

Inventaris Wob-verzoek W16-07S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	<b>NTS2015235</b>								
1	Aanvraagformulier				x		x	x	
2	Projectvoorstel			x					
3	Niet-technische samenvatting			x					
4	Bijlage beschrijving dierproeven			x					
5	DEC-advies				x		x	x	
6	Machtiging				x		x	x	
7	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
8	Verzoek aanvulling				x		x	x	
9	Reactie op aanvulling verzoek				x		x	x	
10	Bijlage beschrijving dierproeven herzien			x					
11	Niet-technische samenvatting herzien	x							
12	Factuur				x		x	x	
13	Advies CCD		x						x
14	Beschikking en vergunning				x		x	x	
15	Mail terugkoppeling DEC 16-10-2015				x		x	x	

17 SEP. 2015



Centrale Commissie Dierproeven

CCD

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

## 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.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.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?  
 Ja > Vul uw deelnemernummer in 50100  
 Nee > U kunt geen aanvraag doen  
*Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.*
- 1.2 Vul de gegevens in van de Instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.
- |   |                    |
|---|--------------------|
| Naam instelling of organisatie                      | TNO                |
| Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde | [REDACTED]         |
| KvK-nummer  | 27376655           |
| Straat en huisnummer                                |                    |
| Postbus   | 96800              |
| Postcode en plaats                                  | 2509 JE DEN HAAG   |
| IBAN  | NL39INGB0657819271 |
| Tenaamstelling van het rekeningnummer               | TNO                |
- 1.3 Vul de gegevens van het postadres in.  
*Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.*
- 1.4 Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.
- |                             |             |   |
|-----------------------------|-------------|---|
| (Titel) Naam en voorletters | [REDACTED]  | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | 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 | [REDACTED]    | <input checked="" type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     | Projectleider |   |
| Afdeling                    | [REDACTED]    |   |
| Telefoonnummer              | [REDACTED]    |   |
| E-mailadres                 | [REDACTED]    |   |

- 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  
 Functie  
 Afdeling  
 Telefoonnummer  
 E-mailadres

Dhr.  Mw.

- 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 01 - 11 - 2015

Einddatum 31 - 10 - 2020

- 3.2 Wat is de titel van het project?

Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren

- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?

Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren

- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?

Naam DEC DEC-TNO

Postadres 96800 2509 JE DEN HAAG

E-mailadres

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 748 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 o.v.v. order nummer **3100117448/1**
- 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
- 


## 6 Ondertekening

- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie  
 Dierproeven  
 Postbus 20401  
 2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.7). De ondergetekende verklaart:

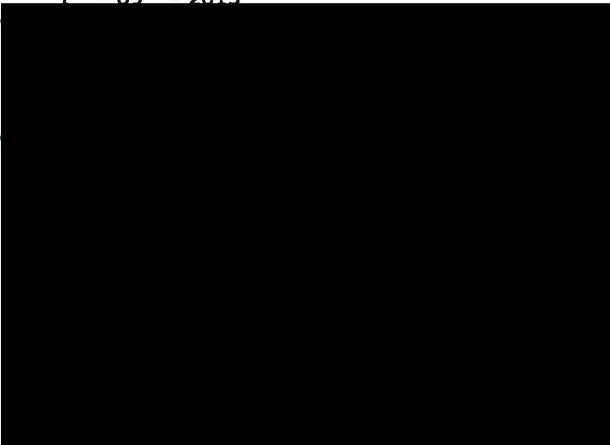
- dat het projectvoorstel is afgestemd met de Instantie voor Dierenwelzijn.
- dat de personen die verantwoordelijk zijn voor de opzet van het project en de dierproef, de personen die de dieren verzorgen en/of doden en de personen die de dierproeven verrichten voldoen aan de wettelijke eisen gesteld aan deskundigheid en bekwaamheid.
- dat de dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU, behalve in het voorkomende geval de in onderdeel F van de bijlage bij het bij de aanvraag gevoegde projectvoorstel gemotiveerde uitzonderingen.
- dat door het ondertekenen van dit formulier de verplichting wordt aangegaan de leges te betalen voor de behandeling van de aanvraag.
- dat het formulier volledig en naar waarheid is ingevuld.

Naam 

Functie Proefdierdeskundige

Plaats Den Haag

Datum 1 - 09 - 2015

Handtekening 

15/9/2015





## Format Projectvoorstel dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

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

### 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

## 3 Algemene projectbeschrijving

### 3.1 Achtergrond

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

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

Jonge zoogdieren zijn erg gevoelig voor luchtweginfecties in het eerste levensjaar door een nog niet volledig werkend immuunsysteem. Deze luchtweginfecties kunnen leiden tot ziekte en sterfte. Ook jonge kalveren hebben veel last van luchtweginfecties, een probleem dat op dit moment wordt aangepakt middels gebruik van antibiotica. De micro-organismen, die grotendeels verantwoordelijk zijn voor deze luchtweginfecties, zijn veelal afkomstig uit de nasopharyngeale omgeving (dit is de omgeving van de neus dichtbij de keel) waar ze onder gezonde omstandigheden onderdeel vormen van de complexe microbiële gemeenschap, de nasopharyngeale microbiota, ook wel nasopharygeaal microbioom genoemd. De algehele rol van microbiota in de humane gezondheid is divers: microbiota zijn betrokken bij kolonisatieresistentie tegen pathogenen, zijn belangrijk bij de maturatie en aanpassing van het immuunsysteem en zorgen voor essentiële metabolische omzettingen.

In een gezond nasopharygeaal microbioom krijgen de opportunistische pathogenen die onderdeel vormen van het microbioom, geen kans om uit te groeien en daardoor luchtweginfecties te veroorzaken. Een gezonde samenstelling van het microbioom, met name het microbioom van de luchtwegen is daarom van groot belang voor de gezondheid.

In babies wijzen recente ontwikkelingen op significante correlaties tussen de voeding en de samenstelling van hun microbioom, zowel in de darm als in de luchtwegen. In een eerdere studie met vleeskalveren is gebleken dat het nasopharygeaal microbioom van jonge vleeskalveren gedurende de eerste 12 weken op het mestbedrijf behoorlijk onderhevig is aan veranderingen. Deze dynamiek suggereert dat het mogelijk zou moeten zijn om het nasopharygeaal microbioom (positief) te beïnvloeden. Dit project is daarom gericht om te onderzoeken of positieve beïnvloeding van het nasopharygeaal microbioom (de bacteriële samenstelling van de neusholte dichtbij de keel) bij kalveren middels dieet interventie en het toedienen van neussprays, kan leiden tot vermindering van luchtwegaandoeningen en daarmee tot verbetering van de algehele gezondheid van de kalveren.

Een bijkomend maar groot voordeel van het verbeteren van kalvergezondheid, is de daarmee gepaard gaande vermindering van het gebruik van antibiotica om zieke dieren te behandelen. Antibioticum gebruik in de dierhouderij (en dus ook de kalverhouderij) kan leiden tot een toename van resistente, pathogene bacteriën zoals bijv. MRSA en ESBL bacteriën. Dit is een groot gevaar voor de volksgezondheid en vanuit het ministerie is vermindering van het antibioticum gebruik in de veehouderij daarom een speerpunt. Het verbeteren van de gezondheid van vleeskalveren door voedingsinterventies is hiervoor een zeer aantrekkelijke methode.

### 3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

De algehele doelstelling van dit project is het onderzoeken of met behulp van voedsel interventies, het mogelijk is om de nasopharygeale microbioom

samenstelling positief te beïnvloeden in vleeskalveren en zo een positief effect op het onderdrukken van luchtweginfecties te bewerkstelligen. In dit project is gekozen voor jonge vleeskalveren als proefdieren omdat dit een kwetsbare groep voor luchtweginfecties is.

Deze studie maakt gebruik van groepen van reguliere vleeskalveren die gehuisvest worden in een regulier vleeskalveren bedrijf en verschillende voersamenstellingen te eten krijgen. De uitlezing van het effect van de voedingsinterventie zal plaats vinden op algeheel niveau: hoeveel luchtweginfecties ontwikkelen de kalveren in de verschillende groepen en wat is de algemene staat van gezondheid? Daarnaast zal de microbiom samenstelling van de nasopharynx worden gemonitord door middel van het sequensen van het DNA uit de nasopharynx swabs van de kalveren. Tevens zullen fecale swabs worden geanalyseerd om ook daarvan de microbiële samenstelling te bepalen om te onderzoeken of er een verband is tussen het nasopharyngeaal en het fecaal microbiom en algehele gezondheid.

Het nemen van nasopharynx swabs is een goed lopende procedure door bevoegd en goed opgeleid personeel met veel ervaring op dit gebied waarbij de dieren zeer weinig ongerief ervaren. Het nemen van rectale swabs is een nog veel simpeler handeling die vrijwel geen ongemak voor de dieren oplevert. De nasopharyngeale en rectale swabs zullen -indien mogelijk- worden genomen op het moment dat de standaardmetingen zoals gebruikelijk voor vleeskalveren in de industrie ook worden verricht (wegingen, Hb-meting en serum Fe-meting). De daaropvolgende handelingen van DNA extractie en microbiom analyse door middel van 16S amplicon sequencing zijn bewezen methodes die al vele malen succesvol zijn toegepast binnen onze instelling op zeer uiteenlopende samples, waaronder rectale en nasopharyngeale swabs (resultaten uit een eerdere studie).

---

### **3.3 Belang**

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

Deze studie is gericht op het verbeteren van het microbiom van de nasopharynx in vleeskalveren, wat een economisch belang dient voor de vleeskalverindustrie. Een ander belangrijk aspect van het verminderen van luchtweginfecties bij vleeskalveren is de daarmee gepaard gaande afname in antibioticum behandelingen van vleeskalveren. Vermindering van antibioticum gebruik in de dierhouderij is een belangrijk speerpunt van de overheid omdat het niet alleen bijdraagt aan een duurzame veeteelt, maar belangrijker, tevens bijdraagt aan vermindering van antibioticumresistentie ontwikkeling in en selectie van (multi-)resistente humaan pathogene micro-organismen zoals MRSA en ESBL. Het ontstaan van (multi-)resistente micro-organismen is een grote bedreiging van de volksgezondheid en daarom een belangrijk aandachtspunt van de overheid.

Op dit moment wordt behoorlijk veel dier-tot-dier variatie waargenomen, waardoor de benodigde groeps grootte volgens de gehanteerde parameters rond de 40 dieren ligt. Het is goed mogelijk dat deze variatie (gedeeltelijk) verklaard kan worden door verschillen in luchtweggezondheid. Inzicht in het nasopharyngeaal microbiom kan daardoor wellicht leiden tot minder dier-tot-dier variatie, waardoor de groeps groottes in de toekomst wellicht kleiner kunnen worden en er dus minder proefdieren nodig zijn. Uiteindelijk zou het zelfs kunnen leiden tot unieke individuele behandeling van vleeskalveren waardoor het aantal veterinaire ingrepen beperkt kan worden omdat er minder groepsbehandelingen nodig zijn.

---

### **3.4 Onderzoeksstrategie**

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

Het project is onderverdeeld in een aantal stadia. In een eerder stadium is middels een pilot experiment uitgezocht dat het mogelijk is middels nasopharyngeale swabs de microbiom-ontwikkeling in jonge vleeskalveren te kunnen vervolgen. In een vervolgonderzoek is gekeken naar de dynamiek van de ontwikkeling van het nasopharyngeaal microbiom gedurende de eerste 12 weken van de kalveren op het mestbedrijf. Hieruit is gebleken dat het nasopharyngeaal microbiom gedurende de eerste 12 weken van de vleeskalveren op het mestbedrijf aan behoorlijke veranderingen onderhevig is. In de volgende studies zal naar de gehele mestperiode (27 weken vanaf het moment van binnenkomst van de kalveren op het mestbedrijf) worden gekeken zodat



effecten door de interventies gedurende de gehele mestperiode gevolgd kunnen worden.

Op basis van deze gevonden dynamiek in het nasopharyngeaal microbioom is de verwachting dat het mogelijk is om het nasopharyngeaal microbioom te beïnvloeden. Op basis van informatie over de invloed van dieet op het nasopharyngeaal microbioom van kinderen, is besloten om te onderzoeken of verschillende diëten en neussprays een vergelijkbare invloed hebben op het nasopharyngeaal microbioom van vleeskalveren. Het is de bedoeling om te onderzoeken of het mogelijk is om door middel van voedingsinterventies en het toedienen van neussprays, het nasopharyngeaal microbioom zodanig te beïnvloeden dat het aantal luchtweginfecties vermindert en daardoor de algehele gezondheid van vleeskalveren verbetert. Eerdere preliminaire bevindingen van de betrokken kalverhouderij lijken te wijzen op een positief effect op gezondheid en groei van vleeskalveren door verschillende, wettelijk toegelaten voedingsadditieven en neussprays. Op basis van die preliminaire resultaten is besloten om (combinaties van) deze wettelijk toegelaten voedingsadditieven en neussprays te testen op bevestiging van de preliminaire positieve resultaten op gezondheid en groei en tevens te onderzoeken of dit gepaard gaat met een verandering van het nasopharyngeaal microbioom.

