

		Inventaris Wob-verzoek W17-07								
			wordt verstrekt			weigeringsgronden				
nr.		document NTS 2016734	reeds openbaar	niet	geheel	deels	10.1.c	10.2.e	10.2.g	11.1
1		Aanvraagformulier				x		x	x	
2		NTS	x							
3		Projectvoorstel				x			x	
4		Bijlage beschrijving dierproeven 1				x			x	
5		Bijlage beschrijving dierproeven 2				x			x	
6		Bijlage beschrijving dierproeven 3				x			x	
7		Ontvangstbevestiging en factuur				x		x	x	
8		DEC advies				x		x	x	
9		Vraag en reactie met aanvullende informatie				x		x	x	
10		Advies CCD		x						x
11		Beschikking en vergunning				x		x	x	

03 APR 2017



Aanvraag

Projectvergunning Dierproeven

Administratieve gegevens

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

1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	☒ Ja > Vul uw deelnemernummer in 426 ☐ Nee > U kunt geen aanvraag doen															
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table><tr><td>Naam instelling of organisatie</td><td>Gezondheidsdienst voor Dieren BV</td></tr><tr><td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td><td>[Redacted]</td></tr><tr><td>KvK-nummer</td><td>8 1 1 7 6 3 6</td></tr></table>	Naam instelling of organisatie	Gezondheidsdienst voor Dieren BV	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]	KvK-nummer	8 1 1 7 6 3 6									
Naam instelling of organisatie	Gezondheidsdienst voor Dieren BV																
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[Redacted]																
KvK-nummer	8 1 1 7 6 3 6																
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>	<table><tr><td>Straat en huisnummer</td><td>Arnsbergstraat 7</td></tr><tr><td>Postbus</td><td>Postbus 9</td></tr><tr><td>Postcode en plaats</td><td>7400AA Deventer</td></tr><tr><td>IBAN</td><td>NL79ANBA0108807045</td></tr><tr><td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td><td>Gezondheidsdienst voor Dieren BV</td></tr></table>	Straat en huisnummer	Arnsbergstraat 7	Postbus	Postbus 9	Postcode en plaats	7400AA Deventer	IBAN	NL79ANBA0108807045	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Gezondheidsdienst voor Dieren BV					
Straat en huisnummer	Arnsbergstraat 7																
Postbus	Postbus 9																
Postcode en plaats	7400AA Deventer																
IBAN	NL79ANBA0108807045																
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Gezondheidsdienst voor Dieren BV																
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td>[Redacted]</td><td>☒ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td>[Redacted]</td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.	Functie	[Redacted]		Afdeling	[Redacted]		Telefoonnummer	[Redacted]		E-mailadres	[Redacted]	
(Titel) Naam en voorletters	[Redacted]	☒ Dhr. ☐ Mw.															
Functie	[Redacted]																
Afdeling	[Redacted]																
Telefoonnummer	[Redacted]																
E-mailadres	[Redacted]																
1.5	(Optioneel) Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table><tr><td>(Titel) Naam en voorletters</td><td></td><td>☐ Dhr. ☐ Mw.</td></tr><tr><td>Functie</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Afdeling</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Telefoonnummer</td><td></td><td></td></tr><tr><td>E-mailadres</td><td></td><td></td></tr></table>	(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☐ Mw.	Functie			Afdeling			Telefoonnummer			E-mailadres		
(Titel) Naam en voorletters		☐ Dhr. ☐ Mw.															
Functie																	
Afdeling																	
Telefoonnummer																	
E-mailadres																	

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

2 Over uw aanvraag

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

3 Over uw project

- 3.1 Wat is de geplande start- en einddatum van het project?
- | | |
|------------|----------------|
| Startdatum | 01 - 05 - 2017 |
| Einddatum | 01 - 05 - 2019 |
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- | |
|---|
| Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers. |
|---|
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- | |
|---|
| Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers. |
|---|
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- | | |
|-------------|--|
| Naam DEC | |
| Postadres | |
| E-mailadres | |

4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?
- ☒ Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 1.584,00 Lege
- ☐ Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.
- ☐ Via een eenmalige incasso
- ☒ Na ontvangst van de factuur
- Bij een eenmalige incasso geeft u toestemming aan de CCD om eenmalig het bij 4.1 genoemde bedrag af te schrijven van het bij 1.2 opgegeven rekeningnummer.*

5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- ☐ Projectvoorstel
- ☒ Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- ☐ Melding Machtiging
- ☒ Bijlage 3.4.4.1. & 3.4.4.2 & 3.4.4.3

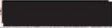
6 Ondertekening

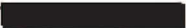
- 6.1 Print het formulier uit, onderteken het en stuur het inclusief bijlagen via de beveiligde e-mailverbinding naar de CCD of per post naar:

Centrale Commissie
Dierproeven
Postbus 20401
2500 EK Den Haag

Ondertekening door de instellingsvergunninghouder of gemachtigde (zie 1.6). De ondergetekende verklaart:

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

Naam 

Functie 

Plaats Deventer

Datum 23 - 03 - 2017

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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

- | | |
|--|---|
| 1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in. | 426 |
| 1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in. | De Gezondheidsdienst voor Dieren BV |
| 1.3 Vul de titel van het project in. | Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers. |

2 Categorie van het project

- | | |
|--|---|
| 2.1 In welke categorie valt het project. | ☐ Fundamenteel onderzoek |
| | X Translationeel of toegepast onderzoek |
| <i>U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.</i> | X Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie |
| | ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de |
| | ☐ 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.

Kreupelheid leidt bij kippen tot verminderd welzijn door pijn, toegenomen kans op infecties en verhoogde

uitval. Daardoor ontstaat economische schade en ongewenst gebruik van antibiotica. Bij mensen, zoogdieren en vogels zijn Non-steroidal Anti Inflammatory Drugs (NSAID's) zeer effectief in het bestrijden van ontsteking. Bij pluimvee zijn er voldoende indicaties om NSAID's te gebruiken, alleen zijn er geen producten geregistreerd om kreupelheid (als symptoom van ontsteking in het bewegingsapparaat) te verminderen.

Beide producten zijn bedoeld om toe te passen bij vleeskuikens, met als indicatie de symptomatische behandeling van kreupelheid. Voor beide producten geldt dat deze in Europa reeds voor andere indicaties bij ander pluimvee dan kippen zijn geregistreerd. Om registratie van de 2 producten voor vleeskuikens met genoemde indicatie mogelijk te maken, is een werkzaamheidstudie onder experimentele en gecontroleerde omstandigheden noodzakelijk. De eisen omtrent het testen van ontstekingsremmers zijn vermeld in Richtlijn EMA/CVMP/EWP/1061/2001.

