

Inventaris Wob-verzoek W16-11S									
		wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
	<b>NTS2015330</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	Ontvangstbevestiging				x		x	x	
7	Advies CCD		x						x
8	Beschikking en vergunning				x		x	x	
9	Mail terugkoppeling DEC 26-2-2016				x		x	x	

23 DEC 2015



Centrale Commissie Dierproeven

AVD 40100 2015 330

**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? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in	40100
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen	
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	Naam instelling of organisatie	Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek
		Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]
		KvK-nummer	908104
1.3	Vul de gegevens van het postadres in. <i>Alle correspondentie van de CCD gaat naar de portefeuillehouder of diens gemachtigde en de verantwoordelijke onderzoeker.</i>	Straat en huisnummer	Akkermaalsbos 12
		Postbus	59
		Postcode en plaats	6700AB Wageningen
		IBAN	NL10RABO0397066465
		Tenaamstelling van het rekeningnummer	Wageningen UR
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted] <input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.
		Functie	Onderzoeker
		Afdeling	[Redacted]
		Telefoonnummer	[Redacted]
		E-mailadres	[Redacted]
1.5	<i>(Optioneel)</i> 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	[Redacted]
		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 |  | <input type="checkbox"/> Dhr. <input type="checkbox"/> Mw. |
| Functie                     |  |  |
| Afdeling                    |  |  |
| Telefoonnummer              |  |  |
| E-mailadres                 |  |  |
- 1.7 Is er voor deze projectaanvraag een gemachtigde?
- Ja > *Stuur dan het ingevulde formulier Melding Machtiging mee met deze aanvraag*
- Nee

## 2 Over uw aanvraag

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

## 3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- |            |                |
|------------|----------------|
| Startdatum | 14 - 2 - 2016  |
| Einddatum  | 31 - 12 - 2016 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijkomstandigheden
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Bevestigen van nieuwe meetmethoden voor darmgezondheid van varkens onder praktijkomstandigheden
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- |             |  |
|-------------|--|
| Naam DEC    | DEC Wageningen UR                        |
| Postadres   | Droevendaalsesteeg 4, 6708 PB Wageningen |
| E-mailadres | dec@wur.nl                               |

## 4 Betaalgegevens


- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 468 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
 Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*


## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel + 1 bijlage  
 Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging  
 bestelorder WUR 921845

## 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 

Plaats Wageningen

Datum 21 - 12 - 2015

Handtekening 





## Format

### Projectvoorstel dierproeven

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

#### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.

40100

1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.

Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek

1.3 Vul de titel van het project in.

Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijk omstandigheden

## 2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

- Fundamenteel onderzoek  
 Translationeel of toegepast onderzoek

*U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.*

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

Let op! De verplichte bijlagen verschillen per categorie.

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.

### Doel

Het doel van het onderzoek is om darm-gerelateerde biomarkers voor immuun-competentie te bevestigen onder praktijkomstandigheden.

## **Aanleiding**

Het overkoepelende project waartoe deze aanvraag behoort, richt zich op het verminderen van het antibioticagebruik in de veehouderij door de weerstand en de algemene (darm-)gezondheid van landbouwhuisdieren te verhogen. Voeding of voedingsadditieven kunnen een belangrijke bijdrage leveren aan de ontwikkeling en het in stand houden van een goed functionerend maagdarmkanaal bij landbouwhuisdieren. Hierdoor dragen ze bij aan een betere weerstand tegen ziekteverwekkers en andere stressoren en verbeteren zo de gezondheidsstatus van deze dieren. Dit kan vervolgens leiden tot een reductie van het antibioticumgebruik in de veehouderij. De focus van dit onderzoek ligt op het ontwikkelen van innovatieve meettechnieken om het effect van gezondheid bevorderende voeding en voedingsadditieven op het gebied van darmgezondheid en immuniteit te kunnen meten. In het project staan de interacties in de darm tussen voedingsingrediënten, de aanwezige darmflora (microbiota) en de darmcellen van de gastheer centraal.

## **Achtergrond**

Als onderdeel van het project is in een dierproef onder experimentele omstandigheden gekeken naar het effect van 3 voedingsadditieven op de interacties in de darm tussen de aanwezige microbiota, en de darmcellen. Hiervoor zijn 3 voedingsadditieven geselecteerd waarvan op basis van literatuur bekend is dat ze een positief effect hebben op darmgezondheid of immuniteit. Galacto-oligosaccharide hebben een positieve invloed op microbiota in het colon en op ziekteresistentie (Li et al., 2014), beta-glucanen hebben een positief effect op microflora samenstelling, performance en immunologie in de darm (Sweeney et al., 2012), terwijl middenketenige vetzuren een positief effect hebben op darmmorfologie en microbiota samenstelling en mogelijke ook op immunologische parameters (Jacobi et al., 2012). Het effect van deze drie voerinterventies is onderzocht in de darm van biggen na toevoeging van de additieven aan het lactatievoer van zeugen (indirect) en na orale toediening aan de biggen (direct). Deze beschreven effecten werden met behulp van innovatieve meettechnieken geanalyseerd om tot de identificatie van nieuwe biomarkers te komen. De read-out parameters van dit experiment waren: genexpressie in het darmepitheel, microbiota samenstelling in de darm, en darmmorfologie. Op basis van deze resultaten wordt een aantal biomarkers geselecteerd die veelbelovend zijn voor verdere analyse. Voor deze aanvraag wordt uit de drie voedingsinterventies, de interventie geselecteerd die de meest veelbelovende biomarkers heeft opgeleverd.