De beoordeling van de gezondheid en kwaliteit van vleeskalveren en daarmee het effect van de interventies in deze studie vindt plaats op basis van meerdere parameters die standaard in de praktijk worden toegepast (individuele veterinaire behandelingen, verteringscore, voedingsconversie en geslacht gewicht). Eerdere ervaringen van de betrokken kalverhouderij partij hebben uitgewezen dat de benodigde groepsgrootte voor een significante uitlezing van deze parameters ( $\Delta x = 2; 1,5; 0,1; 6$ , respectievelijk) varieert van 31-42 dieren. Vanwege de beschikbare ruimte (ruimte voor 200 kalveren) in de stal van het proefbedrijf waar de eerste proef gepland is, is besloten om gebruik te maken van 5 groepen van 40 dieren elk zodat er naast twee controle groepen (basaal en positief), ook drie testgroepen mee genomen worden in deze eerste proef.

De indeling in de drie testgroepen voor de eerste proef is gebaseerd op de aard van de additieven (1: melk gebaseerd, 2: additieven zoals bijv. prebiotica in combinatie met een neusspray van een bacteriecultuur, en 3: een mix van etherische oliën, zowel toegediend via de melk als via een neusspray) waarbij meerdere additieven per testgroep worden gebruikt. Afhankelijk van de resultaten zal voor latere proeven besloten worden welke groep(en) van ingrediënten verder onderzocht zal worden door de additieven uit te splitsen en/of te combineren of op andere wijze te optimaliseren. Hierbij kan gedacht worden aan optimale dosering, de optimale periode waarin de interventie wordt gegeven en de optimale toedieningsroute in praktijksituaties. De uitlezing zal in alle gevallen bestaan uit de normale parameters voor vleeskalveren: gewicht, diarree, vertering en veterinaire behandelingen. Daarnaast zal ook de kwaliteit van de slachtproducten worden gecontroleerd, waarbij in dit geval met name gelet zal worden op de longen.

---

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

---

De verschillende studies zullen in hoofdlijnen vergelijkbaar zijn. In alle gevallen zal worden gewerkt met vleeskalveren in de reguliere veehouderij bij verschillende proefbedrijven die voldoen aan alle wettelijke normen voor de vleeskalveren industrie en de IKB richtlijnen hanteren.

Op hoofdlijnen zal een studie er als volgt uitzien:

1. De kalveren komen op de normale wijze (= normale wijze voor vleeskalveren in de industrie) binnen op het proefbedrijf op een leeftijd van 2-3 weken. Vanaf dat moment verblijven de dieren 27 weken op het mestbedrijf voordat ze richting slacht gaan.
2. De kalveren worden bij binnenkomst op het proefbedrijf opgedeeld in verschillende groepen, het aantal daarvan en de grootte per groep is afhankelijk van het aantal te meten condities. Per studie zullen in ieder geval twee controlegroepen worden meegenomen, afhankelijk van het aantal te testen condities en de beschikbare ruimte op het proefbedrijf zal besloten worden hoeveel groepen en hoeveel dieren per groep worden ingezet.
3. De huisvesting van de kalveren wordt aangepast aan de omstandigheden van het gebruikte proefbedrijf waarbij zorg wordt gedragen dat dieren van verschillende testgroepen gecombineerd worden over de beschikbare afdelingen

4. De kalveren worden gevoerd volgens de indeling per groep waarbij de melk en de additieven (voeder additieven en/of neus sprays bestaande uit een bacteriën cultuur of een mix van etherische oliën) individueel wordt gevoerd en het ruwvoer (muesli, geperste brokken + granenmengsel en stro) niet individueel wordt gevoerd.
5. Tijdens de groei wordt de gezondheid van de dieren gemonitord aan de hand van standaard praktijk metingen
6. Dierproef: Op maximaal zeven tijdstippen binnen de mestperiode van de vleeskalveren op het mestbedrijf (27 weken vanaf binnenkomst op het mestbedrijf) worden nasopharyngeale en rectale swabs genomen voor analyse van de microbiom samenstelling van de nasopharynx en het colon.
7. Na 27 weken op het mestbedrijf worden de dieren volgens reguliere wijze voor de slacht aangeboden.
8. Omdat er in de eerst geplande proef verschillende additieven en neussprays worden gecombineerd, zal een positief resultaat gevolgd worden door het uitsplitsen van de additieven en/of neussprays om te identificeren welke component of combinatie van componenten verantwoordelijk is voor het gevonden resultaat. Latere experimenten zullen uitgaan van de eerder gevonden resultaten om de effecten door de voedingsadditieven of neussprays verder te optimaliseren. Hierbij zal gekeken worden naar de optimale wijze van toedienen, het bepalen van de optimale dosis en het bepalen van de optimale doseringstijd. Ook als er geen positief resultaat wordt behaald bij de eerste proef en hiervoor na analyse van alle data geen voor de hand liggende verklaring is, zullen de additieven en neussprays individueel of in kleinere combinaties getest worden om eventuele negatieve gevolgen van de additieven op elkaar uit te sluiten. Vervolgens kunnen andere combinaties worden samen gesteld en kan de optimalisatie verder verlopen zoals bij een positief resultaat.

---

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

---

De dierproef is onderdeel van de normale procedure voor mesten van vleeskalveren. In de verschillende studies worden de dieren random ingedeeld in verschillende groepen zoals beschreven in 3.4.2. De verschillende groepen krijgen verschillende voersamenstellingen te eten, al dan niet aangevuld met een neusspray. Alle voeder additieven en neussprays zijn geregistreerde en toegelaten middelen. Vervolgens zal op maximaal zeven tijdstippen een nasopharyngeale en fecale swab worden genomen die vervolgens geanalyseerd zal worden op microbiële samenstelling.

De vleeskalveren worden verder volgens de reguliere vleeskalveren procedure gemest en behandeld. De interventies zoals beschreven in de dierproef hebben geen invloed op de geschiktheid van de dieren voor de slacht. De dieren worden daarom na 27 weken op het mestbedrijf volgens normale wijze voor de slacht aangeboden.

---

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Het nemen van neusholte samples ter identificatie van de microbiële samenstelling van de nasopharyngeale microbiom en fecale swabs om het microbiom van de darm te bepalen.
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Format

### Niet-technische samenvatting

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

## 1 Algemene gegevens

- 1.1 Titel van het project | Bevorderen van de luchtweggezondheid van vleeskalveren
- 1.2 Looptijd van het project | 5 jaar
- 1.3 Trefwoorden (maximaal 5) | respiratoire infecties, voedingsinterventies, kalvergezondheid, microbioom

## 2 Categorie van het project

- 2.1 In welke categorie valt het project.
- Fundamenteel onderzoek
- Translationeel of toegepast onderzoek
- Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*
- Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- Hoger onderwijs of opleiding
- Forensisch onderzoek
- Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Projectbeschrijving

- |   |  |
|---|--|
| 3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang) | <p>Jonge kalveren tot 14 weken leeftijd zijn erg gevoelig voor luchtweginfecties (respiratoire infecties) doordat het immuunsysteem nog niet volledig is ontwikkeld. Deze luchtweginfecties zorgen voor ziekte en uitval onder de vleeskalveren. Luchtweginfecties worden veelal veroorzaakt door micro-organismen die onderdeel vormen van het nasopharyngeale microbiom (de complexe microbiële flora van de omgeving van de neus dichtbij de keel), die na een onbalans de overhand nemen en luchtweginfecties veroorzaken.</p> <p>De doelstelling in dit project is te onderzoeken of door middel van het variëren van de voeding van vleeskalveren, het nasopharyngeale microbiom van deze kalveren positief is te beïnvloeden om daarmee het aantal luchtweg infecties te verminderen en de algehele gezondheid te verbeteren.</p> |
| 3.2 Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?         | <p>De verwachting is dat deze studie zal leiden tot een verbeterde gezondheid van vleeskalveren, waardoor minder uitval plaats zal vinden. Daarnaast is verbeterde kalfsgezondheid ook zeer gewenst vanuit humane gezondheid. Bij ziekte van vleeskalveren wordt er antibiotica toegediend wat kan leiden tot een toename van resistente, pathogene micro-organismen zoals bijv. MRSA en ESBL bacteriën die een grote bedreiging vormen voor de mens. Vermindering van het antibioticumgebruik in de veehouderij is daarom een speerpunt van de overheid en het verbeteren van de gezondheid van vleeskalveren door voedingsinterventies is een zeer aantrekkelijke methode.</p>   |
| 3.3 Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?  | <p>Ongeveer 1200 stierkalveren uit Nederland die na afloop van de dierproef het reguliere slachtcircuit ingaan.</p>  |
| 3.4 Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?   | <p>De kalveren worden op de normale manier gehuisvest en opgekweekt zoals alle andere vleeskalveren. De daadwerkelijke dierproef bestaat uit het nemen van swabs door een lang wattenstaafje hoog door de neusholte te halen, eventueel aangevuld met het prikken van een buisje bloed en het verzamelen van poep uit de anus met een wattenstaafje gedurende maximaal zeven tijdstippen. Uit eerdere ervaringen is gebleken dat deze handelingen minimaal effect hebben op de kalveren.</p>   |
| 3.5 Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?   | <p>In de laagst mogelijke categorie: de dieren doorlopen het normale opkweekproces tot aan de slacht en ondervinden minimaal ongemak door de interventies.</p>   |
| 3.6 Wat is de bestemming van de dieren na afloop?   | <p>Na afloop van het experiment zullen de dieren als normale vleeskalveren worden geslacht voor consumptie.</p>  |

## 4 Drie V's

### 4.1 **Vervanging**

Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Door de opzet van de studie kunnen er praktijkdieren gebruikt worden die het normale vleeskalverhouderijproces doorlopen, waardoor er geen proefdieren speciaal voor deze studie ingezet hoeven te worden. Dit heeft tevens als voordeel dat er direct wordt getest in de uiteindelijke doelgroep.

Niet alleen de microbiële samenstelling van de neusholte is zeer divers, ook de interactie tussen de gastheer (in dit geval de vleeskalveren) en de micro-organismen is zeer complex. Mede hierdoor zijn er (nog) geen geschikte proefdiervrije alternatieven.

### 4.2 **Vermindering**

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

De dieren worden niet speciaal voor de studie gebruikt, maar voor de reguliere kalfsvlees productie. De groepsgrootte is zodanig gekozen dat ook bij normale uitval van dieren nog statistisch betrouwbare conclusies kunnen worden getrokken.

### 4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De gekozen proefdiersoort (vleeskalveren) is tevens het doeldier van de studie. Door het minimale ongerief voor de dieren kan de studie uitgevoerd worden onder normale praktijkomstandigheden. De resultaten van deze studie zijn daarom direct vertaalbaar naar de vleeskalverhouderij en de gezondheidszorg voor deze dieren.

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

De proefdieren worden gehuisvest en behandeld als elk ander vleeskalf volgens de IKB regeling. Het ongerief wat de dieren ondervinden gedurende de studie is minimaal door het milde karakter van de handelingen (samen door middel van een wattenstaafje of bloedafname) en het feit dat de samples worden genomen door bevoegd en ervaren personeel.

**5** In te vullen door de CCD

Publicatie datum

Beoordeling achteraf

## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef  |
|------------|---|
| 1          | Het nemen van neusholte samples ter identificatie van de microbiële samenstelling van het nasopharyngeaal microbioom. |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Het doel van de studie is het onderzoeken of door middel van voedingsinterventies en toediening van neussprays, het mogelijk is om het nasopharyngeaal microbioom te beïnvloeden en daarmee een positief effect op de respiratoire gezondheid van vleeskalveren te bereiken.

Door de wijze waarop vleeskalveren worden gemest, is het goed mogelijk om individuele voedingsinterventies uit te voeren binnen de kaders en richtlijnen van de reguliere vleeskalverhouderij. Er is voor deze studie daarom gekozen om gebruik te maken van reguliere vleeskalveren zodat de proefdiersoort gelijk is aan de diersoort waar de interventie voor bedoeld is.