Om de werking van een NSAID bij vleeskuikens die kreupel zijn te bepalen, wordt gebruik gemaakt van een infectie model met Reo virus. Reo virussen veroorzaken bij kippen specifiek ontsteking en zwelling van met name de peesschede in de poten. Alternatieven om kreupelheid op te wekken bij vleeskuikens zijn:

- 1) om de dieren gedurende weken tot maanden permanent te huisvesten op een ondergrond die onder een scherpe hoek staat zonder platte vlakken, zodat pijnlijke afwijkingen aan de gewrichten en scheefgroei van botten ontstaan. Van deze methode hebben wij afgezien, omdat:
 - a. niet bij alle dieren locomotie afwijkingen optreden;
 - b. afwijkende groei van beenderen en gewrichten niet gewenst is in deze studie (deze dieren kunnen pijn lijden, maar dat komt niet door ontsteking hetgeen door de te testen producten moet worden onderdrukt);
 - c. de maandenlange huisvesting onder belastende condities en de kans op pijn leidt tot een te grote welzijnsaantasting voor de dieren in relatie tot het doel van dit project;
 - d. omdat dit voor praktische problemen zorgt bij de dagelijkse verzorging en beoordeling van de kuikens en bij de beoordeling van de mate van kreupelheid.
- 2) om de dieren intra-articulair of intraveneus te injecteren met bacteriën. Hiervan hebben wij afgezien omdat:
 - a. de dieren hierdoor ernstig ziek kunnen worden en er hoge mortaliteit ontstaat na bacteriële infectie hetgeen leidt tot een te grote welzijnsaantasting voor de dieren in relatie tot het doel van dit project;
 - b. antibiotica gegeven moeten worden om de bacteriële infectie te couperen. Dit betekent een interactie met de effecten van het NSAID, waardoor het NSAID voor deze indicatie niet te registreren is.

Een model waarbij locomotie afwijkingen worden geïnduceerd door infectie met Reo virus is daarom bij uitstek geschikt om te gebruiken, omdat dit resulteert in specifieke afwijkingen aan peesscheden die bovendien kwantificeerbaar zijn. De infectie met Reo virus wordt niet beïnvloedt door een NSAID, waardoor de claim "symptomatische behandeling van kreupelheid" gerechtvaardigd is. Daarnaast verloopt een infectie met Reo virus mild in vergelijking met een bacteriële infectie.

Binnen ons instituut is een Reo model beschikbaar, dat is gebruikt om bij vleeskuikens de invloed van voer op het verloop van een infectie met Reo virus te bepalen. Tijdens de uitvoering van dit model (twee studies met in totaal 380 dieren) werd kliniek gezien passend bij reo virus infectie (opgezette veren; vermindering van groei; verandering van de feces; kreupelheid en sterfte). De conclusie van dit model was dat voersamenstelling het verloop van een infectie met Reo virus in geringe mate beïnvloed. In dit project wordt het bestaande model verder ontwikkeld omdat:

- 1) Het doel van dit model anders is dan het doel van het beschreven model.
- 2) De omstandigheden binnen dit model anders zijn dan die in het beschreven model (in dit project wordt gebruik gemaakt van vleeskuikens zonder antilichamen tegen Reo virus en komt het voer veel beter overeen met de behoeften van de kip).
- 3) De dosering die in het beschreven model zijn gebruikt zijn gericht op praktijkomstandigheden en zijn

wellicht te hoog voor het doel van deze studie.

3.2 Doel

Beschrijf de algemene doelstelling en haalbaarheid van het project.

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

Het doel van dit project is om de werkzaamheid van 2 verschillende NSAID's te onderzoeken in een Reo virus model, zodat deze 2 producten geregistreerd kunnen worden voor vleeskuikens. Om dit doel te bereiken worden de volgende onderdelen uitgevoerd:

1. Verdere ontwikkeling van het Reo virus infectie model bij vleeskuikens (bijlage 3.4.4.1).
2. Bepaling van de werkzaamheid van product A (bijlage 3.4.4.2.) en product B (bijlage 3.4.4.3.).

Ons instituut beschikt over een Reo virus model dat eerder is gebruikt. In dit project wordt hetzelfde Reo virus gebruikt. Daarnaast is er veel expertise in huis om de vleeskuikens adequaat te verzorgen en biotechnische handelingen op uit te voeren, zijn de dierproeven kort en kunnen de parameters in deze studie professioneel worden beoordeeld. Dit maakt dat het project binnen ons instituut zeer goed haalbaar is.

3.3 Belang

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

Prevalentiestudies hebben aangetoond dat locomotie problemen (met name kreupelheid) bij vleeskuikens veelvuldig voorkomen. In beschikbare literatuur wordt aangegeven dat tussen 25 en 30 procent van de vleeskuikens gedurende hun leven te maken heeft met kreupelheid. De oorzaak van kreupelheid is multifactorieel, waarbij infecties met virussen en bacteriën en het lopen op een bedding van slechte kwaliteit (als gevolg van suboptimale klimaatsomstandigheden) genoemd kunnen worden. Vaccinatie tegen infectieuze oorzaken is vaak niet beschikbaar, omdat ofwel er geen effectieve vaccins zijn ontwikkeld dan wel dat de moederdieren waar de kuikens van afkomstig zijn niet worden gevaccineerd tegen deze agentia. Managementmaatregelen zoals het optimaliseren van het stalklimaat en het op een goede manier opvangen van de kuikens gedurende de eerste levensdagen in de stal worden toegepast, maar het effect hiervan is pas na dagen te verwachten.

Kreupelheid is een uitingsvorm van pijn die de dieren ervaren en tast het welzijn van de kuikens sterk aan. Dieren die kreupel zijn willen het liefst blijven zitten of liggen, waarbij huidbeschadigingen kunnen ontstaan door contact met (nat) strooisel en ammoniak, dat vaak gevolgd wordt door (bacteriële) huidontsteking. De kuikens komen alleen in beweging om te eten en te drinken. Naast pijn bij bewegen en pijn door de huidontsteking, kunnen de dieren ziek worden (door secundaire bacteriën) en worden frequent letterlijk 'overlopen' door gezonde soortgenoten. Omdat locomotie problemen multifactorieel zijn, wordt vaak onnodig een kuur met antibioticum ingezet, omdat de etiologie van het probleem nog niet duidelijk is. Als – na het verrichten van veterinaire diagnostisch onderzoek – de etiologie wel duidelijk wordt, kan het nog dagen tot weken duren voordat herstel optreedt nadat een therapie/interventie is ingesteld (cave: er zijn geen ontstekingsremmers geregistreerd om pijn met als gevolg kreupelheid bij kippen te verminderen). Het kunnen gebruiken van een geregistreerd diergeneesmiddel dat pijn en ontsteking kan verminderen is een essentieel hulpmiddel om lijden van de dieren te beperken en omdat dit een overbrugging vormt naar volledig herstel als de etiologie bekend is. Dit project draagt daarom bij aan het bevorderen van het welzijn van kuikens die kreupel zijn, het beperken van economische schade en het verantwoord omgaan met antibiotica.

In dit project wordt een Reo virus infectie model met vleeskuikens gebruikt. Dit model, omschreven in 3.1., is wettelijk niet vereist. Om de twee producten te kunnen registreren zijn de 2 werkzaamheidsstudies waarin het model wordt gebruikt toegelaten door competente autoriteiten.