## **Project**

De nog nader te benomen biomarkers zijn geïdentificeerd in biggen gehouden onder experimentele omstandigheden. Mede daardoor is slechts in een beperkte aantal biggen gemeten (maximaal 8 per tijdstip). Het doel van het huidige project is om de interventie die het grootste effect heeft laten zien op de read-out parameters, toe te passen op een regulier varkensbedrijf in grotere aantallen dieren. In dit experiment zal gericht gekeken worden naar die biomarkers die onder experimentele omstandigheden de grootste veranderingen lieten zien. Hierbij worden uit alle drie de categorieën (genexpressie in het darmepitheel, microbiota samenstelling in de darm, en darmmorfologie) biomarkers geselecteerd. Er wordt dus gekeken naar de genen die de sterkste verandering in expressie lieten zien, en naar de bacteriële populaties die de sterkste verschuiving lieten zien. Daarnaast wordt gekeken naar de morfologie van de darm. Het doel van het experiment is om te bevestigen dat de biomarkers gevonden onder experimentele omstandigheden ook veranderen als de voedingsinterventie onder praktijkomstandigheden wordt toegepast. Daarnaast kan, door de grotere aantallen, ook worden gekeken naar het effect van de voedingsinterventie op de performance van de dieren.

Het is van belang om dit experiment uit te voeren onder praktijkomstandigheden op een varkensbedrijf omdat dit de condities zijn waaronder de biomarkers zullen worden toegepast. De belangrijkste reden om het experiment onder praktijkomstandigheden te testen, is dan ook om te bevestigen dat de eerder waargenomen biomarkers onder experimentele omstandigheden ook correleren met observaties uit de experimentele studie. Daarnaast geeft een studie op een varkensbedrijf ook een eerste indruk van de vertaling van de gevonden biomarkers naar de praktijk. De studie vormt daarmee de eerste stap om de gevonden experimentele resultaten te toetsen op een praktijkbedrijf. Wanneer blijkt dat de resultaten totaal niet vertaalbaar zijn naar de (varkens)praktijk, betekent dit een NO GO voor het project. Wanneer blijkt dat (een deel van) de resultaten wel te vertalen zijn naar de (varkens)praktijk, wordt het praktijkonderzoek uitgebreid naar meerdere varkensbedrijven. Dit maakt geen onderdeel uit van de huidige aanvraag. Het huidige experiment wordt uitgevoerd op een regulier varkensbedrijf die nauwe



samenwerking heeft met een grote voerproducent in Nederland Op dit bedrijf worden biggen gebruikt om onze vraagstelling te beantwoorden. De biggen worden opgedeeld in 2 groepen: Een groep vormt de controlegroep, deze biggen en de zeugen waarvan zij afkomstig zijn worden gevoerd met standaard voer; de tweede groep biggen en de zeugen waarvan zij afkomstig zijn ontvangen het geselecteerde voeradditief. Alle biggen in de tomen zijn onderdeel van de performance studie. Omdat dit een geregistreerd voeradditief betreft, en performance bepaling routematig op het varkensbedrijf worden uitgevoerd, maken het voerregime en de performance studie geen onderdeel uit van deze CCD-aanvraag. Om de geselecteerde, darm-gerelateerde biomarkers te kunnen meten, is het noodzakelijk om deze biggen te euthanaseren. Hiertoe worden verdeeld over de twee groepen 160 biggen geëuthanaseerd Euthanasie en sectie van de biggen vindt slechts op 1 moment plaats. Op het moment van sectie wordt ook materiaal verzameld om te onderzoeken of de biomarkers in de toekomst ook op niet of minder invasieve manier gemeten kan worden. Hiertoe wordt faeces, bloed en speeksel verzameld.

Li et al., ISME J. 2014 Aug;8(8):1609-20.

Sweeney et al., Br J Nutr. 2012 Oct;108(7):1226-34.

Jacobi et al., Adv Nutr. 2012 Sep 1;3(5):687-96.

---

### 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?

---

#### Algemene doelstelling

Het overkoepelende project waartoe deze aanvraag behoort, richt zich op het verminderen van het antibioticagebruik in de veehouderij door de weerstand en de algemene (darm-)gezondheid van landbouwhuisdieren te verhogen. Het doel van het onderzoek is om darm-gerelateerde biomarkers voor immuun-competentie te bevestigen onder praktijkomstandigheden. Het project onderzoekt hiertoe of eerder geïdentificeerde potentiële immuun-competentie parameters (biomarkers) ook in grotere aantallen biggen gehouden op een varkensbedrijf correlatie hebben met verbeterde (darm)gezondheid als gevolg van een toegepaste voedingsinterventie. Het project draagt daarmee bij aan de ontwikkeling van een "meetlat voor immuun competentie" voor biggen, die het mogelijk maakt om het effect van (voedings)interventies op (darm)gezondheid en immuuncompetentie in biggen te meten.

#### Haalbaarheid

De haalbaarheid van dit project wordt als hoog ingeschat. Het project beoogt resultaten te bevestigen die onder experimentele omstandigheden zijn vastgesteld. Door gebruik te maken van een praktijkbedrijf dat een geregistreerd voeradditief met een bekend effect op darmgezondheid en immuun-competentie toepast op zeugen en zuigende biggen, kunnen de biomarkers worden gevalideerd. Het euthanaseren en samplen van biggen is weliswaar nieuw voor dit praktijkbedrijf, maar is routine

binnen een experimentele setting. Dit maakt de technische haalbaarheid groot. Inhoudelijk wordt verwacht dat de haalbaarheid groot is. De data zijn nodig om vast te stellen of de biomarkers op grotere schaal in de praktijk dezelfde correlatie laten zien als onder experimentele omstandigheden. Het experiment is dan ook geslaagd als de correlatie van (een deel van) de biomarkers bevestigd kan worden op een varkensbedrijf. Wanneer dit het geval blijkt te zijn, zullen in een vervolgstudie meer bedrijven worden betrokken. Dit maakt geen onderdeel uit van deze aanvraag. Wanneer de correlatie niet aanwezig blijkt te zijn, betekent dit een NO GO voor het project.