Omdat de respiratoire gezondheid een directe weerslag op de algemene gezondheid van de kalveren heeft, zal de algehele gezondheid van de vleeskalveren worden gemonitord volgens de normale richtlijnen voor vleeskalveren. Daarnaast zal ook de samenstelling van het nasopharyngeaal microbioom worden bepaald. Hiervoor zullen nasopharyngeale swabs worden genomen van de kalveren. Uit die swabs wordt DNA geëxtraheerd waarna de microbiële



samenstelling bepaald wordt door middel van 16S amplicon sequencing (een methode waarbij de bacteriële diversiteit van een sample bepaald wordt door het uitlezen van de in dat sample aanwezige 'barcodes', de ribosomale 16S sequenties). Omdat darmgezondheid ook veel in verband wordt gebracht met gezondheid en er voedingsadditieven worden gebruikt die uiteindelijk ook in de darm terecht komen, zullen ook fecale swabs worden genomen die eveneens door middel van 16S amplicon sequencing geanalyseerd zullen worden. De algehele gezondheidsparameters en de samenstelling van het nasopharyngeale microbioom worden vervolgens gekoppeld om een eventueel verband tussen voedingsinterventies of het toedienen van neussprays, de samenstelling van het nasopharyngeale en darm microbioom en de algehele gezondheid van de kalveren te bepalen.

---

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

Een representatief voorbeeld van de proefopzet is de planning voor het eerste experiment.

In deze eerste proef zullen tweehonderd (200) kalveren worden gehuisvest in vijf groepen, verdeeld over vier gescheiden afdelingen.

De kalveren worden onder reguliere omstandigheden op een regulier vleeskalverbedrijf gehuisvest. In vervollexperimenten zou kunnen worden uitgeweken naar andere reguliere vleeskalverhouderijen. Een ander bedrijf zou gevolgen kunnen hebben op het aantal dieren en de indeling van de dieren in afdelingen. Op het bedrijf waar de eerste proef plaats zal vinden en tevens op elk ander bedrijf wat gebruikt zou kunnen worden, worden de voorschriften volgens de regeling 'IKB vleeskalveren' nageleefd. De IKB regeling (<http://www.ikbvleeskalveren.nl/site/Vleeskalveren-blank/IKB-regeling/9>) is het kwaliteitsbeheersingssysteem van de Nederlandse kalverhouderij en omvat eisen die strenger zijn dan de wettelijke eisen voor huisvesting van vleeskalveren. Elke groep krijgt naast gemeen ruw voer een eigen melk gebaseerde en per dier individueel toegediende voeding, al dan niet aangevuld met een dagelijks toegediende neusspray bestaande uit een bacteriecultuur of een mix van etherische oliën. De variaties in het individueel toegediende voer bestaan uit variaties van geregistreerde en toegelaten voedingsadditieven. De verschillende kalvergroepen zullen worden gevolgd in de tijd door de standaard metingen die gebruikelijk zijn in de reguliere kalverhouderij (wegingen, diarreescore, verteringscore, bloedanalyse, bijhouden van eventuele uitval en individuele veterinaire handelingen). De melk gebaseerde voeding met de variaties aan voedingsadditieven wordt individueel toegediend waardoor het mogelijk is om overgebleven voer terug te wegen en de intake per dier additief te bepalen. Van belang voor deze projectaanvraag is dat daarnaast ook maximaal 7 nasopharyngeale en fecale swabs van elk dier worden afgenomen gedurende een periode van 27 weken op het mestbedrijf voor het bepalen van de nasopharyngeale en fecale microbiomsamenstelling. Het nemen van de nasopharyngeale swabs vindt plaats door de swab via de neus in te brengen tot de nasopharyngeale holte, wat inhoudt dat de swab ongeveer tot een diepte ter hoogte van het oog wordt ingebracht. Voor het nemen van fecale swabs is een diepe penetratie niet noodzakelijk. Alle samples voor de dierproef zullen worden genomen door bevoegd en getraind personeel wat in eerdere studies heeft bewezen de samples te kunnen nemen met minimale impact op de dieren.

In eventuele vervollexperimenten zal de indeling in groepen kunnen afwijken van bovenstaand schema, samples zullen echter op vergelijkbare wijze en frequentie worden genomen en geanalyseerd.

Het effect van de verschillende voedingsadditieven en neussprays zal worden bepaald aan de hand van de algehele gezondheid van de kalveren en de samenstelling van het fecale microbioom, maar met name het nasopharyngeale microbioom. De algehele gezondheid zal worden beoordeeld door de behandelende dierenarts en het verzorgend personeel aan de hand van de standaard parameters (Gewicht, diarree, vertering, en veterinaire behandelingen. Uitval zal ook worden bijgehouden, maar dit zal niet als uitlees-parameter worden gehanteerd). Daarnaast zal ook de uitlezing van de microbiota, met name het nasopharyngeale microbioom een beeld geven van de gezondheid van de kalveren. Beide metingen zullen worden gecombineerd om een verband tussen voedingsinterventies, gezondheid en het nasopharyngeale microbioom te identificeren.

---

Als er kalveren ziek worden zal de behandelend dierenarts besluiten tot behandeling van zieke dieren conform de normale aanpak binnen de kalverhouderij.

Dit houdt in dat afhankelijk van de symptomen, verschillende behandelingen mogelijk zijn, zoals bijvoorbeeld het toedienen van aspirine tegen koorts, extra vitamine C om de weerstand te verbeteren, lijnzaadolie om de vertering te verbeteren, of het toedienen van antibiotica. Behandeling van zieke dieren is onderdeel van de reguliere veehouderij en vormt dus géén onderdeel van deze dierproef. De reden om deze informatie hier toe te voegen is dat het gebruik van antibiotica invloed kan hebben op de onderzochte parameters. Afhankelijk van het aantal zieke dieren per testgroep (elke testgroep wordt beschouwd als een apart koppel) wordt besloten om alleen de zieke dieren te behandelen of de gehele testgroep. In eerste instantie worden alleen individuele dieren behandeld, tenzij 10% van de testgroep in vijf voorafgaande dagen is behandeld of er 4% ziekteverval is in de laatste 24 uur, in dat geval wordt de gehele testgroep behandeld met antibiotica.

---

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

Eerder werk heeft uitgewezen dat het uitlezen van het nasopharyngeale microbioom bij 15 dieren per bedrijf op 8 bedrijven, aangevuld met 30 fokkalveren op 1 bedrijf, voldoende informatie oplevert voor een goede uitlezing van de microbiële dynamiek in de nasopharynx. In het huidige experiment wordt gekeken naar het nasopharyngeale microbioom in relatie tot algehele gezondheid en groei van de vleeskalveren. De beoordeling van de gezondheid en kwaliteit van vleeskalveren en daarmee het effect van de interventies in deze studie vindt plaats op basis van meerdere parameters die standaard in de praktijk worden gemeten (individuele veterinaire behandelingen, verteringsscore, voedingsconversie en geslacht gewicht). Eerdere ervaringen van de betrokken kalverhouderij hebben uitgewezen dat de benodigde groepsgrootte voor een significante uitlezing van deze parameters ( $\Delta x = 2; 1,5; 0,1; 6$ , respectievelijk) varieert van 31-42 dieren. Vanwege de beschikbare ruimte in de stal (ruimte voor 200 kalveren) is besloten om voor de eerste proef gebruik te maken van 5 groepen van 40 dieren elk. In latere experimenten zal een vergelijkbare groepsgrootte worden gehanteerd.

Per experiment zijn twee controlegroepen inbegrepen om een goede vergelijking te kunnen doen: een controlegroep die standaard voer krijgt wat gebruikt wordt in de reguliere kalverhouderij (de basis controle) en een controlegroep die een rijk dieet krijgt waarvan bekend is dat het een positief effect heeft op de groei en gezondheid van de kalveren, maar te duur is voor standaard gebruik in de praktijk (positieve controle). Naast de controlegroepen worden ook testgroepen meegenomen, het exacte aantal hiervan hangt af van de hoeveelheid te testen additieven en de beschikbare ruimte op het proefbedrijf. In de eerstvolgende studie worden drie testgroepen meegenomen. Vanwege de beschikbare ruimte (ruimte voor 200 kalveren) in de stal van het proefbedrijf waar de eerste proef gepland is, is besloten om gebruik te maken van 5 groepen van 40 dieren elk.

De verdeling van de dieren over de testgroepen gebeurt door de dieren bij binnenkomst op het proefbedrijf random te verdelen over de testgroepen. De ervaring van de betrokken kalverhouderij is dat het effect van het melkveebedrijf van de kalveren sterker is dan het effect van het opvangcentrum en transport. Daarom is er besloten geen gebruik te maken van een block design bij de indeling van de kalveren over de stal. Voorafgaand aan het experiment kan er nog een herverdeling van de dieren plaatsvinden op basis van het opzetgewicht en het Hb-gehalte zodat de testgroepen zo evenredig mogelijk verdeeld zijn over de groepen.

De indeling in de drie testgroepen voor de eerste proef is gebaseerd op de aard van de additieven (1: twee op melk gebaseerde componenten, 2: vijf additieven zoals bijv. prebiotica in combinatie met een neusspray van een bacteriecultuur, en 3: een mix van etherische oliën, zowel toegediend via de melk als via een neusspray). Afhankelijk van de resultaten zal voor latere proeven besloten worden welke groep(en) van ingrediënten verder onderzocht zal/zullen worden door de additieven uit te splitsen en/of te combineren of op andere wijze te optimaliseren. Hierbij kan gedacht worden aan optimale dosering, de optimale periode waarin de interventie wordt gegeven en de optimale toedieningsroute in praktijksituaties.

Uitval van vleeskalveren komt in vrijwel elke mestperiode voor en lijkt grotendeels afhankelijk van de oorsprong van de kalveren. Door de milde aard van de handelingen binnen de dierproef is niet te verwachten dat deze interventies voor een hogere uitval zorgen. Gebaseerd op eerdere ervaringen (van de betrokken kalverhouderij) is het verwachte uitvalspercentage  $\sim 5\%$ , waardoor niet wordt verwacht dat normale uitval tot problemen gaat leiden voor de groepsgrootte.

## B. De dieren

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

De proefdiersoort is gelijk aan de diersoort waar de maatregelen uiteindelijk voor bedoeld zijn: reguliere vleeskalveren. De dieren in deze studie zijn standaard stierkalveren die afkomstig zijn van verschillende melkveebedrijven. De exacte oorsprong en ras is op moment van aanvraag nog niet bekend, dit is afhankelijk van de beschikbaarheid van kalveren op de aangesloten bedrijven. Er is gekozen voor het gebruik van stierkalveren omdat deze de bulk vormen van de gebruikte vleeskalveren. Hoewel dit afwijkt van de praktijk, waar een klein deel (max. 15%) van de vleeskalveren bestaat uit vaarskalveren, is er gekozen om alleen stierkalveren te gebruiken binnen deze studie om de variatie zo klein mogelijk te houden en daarmee het benodigde aantal dieren zo laag mogelijk te houden. Vaarskalveren die onder normale omstandigheden op dit bedrijf terecht zouden komen, worden nu verspreid over andere praktijk bedrijven en blijven dus niet over, maar volgen het normale mest-regime. De kalveren komen op een leeftijd van 2-3 weken aan op het bedrijf waar de dieren gedurende deze studie gehuisvest worden. Bij aankomst zullen de dieren random verdeeld worden over de verschillende proefgroepen zoals beschreven in sectie 'A' van deze bijlage. Gemeten vanaf het moment van aankomst zullen de kalveren gedurende een periode van 27 weken op dit bedrijf gehuisvest worden, waarna de normale slachtprocedure gevolgd zal worden.

Vanwege de looptijd van één studie (ongeveer een half jaar) en de bijbehorende voorbereidingen en uitwerkingen, wordt geschat dat per jaar een gemiddelde van 1 tot 1,5 studies kan worden uitgevoerd. Om de vervolgvragen omtrent de gehele studie te kunnen beantwoorden, wordt geschat dat er 6-8 studies noodzakelijk zijn. Dit zou de maximale projectperiode van 5 jaar kunnen overschrijden. Voor de eerste 5 jaar van dit project schatten wij derhalve in ongeveer 1200 (het equivalent van 6 studies) kalveren te gebruiken.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

De kalveren die in deze studie worden meegenomen, volgen een normaal mestschema en zullen na afloop hiervan worden geslacht, net als reguliere vleeskalveren die geen onderdeel zijn van deze studie. Er worden dus géén dieren specifiek voor het uitvoeren van deze studie gebruikt.

De betrokken partij uit de vleeskalverenindustrie is zeer goed thuis in het werk wat is uitgevoerd aan kalvergezondheid. De reden voor de aangevraagde studie is het gebrek aan kennis op het gebied van studies naar verbeterde respiratoire gezondheid bij deze partij. Een literatuurstudie laat zien dat er zeer weinig literatuur beschikbaar is over respiratoire gezondheid van kalveren. De literatuur die wel beschikbaar is, is gericht op respiratoire aandoeningen in kalveren (zie bijv. het proefschrift van Bart Pardon, 2012, Universiteit van Gent) maar niet op het verbeteren van respiratoire gezondheid van kalveren door middel van voedingsinterventies.