3.4 Onderzoeksstrategie

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

Dit project bevat 3 onderdelen

1. Het ontwikkelen van een diermodel waarbij het effect van oraal of subcutaan toedienen van 3 doseringen van een bekend Reo virus isolaat op het ontstaan van locomotie problemen bij vleeskuikens wordt onderzocht. Tegelijkertijd wordt het effect van [REDACTED] NSAID op het ontstaan van de geïnduceerde locomotie afwijkingen onderzocht.
2. Bepalen van de werkzaamheid van product A om Reo virus geïnduceerde locomotie problemen symptomatisch te behandelen.
3. Bepalen van de werkzaamheid van product B om Reo virus geïnduceerde locomotie problemen symptomatisch te behandelen.

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

Bij het ontwikkeling van het diermodel – beschreven in dierproef 3.4.4.1. - worden 3 doseringen [REDACTED] [REDACTED] van een bekend Reo virus isolaat [REDACTED] toegediend aan vleeskuikens (n=20 per groep). Als bij 10% van de dieren kreupelheid ontstaat, dan wordt aan 10 dieren een NSAID verstrekt via het drinkwater in een dosering van [REDACTED]. Op de dag van inoculatie met het Reo virus en 3 en 7 dagen na de start van toediening van het NSAID, wordt van elk kuiken de mate van kreupelheid visueel beoordeeld aan de hand van internationaal erkende criteria. Drie dagen na de start van de behandeling met NSAID wordt de helft van de dieren gedood voor postmortaal onderzoek. De andere helft van de dieren wordt om dezelfde reden gedood 7 dagen na de start van de behandeling met het NSAID. Door de resultaten van de groepen onderling te vergelijken, kan een beslissing worden genomen welke toedieningsroute en dosering Reo virus gebruikt moet worden in 2 dierproeven die noodzakelijk zijn om de werkzaamheid van de 2 producten te testen. Daarnaast wordt met de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1. inzichtelijk of een NSAID in een gebruikelijke dosering van [REDACTED] ontsteking en kreupelheid daadwerkelijk reduceert.

Het bepalen van de werkzaamheid van de producten A en B wordt separaat van elkaar gedaan. De 2 producten hebben dezelfde werkzame stof, maar verschillen in samenstelling van elkaar. Daarom worden de producten apart van elkaar onderzocht. De samenstelling van een product is van invloed op de biologische beschikbaarheid van het NSAID en daarmee op de werkzaamheid. [REDACTED]

[REDACTED] De werkzame stof (het NSAID) die tijdens de ontwikkeling van het diermodel wordt gebruikt is identiek aan de werkzame stof zoals die in de 2 producten aanwezig is. In de twee dierproeven waarin de 2 producten worden onderzocht, worden dieren geïnfecteerd met Reo virus. Als bij [REDACTED] van de dieren locomotie afwijkingen optreden, dan wordt gestart met behandeling met het product. Gedurende en na de behandeling met 3 doseringen van het product wordt de mate van kreupelheid van de dieren beoordeeld en op vaststaande tijden na de start van de behandeling worden dieren geëuthanaseerd voor postmortaal onderzoek. De resultaten tussen groepen dieren worden onderling vergeleken en vergeleken met een niet behandelde Reo virus geïnoculeerde groep. Op basis van deze studies kan van elk product de werkzaamheid in de aanbevolen dosering worden onderzocht.

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.

Gestart wordt met de ontwikkeling van het Reo virus infectie model. Deze studie moet antwoord geven op de vraag

1. welke dosering en welke toedieningsroute moet worden gekozen om bij vleeskuikens kreupelheid als gevolg van peesschede ontsteking te geven;
2. reduceert [REDACTED] lichaamsgewicht NSAID de door Reo virus geïnduceerde afwijkingen (kreupelheid en ontsteking van peesscheden).

De dosering NSAID van [REDACTED] lichaamsgewicht die hier gebruikt wordt is een gangbare dosering en biedt een aanknopingspunt om voor beide producten de doseringsrange te bepalen waarop moet worden getest, omdat getest moet worden in een suboptimale, optimale en maximale dosering. Het hele project

stopt als de Reo virus infectie niet resulteert in de gewenste afwijkingen) of als een dosering van ██████ NSAID geen enkel effect oplevert hetgeen een indicatie is dat het model niet gebruikt kan worden om de werkzaamheid van NSAID's voor wat betreft kreupelheid bij pluimvee aan te tonen. Als in het infectiemodel succesvol is en dat een dosering en toedieningsroute is gevonden die relevante afwijkingen oplevert, dan is dit bepalend voor de twee dierproeven die noodzakelijk zijn om de werkzaamheid van 2 producten te onderzoeken. Als het infectiemodel succesvol is en het NSAID geeft een positief effect, dan worden dierproeven 3.4.4.2 en 3.4.4.3 separaat van elkaar uitgevoerd.

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Vaststelling van de dosering Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.
2	Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product A) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.
3	Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product B) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.
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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	426				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Gezondheidsdienst voor Dieren BV				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table> <tr> <th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr> <tr> <td>3.4.4.1</td><td>Vaststelling van de dosering en toedieningsroute van Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.</td></tr> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	Vaststelling van de dosering en toedieningsroute van Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.1	Vaststelling van de dosering en toedieningsroute van Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.				

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Kreupelheid is een veel voorkomend probleem bij kippen en kent vele oorzaken. NSAID's (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs) kunnen de ontsteking en de pijn leidend tot kreupelheid van een dier verminderen. Er zijn op dit moment in Europa hiervoor nog geen geregistreerde NSAID's bij pluimvee beschikbaar. Om de werkzaamheid van NSAID's voor wat betreft het verminderen van kreupelheid bij vleeskuikens te onderzoeken, is een diermodel nodig waarbij kreupelheid wordt opgewekt als gevolg van ontsteking. In deze dierproef wordt een bestaand Reo virus infectiemodel gevalideerd, waarbij SPF-vleeskuikens worden geïnfecteerd met Reo virus, omdat dit een ontsteking geeft van specifiek de peesscheden wat leidt tot kreupelheid. De Reo virusstam die in deze proef zal worden gebruikt is reeds eerder in diermodellen gebruikt in ons instituut, waarbij ontsteking van de peesscheden en kreupelheid werd opgewekt. Het doel van dit - in de literatuur beschreven - model was anders dan het doel van de dierproef zoals beschreven in deze bijlage. In deze dierproef willen we de optimale dosering en toedieningsroute vinden om vleeskuikens met de Reo virus stam te infecteren, zodat onder gecontroleerde omstandigheden ontsteking van de peesschede en kreupelheid worden opgewekt, die vergelijkbaar zijn met die welke onder praktijkomstandigheden wordt gezien. Daarnaast wordt dit model gebruikt om te kijken of een NSAID in een gebruikelijke dosering peesschedeontsteking en kreupelheid kan reduceren. Het diermodel dat in deze bijlage wordt beschreven vormt namelijk de basis voor 2 dierproeven, waarin de werkzaamheid van [REDACTED] NSAID bevatten wordt onderzocht. [REDACTED]