### 3.3 Belang

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

Dé belangrijke maatschappelijke uitdaging, die in deze aanvraag wordt geadresseerd, is een maatschappelijk geaccepteerde en geapprecieerde veehouderij in Nederland d.m.v. een lager gebruik van antibiotica, een verbeterd dierenwelzijn, verbeterde diergezondheid en minder belasting van het milieu. Door voerinterventies te gebruiken die immuun-competentie en groei bevorderen, wordt een bijdrage geleverd aan deze maatschappelijke ambitie. Dit project levert bio-markers op (een meetlat) voor immuuncompetentie als maat voor weerbaarheid en robuustheid. De meerwaarde van deze kennisontwikkeling is evident. Daarnaast levert dit project ook kennis op voor toepassing en validatie van nieuwe technologieën in de diervoederketen en op veehouderijniveau (bijvoorbeeld op het gebied van genexpressie, microbiota en immuniteitsmetingen). Deze metingen leveren een belangrijke bijdrage aan het begrijpen, voorspellen en sturen van immunologische en fysiologische processen.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

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

Een geselecteerde, geregistreerde voerinterventie wordt onder praktijkomstandigheden op een varkensbedrijf toegediend aan een behandelgroep van 40 drachtige zeugen. De controlegroep van 40 zeugen ontvangt dezelfde hoeveelheid voer met dezelfde samenstelling zonder voerinterventie. De zeugen krijgen het voer vanaf het moment dat ze overgaan op lactatievoer (~1 week voor werpen) gedurende de laatste week van de dracht en de volledige lactatieperiode. Daarnaast wordt de voerinterventie ook toegediend aan de biggen in het bijvoer dat biggen standaard krijgen. Dit betreft kunstmelk van geboorte tot twee weken na geboorte en prestarter vanaf 2 weken na geboorte tot aan spenen. Er is voor gekozen om de voerinterventie in alle voeders toe te voegen om het effect te maximaliseren. Dit wordt allemaal uitgevoerd op het geselecteerde praktijkbedrijf en is geen onderdeel van deze CCD aanvraag.

Voor de validatie van de biomarkers wordt een aantal biggen ge-euthanaseerd. Dit gebeurt op 1 tijdstip, kort voor het speenmoment. Dit is het meest kritieke moment voor de biggen omdat ze voor een belangrijke transitie staan. Dat is het moment dat de varkenshouderij veel gezondheidsproblemen ervaart en immuun-competentie en darmgezondheid dus het meest relevant zijn. De biggen worden geëuthanaseerd en er wordt materiaal (darmweefsel, darminhoud, bloed) verzameld om de geselecteerde biomarkers te bepalen. Het doel hiervan is om vast te stellen of die zich onder praktijkomstandigheden op dezelfde manier manifesteren. Dit is de validatie. Naast de validatie van biomarkers wordt ook performance en gezondheid van de biggen gemonitord. Om in de toekomst de biomarkers te kunnen meten zonder biggen te hoeven euthanaseren, wordt in dit experiment ook bloed, speeksel en faeces verzameld. Deze monsters kunnen goed worden verzameld bij levende biggen. Wanneer de biomarkers ook in deze materialen correleren met de positieve effecten van de voedingsinterventie, zijn de biomarkers sneller en makkelijker te

implementeren in de praktijk en vermindert het ongerief voor de biggen.

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

Binnen het project wordt een dierexperiment uitgevoerd waarbij biomarkers voor immuun-competentie en darmgezondheid onder praktijkomstandigheden worden gevalideerd. Voor dit validatie-experiment wordt met relatief grote aantallen dieren gewerkt die onder praktijkomstandigheden gehouden worden. Dit is van groot belang omdat vastgesteld moet worden of de effecten van de geselecteerde voerinterventie op immuuncompetentie parameters relevant zijn voor de praktijk omstandigheden waaronder biggen gehouden worden. Voor dit experiment wordt gebruik gemaakt van een boerderij die, door zijn nauwe samenwerking met een grote voerproducent in Nederland, ervaring heeft met vergelijkbare experimenten. In totaal worden 80 zeugen en hun nageslacht, verdeeld over twee groepen, opgenomen in het validatie traject. Deze zeugen worden vanaf het moment dat ze lactatievoer krijgen (1 week voor de berekende werpdatum) gevoerd met de geselecteerde voerinterventie. Deze interventie zal vervolgens ook aanwezig zijn in de kunstmelk die biggen in de eerste twee weken na geboorte krijgen toegediend, evenals in de prestarter die biggen vanaf 2 weken leeftijd krijgen. De controlezeugen en -biggen krijgen lactatievoer, kunstmelk en prestarter zonder toegevoegde voerinterventie. Er is voor gekozen om de voerinterventie in alle drie de voeders toe te voegen om het effect op immuun-competentie parameters en groei te maximaliseren. Alle biggen afkomstig van de 40 zeugen zullen worden meegenomen voor de performance metingen. Dit wordt allemaal gedaan op het praktijkbedrijf als onderdeel van de dagelijkse praktijk op dit bedrijf. Dit is geen onderdeel van deze CCD aanvraag.