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

Het nemen van de diepe neus (nasopharyngeale) swabs resulteert in minimaal ongerief bij de kalveren en worden bovendien uitgevoerd door bevoegd en goed opgeleid personeel met veel ervaring op dit gebied. Hetzelfde personeel neemt ook de fecale swabs, wat door de minimale invasieve handeling nog minder ongerief veroorzaakt bij de dieren.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

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

Bij de betrokken kalverhouderij is geen kennis van vergelijkbare dierproeven die zijn uitgevoerd in de sector. Het enige bekende werk is het eerdere, preliminaire onderzoek naar het effect van de additieven en neussprays waarbij nu wordt gezocht naar een link met het nasopharyngeaal microbiom en gezondheid

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

Vanwege de opzet van de studie in een praktijk setting (een regulier vleeskalverenbedrijf wat is aangesloten bij SKV), worden de dieren gehuisvest en behandeld als alle reguliere vleeskalveren zoals vastgelegd in de regeling IKB vleeskalveren, welke strengere eisen heeft ten aanzien van huisvesting en behandeling dan de wettelijk verplichte regels.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

Dit betreft een commercieel praktijkbedrijf voor vleeskalveren.

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

Het gekozen proefbedrijf is aangesloten bij SKV en voldoet aan de eisen van de regeling IKB vleeskalveren en voldoet daarmee ruim aan alle wettelijke eisen voor huisvesting en behandeling. Historisch gezien is dit proefbedrijf een bedrijf wat laag zit in het aandeel afgekeurd vlees, lever en nieren, wat een indicatie is voor goede zorg van de dieren. De dierproefhandelingen worden uitgevoerd door bevoegd personeel met veel ervaring op dit gebied.

Als extra controle op de respiratoire gezondheid van de dieren zal bij de slacht (dus ná afloop van de dierproef) gelet worden op de kwaliteit van de longen.

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De dieren worden gehuisvest en behandeld als elk ander vleeskalf. Andere vormen van welzijnsaantasting dan het nemen van de nasopharyngeale swabs of het nemen van fecale swabs worden in het kader van dit project daarom niet voorzien.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Niet van toepassing.

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

Niet van toepassing

### J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Indien er volgens de behandelend dierenarts sprake is van ondraaglijk leed of sprake is van een uitzichtloze situatie kan de behandelend dierenarts besluiten tot euthanasie van het betreffende dier. Dit zal verlopen zoals bij elk ander regulier vleeskalver bedrijf. De verwachting is dat de dierproef geen invloed zal hebben op het aantal dieren waarop euthanasie gepleegd zal moeten worden.

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

Op basis van historische ervaringen binnen dit bedrijf is de verwachting dat een totaal van ~5% van de dieren gedurende de looptijd van het experiment zal uitvallen. Hierbij dient aangetekend te worden dat wellicht niet al deze dieren geëuthaniseerd zullen worden, een gedeelte zal ook zonder menselijk ingrijpen kunnen overlijden.

De behandelend dierenarts zal indien mogelijk, altijd voor kiezen om een ziek dier te behandelen volgens de normale praktijk behandelingen, euthanasie is slechts de laatste uitweg. Het welzijn van de dieren zal worden geborgd als elk ander vleeskalf dat wordt gemest op een bedrijf welke voldoet aan de IKB certificering.

### K. Classificatie van ongerief

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

Het ongerief van de dieren wordt geclassificeerd als 'licht' door het diepe inbrengen van swabs via de neus om de nasopharyngeale monsters te kunnen nemen. Het nemen van fecale swabs resulteert in zulk minimaal ongerief dat dit ongerief wegvalt bij het nemen van de nasopharyngeale swabs.

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



- 1) U beschrijft in *3.1 Achtergrond* dat het nasopharyngeaal microbioom gedurende de eerste 15 weken op het mestbedrijf aan behoorlijke veranderingen onderhevig is. Kunt u de logica onderbouwen die u beschrijft: "door deze dynamiek is het logisch om te veronderstellen dat het ook mogelijk moet zijn om het nasopharyngeaal microbioom (positief) te beïnvloeden door middel van voedingsinterventies of het gebruik van neussprays."
- 2) In *3.2 Doel* beschrijft u dat u het microbioom positief beoogt te beïnvloeden. Wat bedoelt u met het positief beïnvloeden van het microbioom?
- 3) Het is de DEC niet duidelijk wat uw onderzoeksstrategie is. Kunt u bij punt *3.4.1* de onderzoeksstrategie beschrijven daarbij includerend wat u in eerder onderzoek hebt gedaan en hoe hierop de strategie voor de keuzes voor interventies die u in de komende 5 jaar wilt onderzoeken zijn gebaseerd?
- 4) Wat bepaalt de keuze voor de interventies met voedingsadditieven en/of neussprays en waaruit bestaan de voedingsadditieven en neussprays? Kunt u de verwachte positieve beïnvloeding van het microbioom op basis van de werkingsmechanismen wetenschappelijk onderbouwen?
- 5) Kunt u in navolging met de informatie gegeven op basis van vraag 4 in de rest van uw aanvraag consistent maken wat u bedoelt met interventies en wanneer dat in de voeding of met een neusspray wordt toegediend?
- 6) Kunt u onderbouwen waarom u voor studies van verschillende tijdsduren kiest of heeft gekozen, u kiest voor 15, 25 of 27 weken volgen van het microbioom? En hoe verhoudt zich dit tot de leeftijd van de vleeskalveren?
- 7) U beschrijft dat: "Deze interventies zijn geselecteerd op basis van eerdere positieve resultaten." Kunt u aangeven wat de nieuwe elementen zijn in dit beoogde project en hoe u zich ervan verzekert dat het onderzoek geen duplicatie is van eerder onderzoek?
- 8) Kunt u in *3.4.2* aangeven welke strategische keuzes u zal moeten maken in de 6-8 beoogde experimenten. Hoe verhouden deze experimenten zich tot elkaar en hoe zullen de resultaten van de experimenten gebruikt worden in de keuzes voor de daaropvolgende experimenten?
- 9) Kunt u aangeven waarop u de aantallen bloed en feces monsters baseert en kunt u in *A van de bijlage beschrijving dierproeven* benoemen welke primaire uitkomstparameters uit deze monsternamen van belang zijn voor het beantwoorden van uw onderzoeksvragen?
- 10) De opzet van de experimenten is de DEC niet helder. Kunt u in de *bijlage beschrijving dierproeven in A (statistische methoden)* de volgende zaken helder maken op strategie niveau, eventueel aangevuld met een voorbeeld voor een eerste experiment:
  - a) Wat is het design van de beoogde experimenten, hoe zijn de experimentele groepen verdeeld, welke controle groepen heeft u mogelijk nodig en hoeveel en welke interventies combineert (max/min aantal) u in een experiment.



- b)Hoe bepaalt u alvorens u start met ieder nieuw experiment hoeveel dieren u per experimentele groep nodig heeft.
- c)Worden de dieren gerandomiseerd ingedeeld en zo ja hoe gebeurt dat. Worden de effecten en resultaten in het onderzoek blind gemeten? Hoe borgt u dat dit op ieder bedrijf toepasbaar is?
- 11) Kunt u in navolging van de informatie gegeven op basis van antwoord op vraag 10 in de rest van uw aanvraag helder maken wat u bedoelt met de termen groep en koppel?
- 12) In de *bijlage beschrijving dierproeven in A* in het kopje *behandeling* beschrijft u dat de kans groot is dat zieke kalveren antibiotica krijgen toegediend. De DEC vraagt zich af of de antibioticum behandeling op zichzelf niet al een effect zal hebben op het nasopharyngeaal microbiom. Hoe zult u de behandelde dieren meenemen in uw analyses en verwacht u voldoende power over te hebben om iets te kunnen zeggen over uw interventie?
- 13) Kunt u aangeven waarom het zo belangrijk is dat dit onderzoek plaatsvindt in een reguliere bedrijf voor mestkalveren. Waarom zou de data niet verkregen kunnen worden in een experimentele stal, waar de kalveren meer ruimte hebben omdat ze volgens bijlage III van de EU directive 2010/63/EU gehuisvest moeten worden?
- 14) Kunt u in *J. van de bijlage beschrijving dierproeven (Humane eindpunten)*: uitweiden over de verwachte 5% van vleeskalveren die uitvallen. Wat houdt deze uitval precies in en welk ongerief verwacht u dat gepaard gaat met deze uitval. Hoe borgt u dat gedurende de gehele proefperiode het welzijn bewaakt wordt en welke criteria hanteert u hiervoor?
- 15) t/m 25) Zijn editorials in de projectaanvraag en bijlage

- Strekking van het (de) antwoord(en)

### Zie vraag 8

- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag

**Ja**

### 8. Correspondentie met de aanvrager

- Datum **5-8-2015**
- Strekking van de vraag / vragen **Zie punt 7 horen aanvrager**
- Datum antwoord **20-8-2015**
- Strekking van het (de) antwoord(en)

**1) Een situatie waarin niet of nauwelijks verandering plaats vindt is een stabiele situatie waarbij veranderingen aanbrengen relatief veel moeite kost. Daarentegen zal in een labiele situatie minder moeite nodig zijn om een verandering aan te brengen. Het eerdere werk heeft aangetoond dat het nasopharyngeale microbiom**

- behoorlijk aan veranderingen onderhevig is, dus dat hier niet sprake is van een stabiele situatie. De verwachting is daarom dat met relatief weinig moeite een verandering aangebracht kan worden in het nasopharyngeale microbiom, bijvoorbeeld door middel van voedingsinterventies of het gebruik van neussprays.
- 2) Met het positief beïnvloeden van het microbiom wordt bedoeld dat het microbiom zo wordt gestimuleerd dat de van nature aanwezige opportunistisch pathogenen in het nasopharyngeale microbiom, geen kans krijgen om ziekte te veroorzaken. Op deze manier wordt gepoogd de algehele gezondheid van de dieren te verbeteren.
- 3) punt 3.4.1 is aangepast waarbij wordt aangegeven welke additieven en neussprays mogelijk worden gebruikt om te onderzoeken of deze daadwerkelijk een positief resultaat leveren op de algehele gezondheid van vleeskalveren door een vermindering van het aantal luchtweginfecties en of dit gepaard gaat met een verandering van het nasopharygeaal microbiom. Ook is aangegeven wat de basis is van de indeling van de groepen voor het eerste experiment en hoe de resultaten daarvan gebruikt worden om toekomstige experimenten in te delen.
- 4) De voedingsadditieven bestaan uit koemelk componenten, breed-spectrum additieven, waaronder prebiotica en een mix van etherische oliën. Daarnaast worden twee neussprays getest: een bacteriecultuur en een mix van etherische oliën. De keuze voor deze wettelijk toegelaten voedingsadditieven en neussprays is gebaseerd op eerdere preliminaire ervaringen dat deze additieven en neussprays een positief resultaat lijken te hebben op de groei en gezondheid van kalveren. Er is echter geen informatie waardoor dit effect veroorzaakt wordt. In het huidige werk wordt gekeken of deze additieven en neussprays inderdaad een positief resultaat hebben op de gezondheid van vleeskalveren en of dat gepaard gaat met een positieve stimulatie van het nasopharygeaal microbiom. Er is wetenschappelijke onderbouwing dat het dieet van jonge kinderen van invloed is op het nasopharygeaal microbiom (ref bekend bij DEC).
- 5) In de aanvraag is verduidelijkt wanneer het gaat om voedingsinterventies of neussprays.
- 6) Het eerdere werk is uitgevoerd tot een leeftijd van 12 weken na aankomst van de kalveren op het proefbedrijf. Hieruit bleek dat het nasopharygeaal microbiom tot die leeftijd erg dynamisch is. De strategie om de gezondheid van de kalveren te beïnvloeden is via het geven van voedingsadditieven en/of neussprays bestaande uit een bacteriecultuur of een mix van etherische oliën gedurende de gehele mestperiode. Er is daarom besloten om de gehele mestperiode mee te nemen in de sampling periode.
- 7) In eerder preliminair werk is gebleken dat de voor dit werk geselecteerde interventies een positief effect lijken te hebben op

de algemene ontwikkeling van vleeskalveren. In het voorliggende onderzoek is het de bedoeling deze positieve effecten te bevestigen, te verbeteren en te onderzoeken of dit gepaard gaat met positieve stimulatie van het nasopharyngeaal microbiom en een vermindering van het aantal luchtweginfecties. Het zou kunnen dat geobserveerde dier-tot-dier variatie (mede) veroorzaakt wordt door verschillen in luchtweggezondheid tussen de verschillende dieren. Een beter begrip van de dynamiek van het nasopharyngeaal microbiom kan daardoor leiden tot verbeterd begrip van individuele verschillen tussen dieren wat uiteindelijk zou kunnen leiden tot unieke individuele behandeling van dieren. Zo'n 'gepersonaliseerde' aanpak zou vervolgens moeten leiden tot een vermindering van veterinaire ingrepen zoals antibiotica behandelingen.