		Visuele bepaling van de mate van kreupelheid van elk dier. Bloed afname bij 10 dieren om de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus te bepalen.
D0+(X [†])	-	Behandeling met NSAID start als kreupelheid zichtbaar wordt bij tenminste [REDACTED] dieren (uit de gekoppelde groep). Bepaling lichaamsgewicht voor vaststelling toe te dienen hoeveelheid NSAID aan drinkwater.
D0+(X [†] +1d)	-	Behandeling met NSAID. Bepaling lichaamsgewicht voor vaststelling toe te dienen hoeveelheid NSAID aan drinkwater.
D0+(X [†] +2d)	-	Behandeling met NSAID. Bepaling lichaamsgewicht voor vaststelling toe te dienen hoeveelheid NSAID aan drinkwater.
D0+(X [†] +3d)		Visuele bepaling van de mate van kreupelheid van elk dier. Bepaling lichaamsgewicht. Euthanaseren van de helft van de dieren voor sectie.
D0+(X [†] +7d)		Visuele bepaling van de mate van kreupelheid van elk dier. Bepaling lichaamsgewicht. Euthanaseren van de helft van de dieren voor sectie.

* ELD₅₀: Embryo Lethal Dose (wordt uitgevoerd op 8-16 dagen ge-embryoneerde SPF-kippen-eieren)

X[†] = dagen tussen inoculatie en de eerste klinische verschijnselen.

De primaire parameters in deze dierproef zijn:

- Beoordeling van de mate van kreupelheid (aan de hand van een internationaal erkend score systeem), waarbij aan dieren een score van 0, 1, 2 of 3 kan worden toegekend. Dieren met een score 0 hebben geen kreupelheid en geen afwijkend looppatroon.
- Percentage dieren dat kreupelheid laat zien (= dieren met een score hoger dan 0).
- Toename in lichaamsgewicht (in grammen).
- Percentage dieren dat is uitgevallen (overleden of uit de studie is gehaald).
- Dikte van de hakpees aan het einde van de studie (macroscopische meting).
- Dikte van de synovia membraan van de hakpees (histologische meting).

Per toedieningsroute worden de resultaten van de groepen a (alleen geïnoculeerd met Reo virus) met elkaar vergeleken, om een uitspraak te kunnen doen over de te gebruiken dosering Reo virus. Per dosering en per toedieningsroute worden de resultaten van de gekoppelde groepen a & b met elkaar vergeleken, om een uitspraak te kunnen doen of NSAID een door Reo virus geïnduceerde ontsteking en kreupelheid reduceert.

Invaliditeitscriteria van de studie zijn:

- de aanwezigheid van ziekte en sterfte als gevolg van andere oorzaken dan het Reo virus bij meer dan 1 op de 10 dieren per groep (in dat geval wordt de groep geïnvaleideerd).
- met de gebruikte doseringen Reo virus is geen onderscheid tussen Reo geïnfecteerde groepen en de controle groep (groep 1) te maken.
- het niet optreden van kreupelheid binnen 8 dagen na inoculatie met het Reo virus.

Niet valide studies moeten worden herhaald. Het herhalen van de dierproef omdat de validatiecriteria niet zijn gehaald is een go/no go moment en zal worden voorgelegd aan de IvD die zal beslissen of de studie mag worden herhaald.

Aan de hand van de vergelijkingen tussen de groepen wordt:

- Die dosering Reo virus en toedieningsroute gekozen die duidelijke effecten laat zien op de primaire parameters;
- Het effect van het NSAID op de primaire parameters kwalitatief beoordeeld (de gebruikte dosering NSAID heeft effect versus de gebruikte dosering NSAID heeft geen effect), zodat een inschatting gemaakt kan worden welke doseringen NSAID er in de proef beschreven onder bijlage 2 gebruikt moeten worden.

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.

Handelingen aan dieren		
Handeling	Aard van de handeling	Frequentie
Fixeren.	Het dier wordt vastgehouden, zodat het niet kan bewegen tijdens het uitvoeren van de handelingen.	Eenmaal op D0 De dieren worden enkele malen kortdurend gefixeerd om klinische inspectie mogelijk te maken (wordt alleen gedaan als afwijkende verschijnselen worden gezien bij een dier).
Wegen.	Bepalen van het lichaamsgewicht door het dier op een weegschaal te zetten.	- D0: alle dieren. - Dagelijks 1 maal tijdens de toedieningsperiode van het NSAID (geldt alleen voor alle dieren die NSAID krijgen). 3 dagen na de start van de behandeling: alle dieren. 7 dagen na de start van de behandeling: alle (dan nog aanwezige) dieren.
Voeronthouding.	Gedurende maximaal 4 uur wordt voer onthouden aan de dieren. Dit zal zoveel mogelijk gedurende de periode dat de dieren in het donker zitten worden gedaan. Voeronthouding is noodzakelijk om het gewicht van de dieren zuiver vast te kunnen stellen.	Op D0 en 3 & 7 dagen na de start van de behandeling met NSAID bij alle aanwezige dieren.
Kreupelheidsscore	Het dier wordt op een vlakke ondergrond gezet en moet een korte afstand lopen. Het looppatroon wordt door middel van een internationaal erkende score beoordeeld.	Alle aanwezige dieren op D0 en op 3 en 7 dagen na behandeling met het NSAID.
Identificatie.	Aanbrengen van een nummer in de nek.	Eenmaal op D0.
Inoculatie.	60 dieren subcutaan en 60 dieren oraal	Eenmaal op D0
Euthanasie.	Doden waarna aanvullend onderzoek op het gedode dier.	10 dieren op D0 (dit betreft reservedieren). De helft van de dieren 3 dagen na de start van de behandeling. De andere helft van de dieren 7 dagen na de start van de behandeling.

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

Op basis van een powercalculatie is gekeken hoeveel dieren per groep a er minimaal nodig zijn om verschillen in dieren met kreupelheid tussen deze groepen en de referentie groep aan te tonen. Uitgangspunt hierbij is dat er wordt gewerkt met dieren die vrij zijn van Reo virus infectie en niet kreupel zijn voor de infectie met Reo virus (p1). Daarnaast is – gebaseerd op het eerder ontwikkelde model - aangenomen is dat elke dosering Reo virus leidt tot kreupelheid bij tenminste 40% van de geïnoculeerde dieren (p2).

De berekeningen laten zien dat met groepsgroottes van 10 dieren duidelijke verschillen in groepen zijn aan te tonen (Figuur 1). Zo is de power bij 5 kreupel dieren 78% als een REO geïnfecteerde groep wordt vergeleken met de niet-geïnoculeerde controle groep (waarin geen enkel dier kreupel is). Bij deze proef gaat het niet om significante verschillen tussen groepen aan te tonen, maar om een indicatie te krijgen over de te gebruiken dosering Reo virus en de te kiezen toedieningsroute.