Om de biomarkers te kunnen valideren, wordt op één tijdstip voor het speenmoment, een deel van de biggen geëuthanaseerd. Het moment van euthanaseren is bewust juist vóór het spenen gekozen omdat in de varkenshouderij immuun competentie en (darm)gezondheid met name rond het speen-transitie moment belangrijk zijn voor het vóórkomen van speen-gerelateerde problematiek (diarree). Dit is ook het moment dat de biggen geen voordeel meer hebben van de maternale immuniteit via maternale antilichamen en wel het moeilijke transitie moment van spenen door moeten en daarbij afhankelijk zijn van de functionaliteit van het eigen immuun systeem. De biggen worden geëuthanaseerd om de verschillende darm-gerelateerde biomarkers te kunnen meten en te valideren.

#### 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.

Het validatie-experiment is de uiteindelijk toetsing onder praktijkomstandigheden van eerdere experimenten. Het is de laatste fase van een groter project waar dit experiment onder valt. Wanneer de validatie van de biomarkers voor immuun-competentie en darmgezondheid positief uitvalt, wordt gekeken hoe deze biomarkers kunnen worden geïmplementeerd. Deze implementatie wordt uitgevoerd in nauwe samenspraak met veevoederproducenten.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Validatie van biomarkers voor immuun competentie en darmgezondheid in biggen onder praktijk omstandigheden
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

#### 1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	40100	
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)	
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in.	Volgnummer	Type dierproef
	<i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	1	Validatie van biomarkers voor immuun competentie en darmgezondheid in biggen onder praktijk omstandigheden

#### 2 Beschrijving dierproeven

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

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

Het doel van het experiment is om te bevestigen dat de biomarkers gevonden na toepassing van een voedingsinterventie onder experimentele omstandigheden ook veranderen als de voedingsinterventie onder praktijkomstandigheden wordt toegepast. Daarnaast kan, door de grotere aantallen, ook worden gekeken naar het effect van de voedingsinterventie op de performance van de dieren. De biomarkers worden ontwikkeld om in de praktijk op varkensbedrijven het effect van (voedings)interventies op immuuncompetentie en darmgezondheid te kunnen meten en onderling te vergelijken. Het is van belang om de geïdentificeerde biomarkers op een varkensbedrijf te bevestigen omdat vastgesteld moet worden of de experimenteel vastgestelde biomarkers voor immuuncompetentie en darmgezondheid ook daadwerkelijk relevant zijn onder de omstandigheden waaronder varkens in de praktijk worden gehouden. Het experiment wordt uitgevoerd onder normale omstandigheden op een varkensbedrijf, omdat dit de omstandigheden zijn waaronder de biomarkers uiteindelijk de gewenste correlatie met immuuncompetentie en darmgezondheid moeten hebben. Het experiment wordt uitgevoerd in samenwerking met een varkenshouder die, door jarenlange samenwerking met een veevoeder producent, ruim ervaring heeft met het testen van (voer)interventies onder praktijkomstandigheden. Omdat het een normaal, commercieel varkensbedrijf is, kunnen de resultaten gemakkelijk vertaald worden naar de praktijk.

Om de biomarkers te valideren wordt in deze validatieproef een contrast aangelegd tussen twee groepen biggen door middel van een voedingsinterventie afgeleid uit eerder onderzoek. Deze voedingsinterventie wordt geselecteerd uit 3 mogelijkheden: galacto-oligosacchariden, beta-glucanen of middenketenige vetzuren. De keuze wordt bepaald door de analyse van de biomarkers: De voedingsinterventie die de meest veelbelovende biomarkers oplevert, wordt toegepast in dit experiment. Alle drie de voedingsinterventies zijn geregistreerd voor toepassing op varkensbedrijven. Het bedrijf geeft lacterende zeugen en hun zuigende biggen de geselecteerde, geregistreerde voerinterventie met een bekend effect op darm-gerelateerde immuuncompetentie. Door biggen van deze zeugen te vergelijken met biggen van controlezeugen die de interventie niet hebben gekregen, kunnen de biomarkers worden bevestigd. Biggen uit beide groepen worden geëuthanaseerd om de verschillende darm-gerelateerde biomarkers te kunnen meten en valideren.

Voor de validatie van de geïdentificeerde biomarkers wordt een aantal biggen ge-euthanaseerd. Dit gebeurt op 1 tijdstip, kort voor het speenmoment. Dit is het meest kritieke moment voor de biggen omdat ze voor een belangrijke transitie staan. Dat is het moment dat de varkenshouderij veel gezondheidsproblemen ervaart en immuun competentie en darmgezondheid dus het meest relevant zijn. De biggen worden geëuthanaseerd en er wordt materiaal (darmweefsel, darminhoud, bloed) verzameld om de geselecteerde biomarkers te bepalen. Het doel hiervan is om vast te stellen of de biomarkers zich onder praktijkomstandigheden op dezelfde manier manifesteren. Naast deze bevestiging van eerdere resultaten, wordt ook performance en gezondheid van de biggen gemonitord. Om de biomarkers in de toekomst op minder invasieve wijze te kunnen bepalen, wordt van de biggen ook faeces, bloed en speeksel verzameld om in vervolgonderzoek te kijken of in deze monsters dezelfde biomarkers gemeten kunnen worden.

De geïdentificeerde biomarkers zijn de belangrijkste primaire uitkomstparameters. Dit gaat om de volgende zaken:

- Expressie-niveau van genen in het darmepitheel, dit wordt bepaald met behulp van qPCR
- Aanwezigheid van bepaalde bacteriën in de microbiota óf de verhouding van bepaalde bacteriën in de microbiota. Dit wordt bepaald met behulp van qPCR of 16S sequencing op microbiota
- Morfologische parameters, dit wordt bepaald door histologie of immunohistochemie.