8) In 3.4.2 is aangegeven hoe de resultaten van elk uitgevoerd experiment worden gebruikt voor het opzetten van het volgende experiment. Uiteraard is dat afhankelijk van de resultaten, daarom is alleen aangegeven wat de te volgen strategie is.

9) Er is besloten om geen bloedmonsters te nemen. Deze handeling is daarom verwijderd uit de aanvraag. Fecale swabs zijn wel gepland omdat voedingsmiddelen op een zeker moment terecht komen in de darm en daar ook het microbiom kunnen beïnvloeden. Een goede darmgezondheid wordt steeds meer geassocieerd met een belangrijk aandeel in algehele gezondheid. Fecale swabs kunnen daardoor meer inzicht verschaffen in de link tussen luchtweggezondheid en darmgezondheid.

10)

a) Zoals gevraagd is dit deel uitgebreid met informatie over de geplande experimenten en welke beslissingen daaraan ten grondslag liggen.

b) Zoals is aangegeven in "bijlage beschrijving dierproeven in A (statistische methoden)" varieert voor het bepalen van een significant verschil tussen groepen voor verschillende parameters, de groeps grootte tussen de 31 en 42 dieren. Aangezien deze parameters voor elk experiment van belang zijn, geldt deze groeps grootte voor elk toekomstig experiment. De exacte groeps grootte zal afhangen van de beschikbare ruimte en het aantal testgroepen, maar zal altijd in de buurt van de 31-42 dieren liggen.

c) De "bijlage beschrijving dierproeven in A (statistische methoden)" is aangepast en bevat nu informatie over het design van dieren over de groepen. Samengevat komt het er op neer dat er geen block design wordt toegepast. De dieren, afkomstig van verschillende melkveebedrijven, worden bij binnenkomst random verdeeld over de groepen. Voorafgaand aan het experiment worden de groepen nagelopen op opzet-gewicht en Hb-gehalte.

**Indien noodzakelijk, worden er nog dieren gewisseld tussen groepen om met zo gelijk mogelijke groepen te starten.**

**11) In het kader van deze experimenten, wordt een testgroep beschouwd als een koppel. In het voorstel en de bijlage is dit zo goed mogelijk omschreven als testgroep of groep.**

**12) Wij delen de verwachting dat een antibioticum behandeling invloed zou kunnen hebben op het nasopharyngeaal microbiom. Om de dieren niet onnodig bloot te stellen aan antibiotica, zullen de voor de kalverhouderijpraktijk gebruikelijke criteria worden gehanteerd voor het toedienen van antibiotica, ook voor het beslissen of individuele dieren behandeld worden met antibiotica of dat de hele testgroep (koppel) wordt behandeld (zie "bijlage beschrijving dierproeven in A (statistische methoden)" voor de details). Omdat de verwachting is dat vrijwel elk dier in ieder geval wel één antibioticum behandeling nodig zal hebben gedurende de mestperiode, worden dieren die een antibioticum behandeling ondergaan, gewoon meegenomen in de analyses. Wel wordt bijgehouden of en zo ja, hoe vaak een dier een antibioticum behandeling krijgt toegediend.**

**13) De reden om dit onderzoek uit te voeren op een regulier bedrijf voor mestkalveren, is tweeledig. De eerste reden is dat interventies die effect hebben in de dierproef, direct kunnen worden geïmplementeerd in de praktijk, omdat de experimentele setting gelijk is aan de praktijk. Daarnaast zorgt het gebruik van reguliere kalveren ervoor dat er geen dieren specifiek voor deze experimenten gebruikt hoeven te worden.**

**14) De verwachte 5% uitval houdt in dat op dit bedrijf er op basis van eerdere resultaten, ongeveer 5% van de kalveren dood gaat voor het einde van de mestperiode. De gezondheid van de dieren wordt gemonitord door de behandelend dierenarts. Deze zal in geval van ondraaglijk leed of een uitzichtloze situatie besluiten tot euthanasie, maar in gevallen waar nog wel een uitweg is, besluiten tot de beste behandeling zoals gebruikelijk in de praktijk. Gedurende het hele verblijf op het proefbedrijf worden de dieren gehouden volgens de richtlijnen van IKB, die strenger zijn dan de wettelijk vereiste regels.**

**15) t/m 25) zijn editorials die verwerkt zijn in de aanvraag**

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag **Ja**

## 9. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC) **NVT**

- Aard expertise
- Deskundigheid expert
- Datum verzoek

- Strekking van het verzoek
- Datum expert advies
- Expert advies

## **B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)**

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)
2. De aanvraag betreft een **nieuwe aanvraag**
3. De DEC is competent om hierover te adviseren **Ja**
4. Vanwege betrokkenheid bij het betreffende project is een aantal DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, niet betrokken bij de advisering.

**De leden hebben allen onafhankelijk en onpartijdig deel kunnen nemen aan de advisering mbt het betreffende project**

## **C. Beoordeling (inhoud):**

1. Het project is:
  - uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord
  - uit onderwijskundig oogpunt verantwoord
  - uit het oogpunt van productiedoeleinden verantwoord
  - wettelijk vereist
2. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) is / zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling(en)
3. De DEC onderschrijft het belang van de doelstelling. Het wordt ingeschat als een **substantieel** belang.

**De DEC heeft gediscussieerd over het belang van deze aanvraag. Belanghebbenden in dit onderzoek zijn de kalveren in de kalverhouderij. Zij hebben een belang met betrekking tot hun welzijn**

**en het preventief behandeld kunnen worden tegen luchtweginfecties. Andere belanghebbenden van dit project zijn humane en veterinaire patiënten die een nog werkend antibioticum nodig hebben. Wanneer kalveren preventief behandeld zouden kunnen worden tegen infecties dan zou het antibiotica gebruik in de kalverhouderij wellicht naar beneden kunnen. Het verminderd gebruik van antibiotica zal de antibiotica resistentie kunnen verminderen.**

**De DEC heeft uitgebreid gediscussieerd over de haalbaarheid van de beoogde interventies op het verminderen van infecties. De onderzoeker heeft de haalbaarheid en de potentie van de beoogde interventies in antwoord 4 benadrukt. Daarmee was de DEC overtuigd van de haalbaarheid en daarmee met het belang van specifiek deze studie. De DEC heeft unaniem besloten dat het totaal belang substantieel is. Het grote probleem van antibioticaresistentie wordt niet opgelost door deze studie, maar kan hier mogelijk wel aan bijdragen. Dit project is derhalve een mooi voorbeeld van het efficiënt samengaan van de aanwezigheid van het doeldier en onderzoek op het doeldier. Hiermee weegt het licht ongerief voor deze kalveren op tegen de stap die wordt gezet in de richting van minder antibiotica gebruik en minder luchtweginfecties en daardoor een kleinere sterftekans voor de dieren.**

4. De gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project

**De DEC is er van overtuigd dat met deze strategie, waarin op basis van resultaten, voor latere proeven de groepen en de interventies worden bepaald en de expertise van de onderzoekers en de nauwe samenwerking met praktijkbedrijven kan resulteren in wetenschappelijke onderbouwing van interventies die reeds beschikbaar zijn op de markt. Daarmee is niet alleen de mogelijke**

**werking bewezen, maar ook gelijk de weg gebaad om de behandeling in de praktijk te gaan gebruiken. De DEC mist alleen de achtergrond en rationale achter de te kiezen voedseladditieven en neussprays. De DEC begrijpt dat deze rationale nog niet in dit stadium gegeven kan worden. Daarom dient de IvD erop toe te zien dat de experimenten opgezet worden op een manier waarbij de keuzes van additieven, neussprays of mixen van etherische oliën logisch volgen uit empirische onderzoek of wetenschappelijke kennis.**

5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd

**De vleeskalveren in deze experimenten zijn gehuisvest in praktijkbedrijven. Daarmee worden doeldieren ook direct proefdieren. De DEC heeft gediscussieerd over de huisvesting en hier een vraag over gesteld. De onderzoeker heeft de DEC overtuigd van niet alleen de efficiënte opzet van dit experiment in de daadwerkelijke situatie, namelijk het vleeskalf in zijn eigen omgeving, maar ook de lastigheid om een dergelijk experiment onder de huisvestingsnormen van de EU directive 2010/63/EU uit te voeren. Want de infectiedruk is dusdanig beïnvloed door de stalbezetting dat dit experiment eigenlijk alleen nuttige informatie oplevert wanneer de dieren in een praktijk situatie gehuisvest zijn.**

6. Het ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd

**Het ongerief is door de onderzoeker ingeschat als licht. De DEC is van mening dat dit een realistische inschatting is. Er is gediscussieerd hoe het ongerief van de neusswab zich verhoudt tot het inbrengen van een naald. De DEC schat op basis van de binnen de DEC**

**aanwezige expertise in dat het diep in de neus tot in de nasopharynx nemen van een neusswab minimaal evenveel ongerief met zich brengt als het inbrengen van een naald.**

7. Er zijn geen methoden die de voorgestelde dierproeven geheel of gedeeltelijk zouden kunnen vervangen.

**Om inzicht te krijgen in de effectiviteit van de voorgestelde interventies is het gebruik van kalveren essentieel. De DEC is ervan overtuigd dat de wijze van inrichten van deze experimenten elegant gebruik maakt van doeldieren in hun natuurlijke omgeving, waardoor de eventuele werking van de interventies geen translatieslag meer nodig heeft.**

8. In het project wordt optimaal tegemoet gekomen aan de vereiste van de **vermindering** van dierproeven. Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. De aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om, bij wettelijk vereist onderzoek, te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt.

**De onderzoeker heeft de DEC na het beantwoorden van vraag 10 er van overtuigd dat ongeacht van de locatie, ieder experiment opnieuw ontworpen zal worden op een manier waarbij zo min mogelijk dieren zullen worden ingezet. De DEC is er ook van overtuigd dat de keuzes voor de interventies die daadwerkelijk zullen worden onderzocht in de voorgestelde experimenten gebaseerd zijn op wetenschappelijke kennis en praktijk gerichte mogelijkheden.**

9. Het project is in overeenstemming met de vereiste van de **verfijning** van dierproeven en het project is zo opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Er is geen sprake van belangwekkende milieueffecten



**De DEC is van mening dat het project in overeenstemming is met de vereisten ten aanzien van de verfijning van dierproeven. Door slachtkalveren te gebruiken, die toch al aanwezig zijn op een IKB gecertificeerd bedrijf, laten de onderzoekers zien, oog te hebben voor het op efficiënte wijze gebruiken van dieren in een zo optimaal mogelijk stalconditie. Daarnaast is door een nauwe samenwerking met de dierenarts verzekerd dat de dieren zo min mogelijk lijden door dieren geen behandeling te ontzeggen, maar gewoon de veterinaire zorg te bieden die ze nodig hebben.**

10. De niet-technische samenvatting is een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd

**De DEC is van mening dat de NTS een goede weergave is van het project.**

## **D. Ethische afweging**

De doeleinden van het project rechtvaardigen het voorgestelde gebruik van dieren (niet), de schade in de vorm van lijden, pijn en angst bij dit aantal dieren wordt (niet) gerechtvaardigd door het verwachte resultaat. Het is uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord en het is waarschijnlijk dat de doeleinden worden gehaald. Op termijn kan het project (geen) voordelen opleveren voor mens, dier of milieu

**Op grond van de onder C genoemde overwegingen is de DEC unaniem van mening dat het belang van de doelstelling opweegt tegen het ongerief aan de dieren. Het belang, namelijk inzicht in de beïnvloeding van het nasopharyngeaal microbioom door middel van voedingsinterventies bestaande uit koemelk componenten, breed-spectrum additieven en een mix van etherische oliën en neussprays bestaande uit een bacteriecultuur of een mix van etherische oliën om uiteindelijk de respiratoire gezondheid van vleeskalveren te verbeteren,**

**kalversterfte te verminderen en mogelijk het antibiotica gebruik terug te dringen, weegt naar mening van de DEC zwaarder dan het ongerief, bijna uitsluitend bestaande uit diepe neusswabs. Deze neusswabs bij maximaal 200 vleeskalveren per experiment zijn naar verwachting voor het dier onaangenaam en leiden cumulatief tot licht ongerief, maar het is kortdurend. Daarnaast is de DEC ervan overtuigd dat de onderzoeker een goede onderzoeksstrategie heeft om steeds op basis van nieuwe inzichten een nieuw experiment te starten. Dit alles brengt de DEC tot het oordeel dat het gebruik van de dieren in dit project gerechtvaardigd is.**

## **E. Advies**

### 1. Advies aan de CCD

- De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:
  - De vaststelling dat het project niet vergunning plichtig is
  - De volgende doorslaggevende ethische bezwaren
  - De volgende tekortkomingen in de aanvraag
- De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden
  - Op grond van het wettelijk vereiste dient de projectleider bij beëindiging van het project een beoordeling achteraf aan te leveren die is afgestemd met de IvD.
  - Voor de uitvoering van dit project is tevens een ministeriële ontheffing vereist
- X Overige door de DEC aan de uitvoering verbonden voorwaarden

X De DEC adviseert de vergunning te verlenen

### 2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus of op een meerderheids-minderheidsstandpunt

**Het advies is gebaseerd op consensus.**

*Advies DEC-TNO*

## **Voorwaarde**

- 1 De onderzoeker dient bij elk onderzoek de onderbouwing van de keuze van de te gebruiken voedingsadditieven en of neussprays aan de IvD voor te leggen.**



## Melding Machtiging

- U kunt met dit formulier een machtiging afgeven of beëindigen.
- U machtigt een natuurlijk persoon (zoals een adviseur) of een rechtspersoon (zoals een BV, stichting, vereniging) om uw zaken voor u te behartigen. De machtiging is voor maximaal vijf jaar geldig.
- Meer informatie vindt u op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).