Estimated power for a two-sample proportions test
 Fisher's exact test
 Ho: $p_2 = p_1$ versus Ha: $p_2 < p_1$

alpha	alpha_a	power	N	N1	N2	delta	p1	p2
.05	1.8e-06	.9998	20	10	10	-.89	.99	.1
.05	1.8e-06	.9957	20	10	10	-.79	.99	.2
.05	1.8e-06	.9752	20	10	10	-.69	.99	.3
.05	1.8e-06	.9143	20	10	10	-.59	.99	.4
.05	1.8e-06	.7841	20	10	10	-.49	.99	.5
.05	1.8e-06	.5741	20	10	10	-.39	.99	.6
.05	1.8e-06	.3213	20	10	10	-.29	.99	.7
.05	1.8e-06	.1099	20	10	10	-.19	.99	.8

Figuur 1: Power berekening voor het detecteren van verschillen tussen groepen (p_1 : percentage dieren zonder kreupelheid (in het statistische programma kan geen waarde 0 worden ingegeven, vandaar dat de proportie wordt afgerond naar 0.99 is); p_2 : percentage dieren zonder kreupelheid)

B. De dieren

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

- In deze dierproef worden niet genetisch gemodificeerde SPF-vleeskuikens gebruikt. Kippen (vleeskuikens) zijn het doeldier van de NSAID's die worden getest en zijn gevoelig voor infectie met Reo virus.
- De dieren zijn afkomstig van een niet-geregistreerd fokbedrijf.
- SPF-pluimvee: deze dieren zijn vrij van maternale antilichamen tegen Reo virus en het Reo virus zelf. Het voorkomen van maternale antilichamen interfereert met het doel van deze studie (omdat deze de infectie met Reo virus zullen couperen, waardoor ontsteking niet zal optreden).
- Er worden per groep 5 mannelijke en 5 vrouwelijke dieren gebruikt, omdat dit relevant is voor de registratie van het NSAID. Beide geslachten worden onder praktijkomstandigheden gehouden in één stal. Er is geen verschil in het aanslaan van Reo virus infectie tussen mannelijke en vrouwelijk dieren. Hooguit zal kreupelheid bij mannelijke dieren iets eerder worden opgemerkt, omdat deze dieren in het algemeen iets zwaarder zijn dan vrouwelijke dieren.
- Voor deze studie worden 284 vleeskuikens gebruikt met een leeftijd van 1 dag, zodat op D0 (7 dagen leeftijd) er 260 gezonde vleeskuikens geïncubeerd kunnen worden in de studie. De reservedieren die op D0 over zijn worden niet gebruikt, en worden geëuthanaseerd; van 10 reserve dieren wordt als onderdeel van het euthanasieproces het bloed opgevangen zodat de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus kan worden geverifieerd.
- De dieren worden maximaal 21 dagen oud.

C. Hergebruik

Is er hergebruik van dieren?

X Nee, ga door met vraag D.

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

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

X Nee

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

D. Vervanging, vermindering en verfijning

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

Vervanging

Kippen (vleeskuikens) zijn het doeldier van de te onderzoeken NSAID's en gevoelig voor het Reo virus. Het effect van NSAID's op kreupelheid en andere primaire parameters kan alleen in een diemodel worden bepaald en niet met *in vitro* systemen, omdat alle interacties tussen het te onderzoeken NSAID, het dier, het Reo virus en de omgeving alleen in een dier tot uiting komen. Het reeds ontwikkelde model is niet direct bruikbaar voor deze studie, omdat met dat model een andere onderzoeksvraag beantwoord moest worden.

Vermindering en verfijning

- Er worden kippen gebruikt zonder antistoffen tegen het Reo virus die de infectie zouden kunnen remmen en daardoor direct van invloed zijn op de primaire parameters. Hierdoor zijn minder dieren nodig.
- De in deze studie gebruikte Reo virus stam en de doses Reo virus zijn afgeleid van een in beschikbare literatuur beschreven model dat in ons instituut is ontwikkeld. [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
gebruikelijke stappen om in virale diemodellen tot een reeks te komen.
- Het Reo virus model is in vergelijking met andere modellen die kreupelheid opwekken bij kippen zoals infectie met bacteriën relatief mild. Daarnaast is bij gebruik van een model met bacteriën een antibioticum noodzakelijk, waardoor het effect van een NSAID niet goed kan worden onderscheiden van het effect van een antibioticum. Bij infectie met Reo virus speelt dit niet, omdat er na infectie een immuunreactie in het dier wordt opgewekt, die geen effect heeft op de mate van kreupelheid en omdat het NSAID geen rechtstreeks effect heeft op de pathogenese en virulentie van het Reo virus.
- Door middel van powerberekeningen is bepaald dat per groep minimaal 10 dieren nodig zijn om verschillen tussen groepen aan te tonen.

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 dieren worden in groepen gehuisvest en individueel gevolgd. Pijn en angst als gevolg van het verrichten van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van de studie, maar deze handelingen zullen door bevoegd en bekwaam personeel worden verricht, waardoor het ongerief ten gevolge van deze biotechnische handelingen tot een minimum beperkt worden. Lijden als gevolg van ziekte zal tot een minimum worden beperkt, doordat de doses Reo virus die worden gebruikt zijn gebaseerd op wetenschappelijke literatuur en een eerder ontwikkeld model, en doordat de dieren na inoculatie meerdere malen per dag worden geobserveerd. De dieren worden niet langer dan nodig na de inoculatie in leven gelaten indien verwacht wordt dat het humane eindpunt zal worden bereikt. Geëuthanaseerde dieren, resten van onderzochte dieren en mest zullen volgens geldende regels worden afgevoerd, zodat er geen nadelige milieueffecten zijn te verwachten.

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.

Niet van toepassing. Het betreft geen wettelijk vereist onderzoek.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

X Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

X Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Pijn door:

- Percutane inoculatie met behulp van een naald.

•

Deze kortdurende pijnprikkels zijn inherent aan het uitvoeren van handelingen aan de dieren. Pijnstillers zijn voor dergelijke kortdurende ingrepen niet geïndiceerd.

Zes groepen (60 dieren) krijgen na inoculatie met Reo virus geen pijnmedicatie. Pijnmedicatie (al dan niet door NSAID's) heeft effect op de primaire uitkomstparameters doordat ze bijvoorbeeld pijn met als gevolg kreupelheid onderdrukken en zijn daarom in deze dierproef gecontra-indiceerd.