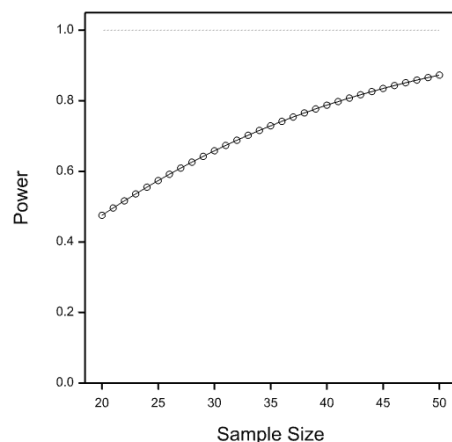
Uit het onderzoek onder experimentele omstandigheden zijn biomarkers uit alle drie de categorieën geïdentificeerd. Zo zijn parameters gevonden in immunologische pathways zoals de PPAR pathway, IL-9 signalling en T-helper cel differentiatie. Daarnaast zijn verschillen in microbiota samenstelling gevonden, voornamelijk in het colon. In de darmmorfologie werden parameters gevonden in crypt diepte en cel proliferatie. Naast deze primaire uitkomstparameters wordt ook gekeken naar performance en de algemene gezondheidsstatus van de zeugen en de biggen als secundaire uitkomstparameters.

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.

De dieren worden gehouden op een praktijkbedrijf waar varkens worden gehouden voor commerciële toepassing. Dit is essentieel voor de beoogde validatie van de voerinterventie onder praktijkomstandigheden. Om de biomarkers te valideren wordt in deze validatieproef gebruik gemaakt van een bestaand contrast tussen twee groepen zeugen dat relevant is voor deze praktijktoepassing, in dit geval in de vorm van een toegelaten en geregistreerde voerinterventie met een bekend positief effect op darm-gerelateerde immunocompetentie.

Kort voor het spenen wordt een aantal ( $n=160$ ) biggen geëuthanaseerd om de biomarkers op darmniveau te bepalen. Dit is noodzakelijk omdat hierin de biomarkers zijn waargenomen in het experiment dat onder gecontroleerde condities werd uitgevoerd. Dit is niet te meten zonder de dieren te euthanaseren. Van iedere zeug wordt een beertje en een zeugje geëuthanaseerd om een bias door het geslacht te voorkomen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat met name immunologische parameters verschillen tussen de geslachten. In de toekomst wordt gekeken of het mogelijk is om biomarkers te vinden die gemeten kunnen worden in niet-invasieve samples. In deze fase van het onderzoek is dat nog niet mogelijk. Naast de biomarkers wordt ook gekeken naar performance en gezondheid van zeugen en biggen gedurende het experiment.

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



Er is een powerberekening uitgevoerd om tot de goede sample size te komen. Hierbij is uitgegaan van een tweezijdige t-toets. Bij de berekening van de power is uitgegaan van de parameter genexpressie omdat dit voor het onderzoek de meest relevante parameter is. Er wordt uitgegaan van een alfa van 0.05 (5%), om significante resultaten op te kunnen leveren. Er wordt uitgegaan van een middelgrote tot grote variatie in de spreiding van de resultaten. Deze aanname komt voort uit het feit dat de omstandigheden niet gecontroleerd zijn op een varkensbedrijf. Voeropname, temperatuur en huisvesting zijn minder gestandaardiseerd dan onder experimentele omstandigheden, waardoor meer spreiding wordt verwacht. Om de gewenste power van 80% te halen, is een groepsgrootte van 40 dieren nodig. De experimentele eenheid van dit experiment is de zeug omdat de voerinterventie ook in lactatievoer aanwezig is. Omdat op basis van eerdere experimenten en literatuur verwacht wordt, dat beertjes en zeugjes niet gelijk reageren, met name voor de immunologische parameters, wordt ervoor gekozen om per zeug een gemiddeld zeugje en een gemiddeld beertje te gebruiken om te compenseren voor verschil tussen de geslachten.

## B. De dieren

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

De geïdentificeerde biomarkers worden gevalideerd in 160 biggen op een varkens-praktijkbedrijf. Deze biggen, 2 per toom, worden vlak voor het spenen geëuthanaseerd waarna darmmateriaal wordt afgenomen waarin de geselecteerde biomarkers kunnen worden bepaald. De keuzes voor de aantallen dieren, soort dieren en herkomst zijn allemaal gebaseerd op de behoefte om de validatie zo dicht mogelijk bij praktijkomstandigheden te houden gecombineerd met een statistische onderbouwing van minimaal benodigde aantallen om effect te kunnen meten.

## C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

Nee, ga door met vraag D.

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

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

Nee

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

## D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

### Vervanging

Het is niet mogelijk om effect van voerinterventies *in vitro* na te bootsen. De darm in zijn algemeenheid en de ontwikkelende darm in het bijzonder zijn zeer complexe systemen die nog niet zijn na te bootsen onder laboratorium omstandigheden. Door de crosstalk tussen microbiota, darmepitheel en aanwezige immuuncellen ontstaat een complex netwerk van responsen dat niet buiten het dier is te bestuderen. Er is binnen het project geprobeerd (een deel van) de interventie responsen te meten in *in vitro* gekweekte epitheliale varkenscellijnen. Er was echter te weinig overlap in de *in vivo* responsen in het varken, vergeleken met de *in vitro* cellijn responsen om deze data goed te kunnen duiden.