### 1 Gegevens aanvrager

- 1.1 Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.

Naam van de portefeuillehouder	[REDACTED]
KvK-nummer	27376655
NVWA deelnemernummer	50100

### 2 Gegevens gemachtigde

- 2.1 Vul één van deze nummers van de gemachtigde in: KvK-nummer, of Burgerservicenummer (BSN) Geef aan welk nummer u invult.

<input type="checkbox"/> KvK-nummer	[REDACTED]
<input checked="" type="checkbox"/> BSN	[REDACTED]

- 2.2 Wat zijn de gegevens van de gemachtigde?

Naam gemachtigde	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
Adres of postbus	Postbus 96800 2509 JE DEN HAAG	
Postcode en Plaats	2509 JE DEN HAAG	

### 3 Inhoud machtiging

- 3.1 Wilt u een nieuwe machtiging afgeven?  Ja > Geef bij vraag 3.3 aan wat de gemachtigde voor u mag doen.  
 Nee
- 3.2 Wilt u een machtiging intrekken?  Ja > Ga door naar vraag 4  
 Nee
- 3.3 Wat mag de gemachtigde voor u doen?
- Een projectvergunning aanvragen
  - Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
  - Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
  - Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift.
  - Alle bovenstaande opties

### 4 Ondertekening

- 4.1 Ondertekenen het formulier en stuur het als bijlage met uw aanvraag mee via de beveiligde e-mailverbinding of per post:
- Ik heb dit formulier volledig en naar waarheid ingevuld. Ik verklaar dat ik bekend ben met alle voorwaarden van wet en regelgeving (Wod, dierproevenbesluit en dierproevenregeling).

Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Naam gemachtigde

Datum

03 - 07 - 2015

Handtekening  
portefeuillehouder  
van de instelling

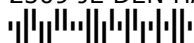
Handtekening  
gemachtigde



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Organisatie TNO

Postbus 96800  
2509 JE 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  
AVD501002015235

**Bijlagen**

2

Datum 01-09-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte heer/mevrouw

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 1 september 2015.

Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD501002015235. 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](http://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 plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

Naam: [REDACTED]  
Functie: Projectleider  
Afdeling: [REDACTED]  
Telefoonnummer: [REDACTED]  
E-mailadres: [REDACTED]

Gegevens gemachtigde

BSN: [REDACTED]  
Naam: [REDACTED]  
Postbus: 96800  
Postcode en plaats: 2509 JE Den Haag

Wilt u een nieuwe machtiging afgeven? Ja

Wat mag de gemachtigde doen?

- Een projectvergunning aanvragen
- Een wijziging op een verleende projectvergunning aanvragen
- Een melding doorgeven op een verleende projectvergunning
- Een bezwaarschrift indienen en daarover communiceren met de Centrale Commissie Dierproeven en alle andere handelingen verrichten die nodig zijn voor een goede afwikkeling van het bezwaarschrift
- Alle bovenstaande opties

**Over uw aanvraag**

Wat voor aanvraag doet u?

- Nieuwe aanvraag
- Wijziging op een (verleende) vergunning die negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn
- Melding op (verleende) vergunning die geen negatieve gevolgen kan hebben voor het dierenwelzijn

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 november 2015  
Geplande einddatum: 31 oktober 2020  
Titel project: Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren  
Titel niet-technische samenvatting: Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren  
Naam DEC: DEC-TNO  
Postadres DEC: 96800 2509 JE DEN HAAG  
E-mailadres DEC: [REDACTED]

**Betaalgegevens**

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

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:  Projectvoorstel  
 Beschrijving Dierproeven  
 Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:  Melding Machtiging  
 DEC-advies

**Ondertekening**

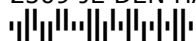
Naam: [REDACTED]  
Functie: Proefdierdeskundige  
Plaats: Den Haag  
Datum: 1 september 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Organisatie TNO

Postbus 96800  
2509 JE 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  
AVD501002015235

**Bijlagen**

2

Datum 01-09-2015

Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 1 september 2015

Vervaldatum: 1 oktober 2015

Factuurnummer: 201570235

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvegrunning dierproeven Betreft aanvraag AVD501002015235	€ 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.



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Organisatie TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



**Centrale Commissie  
Dierproeven**

Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

T 0900-28 000 28 (10 ct /min)

[info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD501002015235

Datum 14 september 2015

Betreft Aanvulling Aanvraag projectvergunning dierproeven

**Bijlagen**

1

Geachte heer/mevrouw,

Op 1 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren" met aanvraagnummer AVD501002015235. In uw aanvraag zitten voor ons nog enkele onduidelijkheden. In deze brief leest u wat wij nog nodig hebben en wanneer u een beslissing kunt verwachten.

**Welke informatie nog nodig**

Wij hebben de volgende informatie van u nodig om uw aanvraag verder te kunnen beoordelen:

**Niet technische samenvatting**

De niet technische samenvatting bij uw aanvraag bevat enkele moeilijke woorden, zoals pathogene micro-organismen; IKB regeling; samplen. Daarnaast is het aantal dieren ongeveer aangegeven, kunt u hier een exact of een maximum aantal aangeven. Ook is het ongerief niet geassocieerd in licht, matig, ernstig of terminaal.

Graag ontvangen wij een Niet technische samenvatting die voldoet aan de eisen. Deze eisen kunt u vinden op onze website [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).

**Beschrijving Dierproeven**

In de Beschrijving Dierproeven beschrijft u bij Vervanging, vermindering en verfijning dat er literatuuronderzoek is gedaan. Kunt u meer ingaan op de vervanging, vermindering en verfijning?

Graag ontvangen wij een Beschrijving Dierproeven die hierop is aangepast.

**Leges**

De leges die u verschuldigd bent zijn nog niet door ons ontvangen of de betaling is nog niet verwerkt. Uw aanvraag is niet compleet als de leges niet zijn ontvangen.

Zonder deze aanvullende informatie kan de beslissing nadelig voor u uitvallen omdat de gegevens onvolledig of onduidelijk zijn.

**Opsturen binnen veertien dagen**

Stuur de ontbrekende informatie binnen veertien dagen na de datum van deze brief op. U kunt dit aanleveren via NetFTP. Stuur u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

**Datum**

14 september 2015

**Onze referentie**

Aanvraagnummer  
AVD501002015235

**Wanneer een beslissing**

De behandeling van uw aanvraag wordt opgeschort tot het moment dat wij de aanvullende informatie hebben ontvangen. Uw aanvraag is in ieder geval niet compleet als de leges niet zijn ontvangen. Als u goedkeuring krijgt op uw aanvraag, kunt u daarna beginnen met het project.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlage:

- formulier Melding Bijlagen via de post



## Melding

### Bijlagen via de post

- U wilt één of meerdere bijlagen naar ons versturen? Voeg *altijd* deze Melding Bijlagen toe. Wij weten dan welke documenten van u zijn en hoeveel documenten u opstuurt.
- Meer informatie vindt u op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)
- Of bel met ons: 0900 28 000 28 (10 ct/min).

### 1 Uw gegevens

- 1.1 Vul de gegevens in.
- |                |  |            |
|----------------|--|------------|
| Naam aanvrager |  |            |
| Postcode       |  | Huisnummer |
- 1.2 Bij welke aanvraag hoort de bijlage?  
*Het aanvraagnummer staat in de brief of de ontvangstbevestiging.*
- |                |  |  |
|----------------|--|--|
| Aanvraagnummer |  |  |
|----------------|--|--|

### 2 Bijlagen

- 2.1 Welke bijlagen stuurt u mee?  
*Vul de naam of omschrijving van de bijlage in.*
- |                          |  |
|--------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |
| <input type="checkbox"/> |  |

### 3 Ondertekening

- 3.1 Onderteken het formulier en stuur het met alle bijlagen op naar:
- |              |   |      |
|--------------|---|------|
| Naam         |   |      |
| Datum        | - | - 20 |
| Handtekening |   |      |
- Centrale Commissie  
Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Retouradres: Postbus 360, 3700 AJ Zeist

Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500EK DEN HAAG



Utrechtseweg 48  
3704 HE Zeist  
Postbus 360  
3700 AJ Zeist

www.tno.nl

T +31 88 866 60 00

**Onderwerp**

Reactie op aanhouden beoordelen AVD501002015235

Geachte mevrouw [REDACTED]

Bijgevoegd treft u onze reactie op uw schrijven van 14 september jl. tav enkele onduidelijkheden in aanvraag AVD501002015235.

1. Niet technische samenvatting: Wij hebben de moeilijke woorden vervangen, het aantal dieren voor de looptijd van het project gewijzigd van 'ongeveer 1200' naar 'maximaal 1200', en de classificatie van het ongerief aangegeven als 'licht'.
2. In de beschrijving dierproeven hebben wij de wijze waarop wij in dit project de 3V's toepassen, duidelijker verwoord. In onderstaande alinea ziet u in rood de wijzigingen die in de Bijlage Dierproeven zijn aangebracht.

**Vanwege de complexe interactie tussen gastheer en microbiota is onderzoek in een vleeskalf noodzakelijk.** De kalveren die in deze studie worden meegenomen, volgen een normaal mestschema en zullen na afloop hiervan worden geslacht, net als reguliere vleeskalveren die geen onderdeel zijn van deze studie. Er worden dus géén dieren specifiek voor het uitvoeren van deze studie gebruikt, **waardoor optimaal aan vermindering wordt gedaan.**

De betrokken partij uit de vleeskalverenindustrie is zeer goed thuis in het werk wat is uitgevoerd aan kalvergezondheid. De reden voor de aangevraagde studie is het gebrek aan kennis op het gebied van studies naar verbeterde respiratoire gezondheid bij deze partij. Een literatuurstudie laat zien dat er zeer weinig literatuur beschikbaar is over respiratoire gezondheid van kalveren. De literatuur die wel beschikbaar is, is gericht op respiratoire aandoeningen in kalveren (zie bijv. het proefschrift van Bart Pardon, 2012, Universiteit van Gent) maar niet op het verbeteren van respiratoire gezondheid van kalveren door middel van voedingsinterventies. **In tegenstelling tot deze studies naar respiratoire aandoeningen richt onze studie zich niet op behandeling middels**

**Datum**

22 september 2015

**Onze referentie**

AVD501002015235

**E-mail**

[REDACTED]

**Doorkiesnummer**

[REDACTED]

**Bijlage(n)**

2

**Kopie aan**

[REDACTED]

Op opdrachten aan TNO zijn de Algemene Voorwaarden voor opdrachten aan TNO, zoals gedeponeerd bij de Griffie van de Rechtbank Den Haag en de Kamer van Koophandel Den Haag van toepassing. Deze algemene voorwaarden kunt u tevens vinden op [www.tno.nl](http://www.tno.nl). Op verzoek zenden wij u deze toe.

Handelsregisternummer 27376655.

**Datum**

22 september 2015

**Onze referentie**

AVD501002015235

**Blad**

2/2

antibiotica, maar juist op de veel minder invasieve methode van voedingsinterventie. De wijze van monstername in de hier voorgestelde studies is vrijwel niet invasief (neusswab, feces). Wanneer bepalingen in bloed nodig zijn worden deze uitgevoerd op monsters, die ten behoeve van de reguliere monstername in opfokbedrijven nodig is. Aldus wordt maximaal aan verfijning in te gebruiken technieken gedaan.

Wij hopen dat wij hiermee de vragen van de CCD naar tevredenheid hebben beantwoord.

