEC . Zie bijgaande brief, deze brief wordt u ook nog per post toegezonden,

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Centrale Commissie Dierproeven www.zbo-ccd.nl

.....
Postbus 20401 | 2500 EK | Den Haag
.....

T: 0900 2800028

E: ZBO-CCD@minez.nl

De Rijksdienst voor Ondernemend Nederland (RVO.nl) stimuleert Duurzaam, Agrarisch, Innovatief en Internationaal ondernemen. RVO.nl is per 2014 ontstaan uit de fusie van Agentschap NL en Dienst Regelingen.

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.



Centrale Commissie Dierproeven

AA

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



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

Onze referentie
Aanvraagnummer

Bijlagen

2

Datum 18-02-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 18 februari 2015

Vervaldatum: 20 maart 2015

Factuurnummer: 20157021 /

18/2 '15

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvegrunning dierproeven Betreft aanvraag 01521	€ 741,00

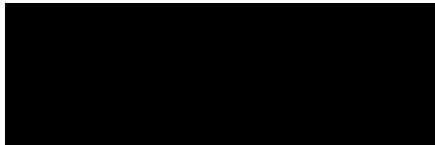
Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL28RBOS 056.99.96.066 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 20401, 2500 EK te 's Gravenhage.



BB

Centrale Commissie Dierproeven

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer

1

Datum

Betreft Vervolg Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw

Op 2 februari 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op E. coli weerstand in kippen met aanvraagnummer . Uw aanvraag wordt in behandeling genomen. In deze brief leest u wanneer u een beslissing kunt verwachten.

Wanneer een beslissing

Wij nemen uiterlijk 30 maart 2015 een beslissing. Als wij nog informatie nodig hebben, kan dit later worden. Voor een complexe aanvraag staat een langere termijn. In beide gevallen ontvangt u daarover bericht. 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.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer
[Redacted]

Bijlagen

2

Datum 18-02-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw [Redacted]

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 2 februari 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is [Redacted]. 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:

Naam instelling of organisatie:

Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde:

KvK-nummer:

Straat en huisnummer:

Postbus:

Postcode en plaats:

IBAN:

Tenaamstelling van het
rekeningnummer:

A large black rectangular redaction box covering the right side of the 'Gegevens aanvrager' section.

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

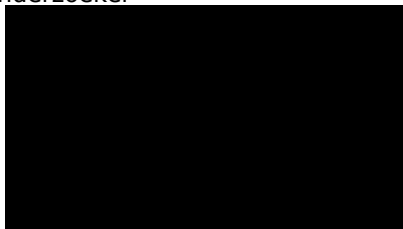
Naam:

Functie:

Afdeling:

Telefoonnummer:

E-mailadres:

A black rectangular redaction box covering the right side of the 'Gegevens verantwoordelijke onderzoeker' section.

Gegevens gemachtigde

Naam:

Postbus:

Postcode en plaats:

Wilt u een nieuwe machtiging
afgeven? Ja

Over uw aanvraag

Wat voor aanvraag doet u? ☒ [x] 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 april 2015

Geplande einddatum: 22 mei 2015

Titel project: Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op
E. coli weerstand in kippen

Titel niet-technische
samenvatting: Effect van divergente selectie van natuurlijke antilichamen op
E. coli weerstand in kippen

Naam DEC:

Postadres DEC:

E-mailadres DEC:

Betaalgegevens

De leges bedragen: € 741,-

De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen: ☒ [x] Projectvoorstel
☒ [x] Beschrijving Dierproeven
☒ [x] Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen: ☒ [x] Melding Machtiging
☒ [x] DEC-advies

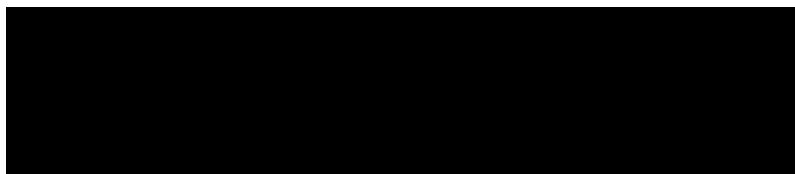
Ondertekening

Naam:

Functie:

Plaats:

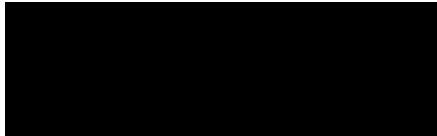
Datum:



10 februari 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag



**Centrale Commissie
Dierproeven**

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

Onze referentie

Aanvraagnummer



Bijlagen

2

Datum 18-02-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 18 februari 2015

Vervaldatum: 20 maart 2015

Factuurnummer: 20157021

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

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.