### Vermindering

Het aantal benodigde dieren in het experiment wordt bepaald door statistiek, dit om enerzijds het aantal dieren te beperken, maar tegelijkertijd wel de zekerheid te krijgen dat de gegevens die uit de het experiment komen, te gebruiken zijn om conclusies te trekken (en zo te voorkomen dat experimenten herhaald moeten worden).

### Verfijning

Het aantal tijdstippen waarop bemonsterd wordt, kan op basis van eerdere ervaring onder experimentele omstandigheden, worden teruggebracht tot 1 moment.

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

De verwachting is dat er geen extra pijn, lijden of angst ten gevolg van de voerinterventie wordt ondervonden. Er worden 160 dieren geëuthanaseerd. Deze



dieren zullen ten gevolge van de euthanasie gering ongerief ondervinden. De overige dieren worden gehouden als onderdeel van de commerciële productie en zullen geen aanvullend ongerief ondervinden van het experiment.

### 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.

Het kan worden uitgesloten dat de geïdentificeerde biomarkers eerder zijn bestudeerd. De gekozen aanpak in de identificatie van biomarkers die correleren met voerinterventies is binnen de diervoedingssector zeer nieuw en niet eerder uitgevoerd.

### 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.

De biomarkers worden gevalideerd in 160 biggen die worden gehuisvest en verzorgd op een commercieel varkensbedrijf volgens de gangbare bedrijfsvoering op dat bedrijf. Het betreft een bedrijf dat intensief samenwerkt met een van de voerproducenten in Nederland. Dit betekent dat het geldende beleid op het bedrijf niet strijdig is met het testen van voerinterventies in de praktijk. Het is voor dit validatie experiment heel belangrijk om de biomarkers te toetsen onder praktijkomstandigheden. Dat is het idee van een validatieproef. Onder experimentele omstandigheden is de interventie al op kleinere schaal getoetst. Om de gevonden resultaten te valideren is een grootschaliger experiment nodig onder omstandigheden die zo dicht mogelijk bij de praktijk staan. Dit betreft niet alleen de locatie waar de dieren gehuisvest worden, maar ook de verzorging van de dieren. Deze wordt gedaan door het personeel van de varkenshouder.

#### 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.

De zeugen worden gehouden op een standaard commercieel varkensbedrijf in het Oosten van Nederland. Het betreft een veehouder met een vermeerderingsbedrijf van varkens.

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

De zeugen en biggen worden gehuisvest en verzorgd op een commercieel varkensbedrijf volgens de geldende bedrijfsvoering op dat bedrijf. Het betreft een bedrijf dat intensief samenwerkt met een van de voerproducenten in Nederland. De varkenshouder heeft meerdere jaren ervaring met het testen van voerinterventies en begrijpt de manier van werken die noodzakelijk is om een onderzoek succesvol af te ronden. Dit betekent dat het geldende beleid op het bedrijf niet strijdig is met het testen van voerinterventies in de praktijk. Het is voor dit validatie experiment heel belangrijk om de voerinterventie te toetsen onder praktijkomstandigheden. Dat is het idee van een validatieproef. Onder experimentele omstandigheden is de interventie al op kleinere schaal getoetst.

Om de gevonden resultaten te valideren is een grootschaliger experiment nodig onder omstandigheden die zo dicht mogelijk bij de praktijk staan. Dit betreft niet alleen de locatie waar de dieren gehuisvest worden, maar ook de verzorging van de dieren. Deze wordt gedaan door het personeel van de veehouder. De behandeling van de zeugen en biggen met de voerinterventie is geen handeling die onder de wet op de dierproeven valt. Het betreft een voerinterventie die al is goedgekeurd voor toepassing op varkensbedrijven.

Alleen het euthanaseren van de biggen vóór het moment van spenen om darmmateriaal te kunnen bemonsteren is een activiteit / handeling die valt onder de wet op de dierproeven. Op dat moment zal dan ook één (of meer) erkende biotechnici vanuit Wageningen UR aanwezig zijn om een goede behandeling van de dieren te waarborgen. Er zullen 2 artikel 9 deskundigen bij dit project worden betrokken om een goede opzet en uitvoering van de proef te kunnen garanderen. Een deskundig onderzoeker die is aangesteld bij Wageningen UR is onder andere verantwoordelijk voor de CCD aanvraag. De tweede art. 9 deskundig is aangesteld bij de voerproducent die nauwe contacten heeft met de betreffende veehouder. Deze art. 9 deskundig zal met name verantwoordelijk zijn voor een goede uitvoering van het experiment op deze locatie.

### 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 die geëuthanaseerd worden, zullen hiervan beperkt ongerief ervaren.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De dieren moeten worden vastgehouden en worden geprikt. Dit kan angst en pijn veroorzaken.

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

Deze schadelijke effecten worden zoveel mogelijk beperkt door de euthanasie zo snel mogelijk uit te voeren.

#### J. Humane eindpunten

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

Nee > Ga verder met vraag K.

Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

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

#### K. Classificatie van ongerief

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

licht

#### Einde experiment

#### L. Wijze van doden

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

Nee > Ga verder met de ondertekening.

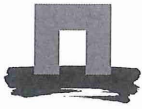
Ja > Geef aan waarom het doden van dieren als eindpunt essentieel is voor deze proef.

Een deel van de biggen (n = 160) wordt als onderdeel van het experiment gedood vlak voor spenen. Dit is noodzakelijk om biomarkers in de darm te kunnen bepalen.