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

Bij 6 groepen is het toedienen van een NSAID bij het optreden van kreupelheid bij 1 van de 20 dieren een onderdeel van de proef om de effectiviteit van het NSAID te testen. Het NSAID wordt via drinkwater toegediend. Omdat gedurende de behandeling met NSAID de wateropname per hok (=groep) nauwkeurig wordt geregistreerd, kan de medicatie met het NSAID accuraat worden ingesteld.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Stress door:
 - o Fixatie voor het uitvoeren van handelingen.
 - o Transport van dieren van hun bekende verblijf naar de eindbestemming (dit duurt 10-15 minuten).
 - o Inductie van de verdoving door inhalatie van een O₂-CO₂ gasmengsel (toenemende concentratie CO₂) ten tijde van euthanasie.
- Onthouden van voer gedurende maximaal 4 uur na de reguliere donkerperiode, waarbij het licht uitblijft tot het moment dat de eerste handelingen aan de dieren worden uitgevoerd. Onthouden van voer is belangrijk om op een zuivere wijze het lichaamsgewicht te kunnen vaststellen.
- Reo virus infectie: de klinische verschijnselen behoudens de verwachte kreupelheid blijven na infectie met Reo virus beperkt tot verminderde toename van het lichaamsgewicht (ten opzichte van de toename in lichaamsgewicht die mag worden verwacht bij dieren die niet met Reo virus zijn geïnfecteerd). Omdat er antilichamen worden gevormd tegen het Reo virus, zal het virus na verloop van tijd worden geëlimineerd, maar blijft de kreupelheid bestaan omdat ontstekingsreacties in pezen en peesmembranen zeer langzaam worden opgeruimd. Er is na Reo virus infectie geen toename te verwachten in gevoeligheid voor secundaire infecties.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De bovengenoemde vormen van welzijnsaantasting door het uitvoeren van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van deze studie.

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

Vermindering van de ernst van deze effecten wordt bereikt doordat handelingen tot een minimum beperkt worden en alleen worden uitgevoerd door ervaren, getraind, bevoegd en bekwaam personeel.

Het onthouden van voer zal zoveel mogelijk aansluitend aan de donkerperiode van de dieren plaats vinden (tijdens de donkerperiode nemen de dieren nauwelijks/geen voer op).

De dieren worden dagelijks minimaal 1 keer geobserveerd op dierniveau, zodat maatregelen (zoals het uit de proef halen als verwacht wordt dat humane eindpunten zullen worden bereikt) tijdig genomen kunnen worden.

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.

Bol zitten met een ruw verenkleed en het niet meer kunnen vertonen van hun natuurlijke gedrag gedurende 24 uur; niet meer zelfstandig kunnen lopen, staan, eten en drinken. Deze humane eindpunten zijn gemakkelijk herkenbaar door het personeel dat de dieren verzorgt. Na inoculatie met het Reo virus zijn er geen additionele humane eindpunten.

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

Maximaal 10%

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.

Niet Reo geïnfecteerde dieren en Reo geïnfecteerde dieren die worden behandeld met NSAID: licht (58 %). Reo geïnfecteerde dieren die niet worden behandeld met NSAID: matig (42%). Deze inschatting is gebaseerd op de verwachting dat het NSAID werkt.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

De dieren moeten aan het einde van de proef worden geëuthanaseerd voor het uitvoeren van postmortaal onderzoek om enkele van de primaire parameters (waaronder bepaling van de dikte van de synovia membraan en aanwezigheid van afwijkingen aan andere organen) vast te kunnen stellen.

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	426				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Gezondheidsdienst voor Dieren BV				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table> <tr> <th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr> <tr> <td>3.4.4.2</td><td>Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product A) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.</td></tr> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.2	Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product A) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.2	Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product A) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.				

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Kreupelheid is een veel voorkomend probleem bij kippen en kent vele oorzaken. NSAID's (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs) kunnen de ontsteking en de pijn leidend tot kreupelheid van een dier verminderen. Er zijn op dit moment in Europa hiervoor nog geen geregistreerde NSAID's bij pluimvee beschikbaar. In deze dierproef wordt de effectiviteit van een te registreren product voor kippen onderzocht om kreupelheid bij vleeskuikens als gevolg van Reo virus infectie te verminderen. Hiervoor wordt het product in drie verschillende concentraties toegediend aan vleeskuikens waarbij kreupelheid geïnduceerd is door infectie met Reo virus. Er is gekozen voor een infectiemodel met Reo virus om de volgende redenen:

- Reo virus infectie leidt tot ontsteking van specifiek de peesscheden in de poten van kippen, wat resulteert in kreupelheid en meetbare veranderingen aan de peesscheden.
- Kreupelheid veroorzaakt door bacteriële infectie leidt tot hoge mortaliteit en er is aanvullende behandeling met antibiotica nodig. Dit infectiemodel achten wij daarom ethisch niet verantwoord (infecties met Reo virussen zijn veel milder in vergelijking met bacteriële infecties). De werking van een antibioticum interfereert bovendien met het effect van het NSAID en is daarom niet bruikbaar om het product te registreren.
- Het NSAID heeft geen direct effect op de Reo virus infectie, maar zal door remming van de ontsteking verlichting van pijn geven en zwelling doen verminderen, waardoor kreupelheid afneemt en/of verdwijnt.

In deze dierproef worden er 5 behandelgroepen gebruikt. De groepen worden op D0 geïnoculeerd volgens onderstaand schema (Tabel 1). Een groep krijgt enkel Reo virus toegediend (groep 1) en één groep krijgt geen Reo virus en geen NSAID toegediend (groep 5); beide groepen dienen als referentie voor de andere 3 groepen. De groepen 2, 3 en 4 krijgen naast het Reo virus het product toegediend in elk een andere dosering, om het effect van de verschillende concentraties op het verminderen van kreupelheid te onderzoeken. De beoogde doseringen voor dit product zijn: [REDACTED] (groep 2), [REDACTED] groep 3) en [REDACTED] lichaamsgewicht (groep 3). De dosering van [REDACTED] wordt gezien als suboptimale dosering, [REDACTED] als optimale dosering en [REDACTED] als de maximale dosering van dit product. De beoogde doseringen zijn gebaseerd op andere indicaties van dit product en vormen een gebruikelijk reeks om NSAID's te testen op doeldieren. Op D0 worden zeven-dagen oude vleeskuikens zonder antilichamen tegen Reo virus geïnfecteerd (groep 1 t/m 4) en blijft één groep niet geïnfecteerd (groep 5). De toedieningsroute [REDACTED] en dosering [REDACTED] [REDACTED] van het Reo virus welke gebruikt zal worden, is in de studie beschreven in bijlage 3.4.4.1 bepaald.

Tussen D0 en D7 zal een door het Reo virus geïnduceerde kreupelheid bij de kuikens gaan optreden. Zodra bij maximaal 10% van alle kuikens afwijkende locomotie wordt gezien, zal behandeling met NSAID worden opgestart in alle groepen. Het NSAID zal worden verstrekt via het drinkwater, waarbij de hoeveelheid toe te dienen NSAID dagelijks op basis van het lichaamsgewicht en de wateropname per groep zal worden bepaald, zodat per dag de juiste dosering NSAID kan worden toegediend. De dieren krijgen 10 dagen het NSAID toegediend. De toedieningsroute, doseringen en de duur van de behandeling zijn conform de registratie eisen van dit product.