Hoogachtend



Animal Welfare Officer



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

#### 1 Algemene gegevens

- 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.
- 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.
- 1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in.
- | Volgnummer | Type dierproef  |
|------------|---|
| 1          | Het nemen van neusholte samples ter identificatie van de microbiële samenstelling van het nasopharyngeaal microbioom. |
- Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.*

#### 2 Beschrijving dierproeven

##### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Het doel van de studie is het onderzoeken of door middel van voedingsinterventies en toediening van neussprays, het mogelijk is om het nasopharyngeaal microbioom te beïnvloeden en daarmee een positief effect op de respiratoire gezondheid van vleeskalveren te bereiken. Door de wijze waarop vleeskalveren worden gemest, is het goed mogelijk om individuele voedingsinterventies uit te voeren binnen de kaders en richtlijnen van de reguliere vleeskalverhouderij. Er is voor deze studie daarom gekozen om gebruik te maken van reguliere vleeskalveren zodat de proefdiersoort gelijk is aan de diersoort waar de interventie voor bedoeld is. Omdat de respiratoire gezondheid een directe weerslag op de algemene gezondheid van de kalveren heeft, zal de algehele gezondheid van de vleeskalveren worden gemonitord volgens de normale richtlijnen voor vleeskalveren. Daarnaast zal ook de samenstelling van het nasopharyngeaal microbioom worden bepaald. Hiervoor zullen nasopharyngeale swabs worden genomen van de kalveren. Uit die swabs wordt DNA geëxtraheerd waarna de microbiële

samenstelling bepaald wordt door middel van 16S amplicon sequencing (een methode waarbij de bacteriële diversiteit van een sample bepaald wordt door het uitlezen van de in dat sample aanwezige 'barcodes', de ribosomale 16S sequenties). Omdat darmgezondheid ook veel in verband wordt gebracht met gezondheid en er voedingsadditieven worden gebruikt die uiteindelijk ook in de darm terecht komen, zullen ook fecale swabs worden genomen die eveneens door middel van 16S amplicon sequencing geanalyseerd zullen worden. De algehele gezondheidsparameters en de samenstelling van het nasopharyngeale microbiom worden vervolgens gekoppeld om een eventueel verband tussen voedingsinterventies of het toedienen van neussprays, de samenstelling van het nasopharyngeale en darm microbiom en de algehele gezondheid van de kalveren te bepalen.

---

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

---

Een representatief voorbeeld van de proefopzet is de planning voor het eerste experiment.

In deze eerste proef zullen tweehonderd (200) kalveren worden gehuisvest in vijf groepen, verdeeld over vier gescheiden afdelingen.

De kalveren worden onder reguliere omstandigheden op een regulier vleeskalverbedrijf gehuisvest. In vervollexperimenten zou kunnen worden uitgeweken naar andere reguliere vleeskalverhouderijen. Een ander bedrijf zou gevolgen kunnen hebben op het aantal dieren en de indeling van de dieren in afdelingen. Op het bedrijf waar de eerste proef plaats zal vinden en tevens op elk ander bedrijf wat gebruikt zou kunnen worden, worden de voorschriften volgens de regeling 'IKB vleeskalveren' nageleefd. De IKB regeling (<http://www.ikbvleeskalveren.nl/site/Vleeskalveren-blank/IKB-regeling/9>) is het kwaliteitsbeheersingssysteem van de Nederlandse kalverhouderij en omvat eisen die strenger zijn dan de wettelijke eisen voor huisvesting van vleeskalveren. Elke groep krijgt naast gemeen ruw voer een eigen melk gebaseerde en per dier individueel toegediende voeding, al dan niet aangevuld met een dagelijks toegediende neusspray bestaande uit een bacteriecultuur of een mix van etherische oliën. De variaties in het individueel toegediende voer bestaan uit variaties van geregistreerde en toegelaten voedingsadditieven. De verschillende kalvergroepen zullen worden gevolgd in de tijd door de standaard metingen die gebruikelijk zijn in de reguliere kalverhouderij (wegingen, diarreescore, verteringscore, bloedanalyse, bijhouden van eventuele uitval en individuele veterinaire handelingen). De melk gebaseerde voeding met de variaties aan voedingsadditieven wordt individueel toegediend waardoor het mogelijk is om overgebleven voer terug te wegen en de intake per dier additief te bepalen. Van belang voor deze projectaanvraag is dat daarnaast ook maximaal 7 nasopharyngeale en fecale swabs van elk dier worden afgenomen gedurende een periode van 27 weken op het mestbedrijf voor het bepalen van de nasopharyngeale en fecale microbiomsamenstelling. Het nemen van de nasopharyngeale swabs vindt plaats door de swab via de neus in te brengen tot de nasopharyngeale holte, wat inhoudt dat de swab ongeveer tot een diepte ter hoogte van het oog wordt ingebracht. Voor het nemen van fecale swabs is een diepe penetratie niet noodzakelijk. Alle samples voor de dierproef zullen worden genomen door bevoegd en getraind personeel wat in eerdere studies heeft bewezen de samples te kunnen nemen met minimale impact op de dieren.

In eventuele vervollexperimenten zal de indeling in groepen kunnen afwijken van bovenstaand schema, samples zullen echter op vergelijkbare wijze en frequentie worden genomen en geanalyseerd.

Het effect van de verschillende voedingsadditieven en neussprays zal worden bepaald aan de hand van de algehele gezondheid van de kalveren en de samenstelling van het fecale microbiom, maar met name het nasopharyngeale microbiom. De algehele gezondheid zal worden beoordeeld door de behandelende dierenarts en het verzorgend personeel aan de hand van de standaard parameters (Gewicht, diarree, vertering, en veterinaire behandelingen. Uitval zal ook worden bijgehouden, maar dit zal niet als uitlees-parameter worden gehanteerd). Daarnaast zal ook de uitlezing van de microbiota, met name het nasopharyngeale microbiom een beeld geven van de gezondheid van de kalveren. Beide metingen zullen worden gecombineerd om een verband tussen voedingsinterventies, gezondheid en het nasopharyngeale microbiom te identificeren.

---

Als er kalveren ziek worden zal de behandelend dierenarts besluiten tot behandeling van zieke dieren conform de normale aanpak binnen de kalverhouderij.

---

Dit houdt in dat afhankelijk van de symptomen, verschillende behandelingen mogelijk zijn, zoals bijvoorbeeld het toedienen van aspirine tegen koorts, extra vitamine C om de weerstand te verbeteren, lijnzaadolie om de vertering te verbeteren, of het toedienen van antibiotica. Behandeling van zieke dieren is onderdeel van de reguliere veehouderij en vormt dus géén onderdeel van deze dierproef. De reden om deze informatie hier toe te voegen is dat het gebruik van antibiotica invloed kan hebben op de onderzochte parameters. Afhankelijk van het aantal zieke dieren per testgroep (elke testgroep wordt beschouwd als een apart koppel) wordt besloten om alleen de zieke dieren te behandelen of de gehele testgroep. In eerste instantie worden alleen individuele dieren behandeld, tenzij 10% van de testgroep in vijf voorafgaande dagen is behandeld of er 4% ziekteverval is in de laatste 24 uur, in dat geval wordt de gehele testgroep behandeld met antibiotica.

---

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

Eerder werk heeft uitgewezen dat het uitlezen van het nasopharyngeale microbioom bij 15 dieren per bedrijf op 8 bedrijven, aangevuld met 30 fokkalveren op 1 bedrijf, voldoende informatie oplevert voor een goede uitlezing van de microbiële dynamiek in de nasopharynx. In het huidige experiment wordt gekeken naar het nasopharyngeale microbioom in relatie tot algehele gezondheid en groei van de vleeskalveren. De beoordeling van de gezondheid en kwaliteit van vleeskalveren en daarmee het effect van de interventies in deze studie vindt plaats op basis van meerdere parameters die standaard in de praktijk worden gemeten (individuele veterinaire behandelingen, verteringsscore, voedingsconversie en geslacht gewicht). Eerdere ervaringen van de betrokken kalverhouderij hebben uitgewezen dat de benodigde groepsgrootte voor een significante uitlezing van deze parameters ( $\Delta x = 2; 1,5; 0,1; 6$ , respectievelijk) varieert van 31-42 dieren. Vanwege de beschikbare ruimte in de stal (ruimte voor 200 kalveren) is besloten om voor de eerste proef gebruik te maken van 5 groepen van 40 dieren elk. In latere experimenten zal een vergelijkbare groepsgrootte worden gehanteerd.

Per experiment zijn twee controlegroepen inbegrepen om een goede vergelijking te kunnen doen: een controlegroep die standaard voer krijgt wat gebruikt wordt in de reguliere kalverhouderij (de basis controle) en een controlegroep die een rijk dieet krijgt waarvan bekend is dat het een positief effect heeft op de groei en gezondheid van de kalveren, maar te duur is voor standaard gebruik in de praktijk (positieve controle). Naast de controlegroepen worden ook testgroepen meegenomen, het exacte aantal hiervan hangt af van de hoeveelheid te testen additieven en de beschikbare ruimte op het proefbedrijf. In de eerstvolgende studie worden drie testgroepen meegenomen. Vanwege de beschikbare ruimte (ruimte voor 200 kalveren) in de stal van het proefbedrijf waar de eerste proef gepland is, is besloten om gebruik te maken van 5 groepen van 40 dieren elk.

De verdeling van de dieren over de testgroepen gebeurt door de dieren bij binnenkomst op het proefbedrijf random te verdelen over de testgroepen. De ervaring van de betrokken kalverhouderij is dat het effect van het melkveebedrijf van de kalveren sterker is dan het effect van het opvangcentrum en transport. Daarom is er besloten geen gebruik te maken van een block design bij de indeling van de kalveren over de stal. Voorafgaand aan het experiment kan er nog een herverdeling van de dieren plaatsvinden op basis van het opzetgewicht en het Hb-gehalte zodat de testgroepen zo evenredig mogelijk verdeeld zijn over de groepen.

De indeling in de drie testgroepen voor de eerste proef is gebaseerd op de aard van de additieven (1: twee op melk gebaseerde componenten, 2: vijf additieven zoals bijv. prebiotica in combinatie met een neusspray van een bacteriecultuur, en 3: een mix van etherische oliën, zowel toegediend via de melk als via een neusspray). Afhankelijk van de resultaten zal voor latere proeven besloten worden welke groep(en) van ingrediënten verder onderzocht zal/zullen worden door de additieven uit te splitsen en/of te combineren of op andere wijze te optimaliseren. Hierbij kan gedacht worden aan optimale dosering, de optimale periode waarin de interventie wordt gegeven en de optimale toedieningsroute in praktijksituaties.

Uitval van vleeskalveren komt in vrijwel elke mestperiode voor en lijkt grotendeels afhankelijk van de oorsprong van de kalveren. Door de milde aard van de handelingen binnen de dierproef is niet te verwachten dat deze interventies voor een hogere uitval zorgen. Gebaseerd op eerdere ervaringen (van de betrokken kalverhouderij) is het verwachte uitvalspercentage ~5%, waardoor niet wordt verwacht dat normale uitval tot problemen gaat leiden voor de groepsgrootte.

## B. De dieren

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

De proefdiersoort is gelijk aan de diersoort waar de maatregelen uiteindelijk voor bedoeld zijn: reguliere vleeskalveren. De dieren in deze studie zijn standaard stierkalveren die afkomstig zijn van verschillende melkveebedrijven. De exacte oorsprong en ras is op moment van aanvraag nog niet bekend, dit is afhankelijk van de beschikbaarheid van kalveren op de aangesloten bedrijven. Er is gekozen voor het gebruik van stierkalveren omdat deze de bulk vormen van de gebruikte vleeskalveren. Hoewel dit afwijkt van de praktijk, waar een klein deel (max. 15%) van de vleeskalveren bestaat uit vaarskalveren, is er gekozen om alleen stierkalveren te gebruiken binnen deze studie om de variatie zo klein mogelijk te houden en daarmee het benodigde aantal dieren zo laag mogelijk te houden. Vaarskalveren die onder normale omstandigheden op dit bedrijf terecht zouden komen, worden nu verspreid over andere praktijk bedrijven en blijven dus niet over, maar volgen het normale mest-regime. De kalveren komen op een leeftijd van 2-3 weken aan op het bedrijf waar de dieren gedurende deze studie gehuisvest worden. Bij aankomst zullen de dieren random verdeeld worden over de verschillende proefgroepen zoals beschreven in sectie 'A' van deze bijlage. Gemeten vanaf het moment van aankomst zullen de kalveren gedurende een periode van 27 weken op dit bedrijf gehuisvest worden, waarna de normale slachtprocedure gevolgd zal worden.

Vanwege de looptijd van één studie (ongeveer een half jaar) en de bijbehorende voorbereidingen en uitwerkingen, wordt geschat dat per jaar een gemiddelde van 1 tot 1,5 studies kan worden uitgevoerd. Om de vervolgvragen omtrent de gehele studie te kunnen beantwoorden, wordt geschat dat er 6-8 studies noodzakelijk zijn. Dit zou de maximale projectperiode van 5 jaar kunnen overschrijden. Voor de eerste 5 jaar van dit project schatten wij derhalve in ongeveer 1200 (het equivalent van 6 studies) kalveren te gebruiken.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vanwege de complexe interactie tussen gastheer en microbiota is onderzoek in een vleeskalf noodzakelijk. De kalveren die in deze studie worden meegenomen, volgen een normaal mestschema en zullen na afloop hiervan worden geslacht, net als reguliere vleeskalveren die geen onderdeel zijn van deze studie. Er worden dus géén dieren specifiek voor het uitvoeren van deze studie gebruikt, waardoor optimaal aan vermindering wordt gedaan.