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



[REDACTED]

Centrale Commissie Dierproeven  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag

Geachte CCD,

Onderstaand het advies dat de DEC-WUR heeft gegeven aangaande het project "Het effect van maternale voerinterventie op performance en immuuncompetentie voor het nageslacht"

#### A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: **AVD401002015330**
2. Titel van het project: Het effect van maternale voerinterventie op performance en immuuncompetentie voor het nageslacht
3. Titel van de NTS: Bevestigen van nieuwe meetmethoden voor darmgezondheid van varkens onder praktijkomstandigheden
4. Type aanvraag: nieuwe aanvraag projectvergunning
5. Contactgegevens DEC:  
DEC-WUR  
[REDACTED]  
Secretaris: dec@wur.nl
6. Adviestraject  
Ontvangen door DEC: 28-12-2015  
Aanvraag compleet: 28-12-2015  
In vergadering besproken: 18-01-2016
7. Correspondentie met de aanvrager  
Datum vragen: 20-01-2016  
Strekking van de vragen:
  - De onderzoeker moet meer onderbouwing geven (bijv. eerder uitgevoerd onderzoek) voor de keuze van biomarkers en voerinterventies .
  - Het nu al nemen van niet-invasieve monsters (faeces, speeksel) om in te spelen op evt. vervolgonderzoek.
  - Tekstuele aanpassingen
  - De DEC heeft vragen gesteld over:
    - Extrapolatiebaarheid van de resultaten naar de praktijk
    - De statistiek
    - sexeverschillenDatum antwoorden: 26-01-2016  
Strekking van de antwoorden:
  - De onderzoeker heeft meer achtergrondinformatie gegeven over voorgaand onderzoek en aangegeven hoe men op basis daarvan de biomarkers en voerinterventies heeft bepaald

Dierexperimenten  
Commissie WUR

DATUM  
8 februari 2016

ONDERWERP  
aanvraag projectvergunning  
AVD401002015330

ONS KENMERK  
AVD401002015330

POSTADRES  
[REDACTED]

BEZOEKADRES  
[REDACTED]

INTERNET  
www.wageningenUR.nl

KvK NUMMER  
09098104

CONTACTPERSOON  
[REDACTED]

TELEFOON  
[REDACTED]

E-MAIL  
DEC@wur.nl

- Om voor evt. vervolgonderzoek te komen tot minder invasieve monsternamen (verfijning) zullen ook in dit project al bloed- speeksel- en faecesmonsters genomen worden.
- De tekst is aangepast conform de suggesties van de DEC.
- op vragen van de DEC:
  - Deze studie geeft een eerste indruk van de onder experimentele omstandigheden waargenomen biomarkers in de praktijk. De studie vormt daarmee een eerste stap om de gevonden experimentele resultaten te toetsen in de praktijk. Wanneer blijkt dat de resultaten niet vertaalbaar zijn naar de praktijk zal het project geen vervolg krijgen.
  - De onderliggende statistiek is duidelijker beschreven.
  - Omdat uit eerder experimenten is gebleken dat er verschillen in responsen bestaan tussen beide sexen zal van iedere toom 1 beertje en 1 zeugje ingezet worden.

De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

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

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

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

1. De DEC heeft vastgesteld dat het project uit wetenschappelijk oogpunt verantwoord is.
2. De DEC heeft vastgesteld dat de in de aanvraag aangekruiste doelcategorie in overeenstemming is met de hoofddoelstelling.
3. Het substantiële belang van het project, te weten: een bijdrage leveren aan het ontwikkelen van meetmethoden die darmgezondheid en weerstand kunnen meten, wordt door de DEC onderschreven.
4. De DEC stelt vast dat de expertise van de onderzoekers, de voorzieningen waar de experimenten uitgevoerd worden en de onderzoeksstrategie kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling van het project.
5. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren: De dieren worden gehuisvest op een praktijkbedrijf. Uit de aanvraag blijkt dat dit bedrijf ervaring heeft met praktijkonderzoek. De keuze is voldoende onderbouwd vanuit de doelstelling van het onderzoek.
6. De DEC stelt vast dat een cumulatieve inschatting van ongerief als "light" realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Ongerief in de experimenten zal bestaan uit diverse monsternamen en euthanasie.
7. De DEC heeft vastgesteld dat er geen alternatieven zijn om de doelstelling van het project te realiseren. Er zijn nog geen alternatieven voor bepalingen op darmniveau. In dit project worden wel extra bloed- speeksel- en faecesmonsters genomen om te komen tot alternatieven die niet leiden tot vervanging maar wel tot verfijning (minder ongerief) en vermindering (dieren hoeven niet geofferd te worden en kunnen hergebruikt worden of in het reguliere productieproces blijven) van het aantal proefdieren.
8. De DEC heeft vastgesteld dat er optimaal tegemoet gekomen wordt aan de vereiste van vermindering van dierproeven. De aanvrager beschikt over voldoende expertise om te voorkomen dat eerder gedaan onderzoek herhaald wordt.
9. De DEC heeft vastgesteld dat het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven. De onderzoeker heeft overwogen om euthanasie uit te voeren onder gasanesthesie zoals die in de praktijk voor castreren gebruikt wordt. De DEC is het met de onderzoeker eens dat gebruik van gasanesthesie bij deze wat zwaardere dieren voor stress zal zorgen en geen verfijning oplevert t.o.v. injectie-euthanasie. De DEC is overtuigd dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd.
10. De Instantie voor Dierenwelzijn heeft een positief oordeel over de kwaliteit van de aanvraag uitgebracht en de DEC heeft dit in haar overweging betrokken.