Gedurende alle dagen van behandeling met NSAID wordt van elk individueel dier het lichaamsgewicht bepaald. Op de eerste dag van behandeling met het NSAID en 5 en 10 dagen na behandeling wordt visueel de mate van kreupelheid beoordeeld. Op 5 en 10 dagen na de start van de behandeling met NSAID worden per moment per groep 25% van de dieren uit de proef genomen voor postmortaal onderzoek. Veertien dagen na de start van de behandeling met NSAID worden de overgebleven dieren uit de proef genomen voor postmortaal onderzoek. De 4 dagen dat de dieren na de laatste toediening van het NSAID geobserveerd blijven, dient om terugkeer van ontsteking na stopzetten van de behandeling met NSAID aan te tonen. Dit is één van de te registreren eigenschappen van dit product.

Tabel 1 Experimenteel ontwerp

Groep	1	2	3	4	5
n per groep	<40	<40	<40	<40	<40
Behandeling					
D-6	Opzet eendagskuikens.				
D-6 – einde studie	Dagelijkse observatie en verzorging van de dieren.				
D0	- Identificatie van elk dier. - Individuele weging (nuchter) en selectie van de kuikens voor deelname aan de studie. - Gerandomiseerde verdeling van de kippen over 5 groepen. Euthanasie van reservedieren. Het bloed van dieren wordt gebruikt om de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus aan te tonen.				
D0	Toediening Reovirus [†]	Toediening Reovirus [†]	Toediening Reovirus [†]	Toediening Reovirus [†]	
D0 tot einde van studie	- Registratie wateropname per dag, per groep. - Bepalen lichaamsgewicht.				
D0+(X [†])	- Behandeling met NSAID start als locomotie afwijkingen zichtbaar worden bij 10% van de dieren. - Beoordelen van de mate van kreupelheid van elk dier.				
D0+(X [†] +1)	Behandeling met NSAID dag 2.				
D0+(X [†] +2)	Behandeling met NSAID dag 3.				
D0+(X [†] +3)	Behandeling met NSAID dag 4.				
D0+(X [†] +4)	- Behandeling met NSAID dag 5. - Beoordelen van de mate van kreupelheid van elk dier. - Euthanasie van 25% van de dieren voor post mortaal onderzoek (op basis van randomisatie worden de dieren te worden geëuthanaseerd bepaald).				

D0+(X [†] +5) tot en met D0+(X [†] +8)	Behandeling met NSAID dag 6 tot en met 9.
D0+(X [†] +9)	- Behandeling met NSAID dag 10. - Beoordelen van de mate van kreupelheid van elk dier. - Euthanasie van 25% van de dieren per groep voor post mortaal onderzoek (op basis van randomisatie worden de dieren die worden geeuthanaseerd bepaald).
D0+(X [†] +10)	Stop behandeling met NSAID.
D0+(X [†] + maximaal 14)	- Visueel bepalen van de mate van kreupelheid van elk dier. - Individueel wegen van alle dieren. - Euthanasie van de resterende dieren voor sectie onderzoek
X[†] = dagen tussen inoculatie en de eerste klinische verschijnselen. Dit wordt bepaald in dierproef 3.4.4.1. met een maximum van 7 dagen. Indien 7 dagen na inoculatie geen kreupelheid is opgetreden zal de studie als invalide worden beschouwd. ‡ Dosis en route zijn bepaald in de dierproef beschreven in bijlage 1. * N is maximaal 40 dieren groep. Het exacte aantal kippen per groep wordt bepaald op basis van de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1.	

De primaire parameters in deze dierproef zijn:

- Beoordeling van de mate van kreupelheid (aan de hand van een internationaal erkende score systeem), waarbij aan dieren een score van 0, 1, 2 of 3 kan worden toegekend. Dieren met een score 0 hebben geen kreupelheid en geen afwijkend looppatroon.
- Percentage dieren dat kreupelheid laat zien (= dieren met een score hoger dan 0).
- Toename in lichaamsgewicht (in grammen).
- Percentage dieren dat is uitgevallen (overleden of uit de studie is gehaald).
- Dikte van de hakpees (macroscopische meting).
- Dikte van de synovia membraan van de hakpees (histologische meting).

De resultaten van de behandelde groepen 2, 3 en 4 worden onderling vergeleken, vergeleken met de niet behandelde groep (groep 1) en de groep die niet is blootgesteld aan Reo virus (groep 5). Op basis van de resultaten wordt bepaald welke dosis NSAID van dit product het meest effectief is in het reduceren van kreupelheid en de mate van ontsteking.

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.

Handelingen aan dieren		
Handeling	Aard van de handeling	Frequentie
Fixeren.	Het dier wordt vastgehouden, zodat het niet kan bewegen tijdens het uitvoeren van de handelingen.	Eenmaal op D0 en op de dagen dat de locomotie wordt beoordeeld. Eventueel worden dieren lopende de studie kortdurend gefixeerd om klinische inspectie mogelijk te maken (wordt alleen gedaan als afwijkende verschijnselen worden gezien bij een dier).
Wegen	Bepalen van het lichaamsgewicht door het dier op een weegschaal te zetten.	Vanaf D0 t/m einde behandeling met NSAID.
Voeronthouding	Onthouden van voer gedurende maximaal 4 uur na de reguliere donkerperiode, waarbij het licht uitblijft tot het moment dat de eerste handelingen aan de dieren worden uitgevoerd. Onthouden van voer is belangrijk om op een zuivere wijze het lichaamsgewicht te kunnen vaststellen.	Vanaf D0 t/m einde behandeling met NSAID.
Locomotiebeoordeling	Het dier wordt op een vlakke ondergrond gezet en moet een korte afstand (3-4 meter) lopen. Het looppatroon wordt door middel van een internationaal erkende score beoordeeld.	Alle aanwezige dieren twee maal.
Identificatie.	Aanbrengen van een nummer in het nekvel.	Eenmaal op D0.

Inoculatie.	160 dieren [REDACTED] afhankelijk van uitkomst voorgaande studie	Eenmaal op D0
Euthanasie.	Doden waarna aanvullend onderzoek op het gedode dier.	Eenmaal.

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

Het exacte aantal dieren dat nodig is om een verschil tussen de behandelde groepen en de controle groepen enerzijds en een verschil tussen de groepen die een verschillende concentratie NSAID anderzijds aan te tonen wordt afgeleid van de resultaten van de studie beschreven in Bijlage 1. Uitgangspunten hierbij zijn dat:

- Er wordt gewerkt met dieren die vrij zijn van Reo virus infectie en antistoffen tegen Reo virus;
- Een dosering Reo virus leidt tot kreupelheid bij tenminste 40% van de geïnoculeerde dieren.
- Er maximaal 40 dieren per groep worden gebruikt.
- Er worden maximaal 220 eendagskuikens opgezet, waarvan er 20 als reserve dieren gebruikt, om voldoende vitale kuikens te hebben op D0 (de dieren hebben een leeftijd van 7 dagen op D0). De reserve dieren zullen op D0 worden geëuthanaseerd en het bloed zal worden gebruikt om de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus te bevestigen.