De betrokken partij uit de vleeskalverenindustrie is zeer goed thuis in het werk wat is uitgevoerd aan kalvergezondheid. De reden voor de aangevraagde studie is het gebrek aan kennis op het gebied van studies naar verbeterde respiratoire gezondheid bij deze partij. Een literatuurstudie laat zien dat er zeer weinig literatuur beschikbaar is over respiratoire gezondheid van kalveren. De literatuur die wel beschikbaar is, is gericht op respiratoire aandoeningen in kalveren (zie bijv. het proefschrift van Bart Pardon, 2012, Universiteit van Gent) maar niet op het verbeteren van respiratoire gezondheid van kalveren door

middel van voedingsinterventies. In tegenstelling tot deze studies naar respiratoire aandoeningen richt onze studie zich niet op behandeling middels antibiotica, maar juist op de veel minder invasieve methode van voedingsinterventie. De wijze van monsternamen in de hier voorgestelde studies is vrijwel niet invasief (neusswab, feces). Wanneer bepalingen in bloed nodig zijn worden deze uitgevoerd op monsters, die ten behoeve van de reguliere monsternamen in opfokbedrijven nodig is. Aldus wordt maximaal aan verfijning in te gebruiken technieken gedaan.

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

Het nemen van de diepe neus (nasopharyngeale) swabs resulteert in minimaal ongerief bij de kalveren en worden bovendien uitgevoerd door bevoegd en goed opgeleid personeel met veel ervaring op dit gebied. Hetzelfde personeel neemt ook de fecale swabs, wat door de minimale invasieve handeling nog minder ongerief veroorzaakt bij de dieren.

## Herhaling en duplicering

### E. Herhaling

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

Bij de betrokken kalverhouderij is geen kennis van vergelijkbare dierproeven die zijn uitgevoerd in de sector. Het enige bekende werk is het eerdere, preliminair onderzoek naar het effect van de additieven en neussprays waarbij nu wordt gezocht naar een link met het nasopharyngeaal microbiom en gezondheid

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

Vanwege de opzet van de studie in een praktijk setting (een regulier vleeskalverenbedrijf wat is aangesloten bij SKV), worden de dieren gehuisvest en behandeld als alle reguliere vleeskalveren zoals vastgelegd in de regeling IKB vleeskalveren, welke strengere eisen heeft ten aanzien van huisvesting en behandeling dan de wettelijk verplichte regels.

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

Dit betreft een commercieel praktijkbedrijf voor vleeskalveren.

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

Het gekozen proefbedrijf is aangesloten bij SKV en voldoet aan de eisen van de regeling IKB vleeskalveren en voldoet daarmee ruim aan alle wettelijke eisen voor huisvesting en behandeling. Historisch gezien is dit proefbedrijf een bedrijf wat laag zit in het aandeel afgekeurd vlees, lever en nieren, wat een

indicatie is voor goede zorg van de dieren. De dierproefhandelingen worden uitgevoerd door bevoegd personeel met veel ervaring op dit gebied.  
Als extra controle op de respiratoire gezondheid van de dieren zal bij de slacht (dus ná afloop van de dierproef) gelet worden op de kwaliteit van de longen.

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Ja > Geef dan aan welke pijnverlichtingsmethoden worden toegepast en op welke wijze wordt verzekerd dat dit op een optimale wijze gebeurt.

### I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

De dieren worden gehuisvest en behandeld als elk ander vleeskalf. Andere vormen van welzijnsaantasting dan het nemen van de nasopharyngeale swabs of het nemen van fecale swabs worden in het kader van dit project daarom niet voorzien.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

Niet van toepassing.

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

Niet van toepassing

### J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Indien er volgens de behandelend dierenarts sprake is van ondraaglijk leed of sprake is van een uitzichtloze situatie kan de behandelend dierenarts besluiten tot euthanasie van het betreffende dier. Dit zal verlopen zoals bij elk ander regulier vleeskalver bedrijf. De verwachting is dat de dierproef geen invloed zal hebben op het aantal dieren waarop euthanasie gepleegd zal moeten worden.

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

Op basis van historische ervaringen binnen dit bedrijf is de verwachting dat een totaal van ~5% van de dieren gedurende de looptijd van het experiment zal uitvallen. Hierbij dient aangetekend te worden dat wellicht niet al deze dieren geëuthaniseerd zullen worden, een gedeelte zal ook zonder menselijk ingrijpen kunnen overlijden.

De behandelend dierenarts zal indien mogelijk, altijd voor kiezen om een ziek dier te behandelen volgens de normale praktijk behandelingen, euthanasie is slechts de laatste uitweg. Het welzijn van de dieren zal worden geborgd als elk ander vleeskalf dat wordt gemest op een bedrijf welke voldoet aan de IKB certificering.

#### **K. Classificatie van ongerief**

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

Het ongerief van de dieren wordt geclassificeerd als 'licht' door het diepe inbrengen van swabs via de neus om de nasopharyngeale monsters te kunnen nemen. Het nemen van fecale swabs resulteert in zulk minimaal ongerief dat dit ongerief wegvalt bij het nemen van de nasopharyngeale swabs.

### **Einde experiment**

#### **L. Wijze van doden**

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

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

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Organisatie TNO

Postbus 96800  
2509 JE 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  
AVD501002015235  
**Bijlagen**  
2

Datum 01-09-2015  
Betreft Ontvangstbevestiging Aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**

Factuurdatum: 1 september 2015  
Vervaldatum: 1 oktober 2015  
Factuurnummer: 201570235 / 31001174481

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvegrunning dierproeven Betreft aanvraag AVD501002015235	€ 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.





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

TNO

Postbus 96800

2509 JE DEN HAAG



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

**Onze referentie**  
Aanvraagnummer  
AVD501002015235

12 OKT 2015

Datum

Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 1 september 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren" met aanvraagnummer AVD501002015235. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 24 september 2015 heeft u uw aanvraag aangevuld. Dit betrof aanpassing van de NTS en uitwerking van de 3 V's.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). Hierbij gelden de voorwaarden zoals genoemd in de vergunning. De algemene voorwaarde betreffende artikel 10, lid 1a van de wet wordt gesteld bij vergunningen met een langere looptijd. Dit om te voldoen aan datgene wat volgt uit dit artikel. U kunt met uw project "Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 november 2015 tot en met 31 oktober 2020.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC-TNO gevoegd. Dit advies is opgesteld op 1 september 2015. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. De CCD stelt wel algemene voorwaarden aan dit project. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering.

Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

**Bezwaar**

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

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

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

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

Voor de behandeling van een voorlopige voorziening is griffierecht verschuldigd. Op

<http://www.rechtspraak.nl/Organisatie/Rechtbanken/Pages/default.aspx> kunt u zien onder welke rechtbank de vestigingsplaats van de aanvrager valt.

**Meer informatie**

Heeft u vragen, kijk dan op [www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze:



ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

**Bijlagen:**

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

## **Projectvergunning**

### **gelet op artikel 10a van de Wet op de Dierproeven**

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: TNO  
Adres: Postbus 96800  
Postcode en plaats: 2509 JE DEN HAAG  
Deelnemersnummer: 50100

deze projectvergunning voor het tijdvak 01 november 2015 tot en met 31 oktober 2020, voor het project "Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren" met aanvraagnummer AVD501002015235, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC-TNO.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 1 september 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 1 september 2015;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 24 september 2015;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 1 september 2015, ontvangen op 1 september 2015.
  - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 24 september 2015

<b>Naam proef</b>	<b>Diersoort/ Stam</b>	<b>Aantal dieren</b>	<b>Ernst</b>	<b>Opmerkingen</b>
Het nemen van neusholte samples ter identificatie van de microbiële samenstelling van het nasopharyngeaal microbiom	Runderen (Bos taurus) / reguliere (stier)vleeskalveren, 2-3 weken oud	1200	Licht / mild	

### **Voorwaarden**

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

De onderzoeker dient bij elk onderzoek de onderbouwing van de keuze van de te gebruiken voedingsadditieven en of neussprays

aan de IvD voor te leggen.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is. Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

# Weergave wet- en regelgeving

## **Dit project en wijzigingen**

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

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

## **Verzorging**

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

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

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

## **Pijnbestrijding en verdoving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdoving wordt uitgevoerd tenzij dat niet mogelijk is, dan wel bij het verrichten van een dierproef worden pijnstillers toegediend of andere goede methoden gebruikt die de pijn, het lijden, de angst of de blijvende schade bij het dier tot een minimum beperken. Een dierproef die bij het dier gepaard gaat met zwaar letsel dat hevige pijn kan veroorzaken, wordt niet zonder verdoving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdoving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdoving onverenigbaar is met het doel van de dierproef. Bij een dier wordt geen stof toegediend waardoor het dier

niet meer of slechts in verminderde mate in staat is pijn te tonen, wanneer het dier niet tegelijkertijd voldoende verdoving of pijnstilling krijgt toegediend, tenzij wetenschappelijk gemotiveerd. Dieren die pijn kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

#### **Einde van een dierproef**

Artikel 13a van de wet bepaalt dat een dierproef is afgelopen wanneer voor die dierproef geen verdere waarnemingen hoeven te worden verricht of, voor wat betreft nieuwe genetisch gemodificeerde dierenlijnen, wanneer bij de nakomelingen niet evenveel of meer pijn, lijden, angst, of blijvende schade wordt waargenomen of verwacht dan bij het inbrengen van een naald. Er wordt dan door een dierenarts of een andere ter zake deskundige beslist of het dier in leven zal worden gehouden. Een dier wordt gedood als aannemelijk is dat het een matige of ernstige vorm van pijn, lijden, angst of blijvende schade 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 13d volgt dat het doden van dieren door een deskundig persoon moet worden gedaan, wat zo min mogelijk pijn, lijden en angst met zich meebrengt. De methode om te doden is vastgesteld in de Europese richtlijn artikel 6.

In artikel 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.

De Minister heeft vrijstelling ontheffing verleend volgens artikel 13c, die de afwijkende methode van doden op basis van wetenschappelijke motivering ten minste even humaan acht als de in de richtlijn opgenomen passende methoden.

#### **Locatie**

De vergunning wordt verleend voor een project waarbij dierproeven geheel of gedeeltelijk worden verricht buiten een inrichting van een gebruiker (artikel 10g van de wet).

**Van:** Info-zbo  
**Verzonden:** vrijdag 16 oktober 2015 11:00  
**Aan:** [REDACTED]  
**Onderwerp:** Terugkoppeling over projectvergunningaanvraag AVD501002015235

Geachte DEC-TNO,

Op 1 september 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project "Bevorderen respiratoire gezondheid van vleeskalveren" met aanvraagnummer AVD501002015235.

De CCD heeft de aanvrager aanvullende vragen gesteld.

Dit betrof de NTS, m.b.t. moeilijke woorden (zoals pathogene micro-organismen; IKB regeling; samplen), het aantal dieren (hier stond 'ongeveer', maar er moet een exact, eventueel maximum, aantal genoemd worden) en het ongerief was niet geclassificeerd in lucht, matig, ernstig of terminaal.

Daarnaast stond in de Beschrijving Dierproeven bij Vervanging, vermindering en verfijning dat er literatuuronderzoek is gedaan. Er is verzocht meer in te gaan op de vervanging, vermindering en verfijning.

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

De vergunning wordt verleend onder de volgende voorwaarden:

De onderzoeker dient bij elk onderzoek de onderbouwing van de keuze van de te gebruiken voedingsadditieven en of neussprays aan de IvD voor te leggen.

In artikel 10, lid 1a van de wet, wordt bepaald dat het verboden is een dierproef te verrichten voor een doel dat, naar de algemeen kenbare, onder deskundigen heersende opvatting, ook kan worden bereikt anders dan door middel van een dierproef, of door middel van een dierproef waarbij minder dieren kunnen worden gebruikt of minder ongerief wordt berokkend dan bij de in het geding zijnde proef het geval is.

Nieuwe onderzoeken naar alternatieven kunnen tot gevolg hebben dat inzichten en/of omstandigheden van het aangevraagde project in de vergunningsperiode wijzigen, gedurende de looptijd van deze vergunning. Indien bovenstaande zich voordoet dient aanvrager dit in overleg met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarden wijzigen of intrekken.

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

**Let op: vanaf nu heeft de CCD een nieuw e-mailadres [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl). Heeft u ons oude e-mail adres in uw adressenboek, dan vragen we u om dat aan te passen.**

Met vriendelijke groeten,  
**Centrale Commissie Dierproeven**  
[www.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl)

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

T: 0900 – 28 000 28 (10 ct/min)

E: [info@zbo-ccd.nl](mailto:info@zbo-ccd.nl)