11. De NTS is naar het oordeel van de DEC een evenwichtige weergave van het project, begrijpelijk geformuleerd en voldoet aan de vereisten in de herziene Wod Art. 10.a.1.7.

#### **D. Ethische afweging**

- De DEC is in consensus mening dat het doel en de haalbaarheid van het project het gebruik van proefdieren en het ongerief dat de dieren wordt aangedaan rechtvaardigt. Dit project kan een bijdrage leveren aan het ontwikkelen van nieuwe meetmethoden voor darmgezondheid die ingezet kunnen worden om diergezondheid en weerstand van de dieren te verbeteren. Dit kan uiteindelijk leiden tot een verlaging van antibioticagebruik. De uitvoering is verder niet in strijd met andere ethische overwegingen m.b.t. het gebruik van proefdieren.

#### **E. Advies**

1. Advies aan de CCD:
  - De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

Met vriendelijke groet,



DATUM

8 februari 2016

ONS KENMERK

AVD401002015330

PAGINA

3 van 3







Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

### **Gegevens aanvrager**

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 40100

Naam instelling of organisatie: Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Naam portefeuillehouder of  
diens gemachtigde:

KvK-nummer: 908104

Straat en huisnummer: Akkermaalsbos 12

Postbus: 59

Postcode en plaats: 6700AB WAGENINGEN

IBAN: NL10RABO0397066465

Tenaamstelling van het  
rekeningnummer: Wageningen UR

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam:

Functie: Onderzoeker

Afdeling:

Telefoonnummer:

E-mailadres:

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

**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: 14 februari 2016  
Geplande einddatum: 31 december 2016  
Titel project: Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijk omstandigheden  
Titel niet-technische samenvatting: Bevestigen van nieuwe meetmethoden voor darmgezondheid van varkens onder praktijkomstandigheden  
Naam DEC: DEC Wageningen UR  
Postadres DEC: Droevendaalsesteeg 4, 6708 PB Wageningen  
E-mailadres DEC: DEC@wur.nl

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 468,-  
De leges voldoet u: na ontvangst van de factuur

**Checklist bijlagen**

Verplichte bijlagen:  Projectvoorstel  
 Beschrijving Dierproeven  
 Niet-technische samenvatting

**Ondertekening**

Naam: [REDACTED]  
Functie: [REDACTED]  
Plaats: Wageningen  
Datum: 21 december 2015



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

████████████████████  
Postbus 59  
6700 AB WAGENINGEN  
████████████████████

**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  
AVD401002015330  
**Bijlagen**  
2

Datum 23 december 2015  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**  
Factuurdatum: 23 december 2015  
Vervaldatum: 22 januari 2016  
Factuurnummer: 15700330  
Ordernummer: WUR921845


Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD401002015330	€ 468,00

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

Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Postbus 59  
6700 AB WAGENINGEN  


**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  
AVD401002015330

Datum 22 FEB 2016  
Betreft Aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Op 27 november 2015 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijk omstandigheden" met aanvraagnummer AVD401002015330. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 8 februari 2016 heeft u uw aanvraag gewijzigd. Er is, tezamen met het DEC-advies, een nieuw projectvoorstel, NTS en Bijlage Dierproeven gestuurd.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet). U kunt met uw project "Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijk omstandigheden" starten. De vergunning wordt afgegeven van 22 februari 2016 tot en met 31 december 2016.

#### **Procedure**

Wij hebben advies gevraagd bij de Dierexperimentencommissie DEC Wageningen UR. Dit advies is opgesteld op 8 februari 2016. Bij de beoordeling van uw aanvraag is dit advies betrokken overeenkomstig artikel 10a, lid 3 van de wet.

Wij kunnen ons vinden in de inhoud van het advies van de Dierexperimentencommissie. Wij nemen dit advies van de commissie over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Dit advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving 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:** Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek  
(DLO)  
**Adres:** Postbus 59  
**Postcode en plaats:** 6700AB WAGENINGEN  
**Deelnemersnummer:** 40100

deze projectvergunning voor het tijdvak 22 februari 2016 tot en met 31 december 2016, voor het project "Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijk omstandigheden" met aanvraagnummer AVD401002015330, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Wageningen UR.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Onderzoeker.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 27 november 2015
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 8 februari 2015;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 8 februari 2015;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 8 februari 2016, ontvangen op 8 februari 2016.
  - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 8 februari 2016

<b>Naam proef</b>	<b>Diersoort/ Stam</b>	<b>Aantal dieren</b>	<b>Ernst</b>	<b>Opmerkingen</b>
Validatie van biomarkers voor immuun competentie en darmgezondheid in biggen onder praktijk omstandigheden	Varkens ( <i>Sus scrofa domesticus</i> ) / biggen, vlak voor het spenen	160	Licht / mild	

# 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 verdooving**

In artikel 13 van de wet staat dat een dierproef onder algehele of plaatselijke verdooving 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 verdooving uitgevoerd. Hierbij wordt afgewogen of het toedienen van verdooving voor het dier traumatischer is dan de dierproef zelf en het toedienen van verdooving 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 26 februari 2016 11:41  
**Aan:** 'DEC'  
**Onderwerp:** Terugkoppeling AVD401002015330

Geachte DEC WUR,  
Op 27 november 2015 hebben wij een aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen waarover uw DEC advies heeft uitgebracht. Het gaat om het project "Validatie van biomarkers voor immuun competentie in biggen onder praktijk omstandigheden" met aanvraagnummer AVD401002015330.

De CCD heeft de aanvrager geen aanvullende vragen gesteld.

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

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

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)