Mocht de studie niet valide zijn, dan moet deze worden herhaald. Invaliditeitscriteria voor deze dierproef zijn het aanwezig zijn van antilichamen tegen Reo virus op D0 en het optreden van kliniek en/of sterfte bij meer dan 10% van de dieren dat niet toe te schrijven is aan Reo virus infectie.

B. De dieren

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

- In deze dierproef worden niet genetisch gemodificeerde SPF-vleeskuikens gebruikt. Vleeskuikens zijn het doeldier van het product dat wordt getest en zijn gevoelig voor infectie met Reo virus.
- De kuikens zijn afkomstig van een niet-geregistreerd fokbedrijf.
- SPF-pluimvee: deze dieren zijn vrij van (maternale) antilichamen tegen Reo virus. Het voorkomen van maternale antilichamen interfereert met het doel van deze studie.
- Er worden mannelijke en vrouwelijke dieren gebruikt. Er is geen verschil in gevoeligheid voor het aanslaan van Reo infectie tussen vrouwelijke en mannelijke dieren. Het is mogelijk dat bij mannelijke dieren kreupelheid iets eerder na infectie met Reo virus optreedt, omdat deze dieren een iets groter lichaamsgewicht hebben dan de vrouwelijke dieren.
- Voor deze dierproef worden maximaal 220 dieren (5 groepen à 40 dieren + 20 reserve dieren) gebruikt.
- De dieren hebben bij aanvang van de proef (D0) een leeftijd van 7 dagen. Op deze leeftijd zijn de dieren gevoelig voor het aanslaan van infectie en kan infectie technisch makkelijk worden opgewekt. Bij kippen vindt de meest niet-specifieke sterfte plaats in de eerste levensweek (een uitval van 5% in de eerste levensweek is niet uitzonderlijk); door dieren met een leeftijd van 7 dagen te gebruiken blijven we uit deze kritieke periode.

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

Kippen zijn het doel dier van het te onderzoeken product en zijn gevoelig voor infectie met Reo virus. Het effect van de NSAIDs op kreupelheid en andere parameters kan alleen in levende kippen bepaald worden en niet met *in vitro* systemen, omdat de interacties tussen het dier, de omgeving, het Reo-virus en het product meespelen om de werkzaamheid van het product te bepalen.

Vermindering & verfijning is bereikt door:

- Kippen te gebruiken zonder antistoffen tegen het Reo virus die de infectie zouden kunnen remmen en daardoor direct van invloed zijn op de primaire parameters. Hierdoor zijn minder dieren nodig.
- De te gebruiken dosis Reo virus is in de dierproef beschreven in 3.4.4.1. bepaald. Hierdoor zal de infectie 'maximaal' aanslaan
- De dieren na inoculatie meermaals per dag te observeren. In geval dat verwacht kan worden dat humane eindpunten bereikt zullen worden, zal het betreffende dier uit de studie worden genomen.
- De in deze studie gebruikte Reo virus stam is eerder door ons instituut gebruikt in een in beschikbare literatuur beschreven diermodel, waardoor wij ervaring hebben met deze stam.
- De dosering Reo virus dat aan dieren wordt toegediend en de toedieningsroute wordt in de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1 bepaald.

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 dieren worden in groepen gehuisvest en individueel gevolgd. Pijn en angst als gevolg van het verrichten van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van deze studie, maar deze handelingen zullen door bevoegd en bekwaam personeel worden verricht, waardoor het ongerief ten gevolge van biotechnische handelingen tot een minimum beperkt worden. Lijden als gevolg van ziekte zal tot een minimum worden beperkt, doordat de doses Reo virus die worden gebruikt zijn gebaseerd op wetenschappelijke literatuur en de resultaten van de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1. De dieren worden niet langer dan nodig na de inoculatie in leven gelaten indien verwacht wordt dat het humane eindpunt zal worden bereikt.

Geëuthanaseerde dieren, resten van onderzochte dieren en mest zullen volgens geldende regels worden afgevoerd. De dieren worden gehuisvest in een gesloten, HEPA gefilterde ruimte. Na postmortaal onderzoek worden de karkassen verwijderd als hoog risico materiaal volgens geldende wettelijke procedures. Er zijn hierdoor geen nadelige milieueffecten.

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.

Er zijn in de beschikbare literatuur geen studies beschreven waarin de werking van een NSAID op Reo virus geïnduceerde kreupelheid is onderzocht. Naar ons beste weten, zijn wij het enige instituut in de wereld die beschikt over een Reo virus model in kippen. De dierproef beschreven in deze bijlage is de enige dierproef in Europa die wordt uitgevoerd om het product te registreren.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

☒ Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

• Pijn door:

○

○

Deze kortdurende pijnprikkels zijn inherent aan het uitvoeren van handelingen aan de dieren. Pijnstillers zijn voor dergelijke kortdurende ingrepen niet geïndiceerd.

Één groep (maximaal 40 dieren) krijgt na inoculatie met Reo virus geen pijnmedicatie en één groep (maximaal 40 dieren) krijgt mogelijk na inoculatie met Reo virus een suboptimale pijnmedicatie. Pijnmedicatie (al dan niet door NSAID's) heeft effect op de primaire uitkomstparameters doordat ze bijvoorbeeld pijn met als gevolg kreupelheid onderdrukken en zijn daarom gecontra-indiceerd.

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

Bij 3 groepen is het toedienen van een NSAID bij het optreden van kreupelheid een onderdeel van de proef om de effectiviteit van de NSAID te testen. Het NSAID wordt via drinkwater toegediend. De wateropname en het lichaamsgewicht wordt per groep dagelijks nauwkeurig vastgesteld, zodat medicatie met het NSAID accuraat kan worden ingesteld.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Stress door:

- Fixatie voor het uitvoeren van handelingen.
- Transport van dieren van hun bekende verblijf naar de eindbestemming (dit duurt 10-15 minuten).
- Inductie van de verdoving door inhalatie van een O₂-CO₂ gasmengsel (toenemende concentratie CO₂) ten tijde van euthanasie.
- Onthouden van voer gedurende maximaal 4 uur na de reguliere donkerperiode, waarbij het licht uitblijft tot het moment dat de eerste handelingen aan de dieren worden uitgevoerd. Onthouden van voer is belangrijk om op een zuivere wijze het lichaamsgewicht te kunnen vaststellen.

- Reo virus infectie: de klinische verschijnselen behoudens kreupelheid blijven na Reo virus infectie beperkt tot verminderde toename van het lichaamsgewicht (ten opzichte van de toename in lichaamsgewicht die mag worden verwacht). Omdat er antilichamen worden gevormd tegen het Reo virus, zal het virus na verloop van tijd worden geëlimineerd, maar blijft de kreupelheid bestaan omdat ontstekingsreacties in pezen en peesmembranen zeer langzaam worden opgeruimd. Er is na Reo-virus infectie geen toename te verwachten in gevoeligheid voor secundaire infecties.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De bovengenoemde vormen van welzijnsaantasting door het uitvoeren van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van deze studie.

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

Vermindering van de ernst van deze effecten wordt bereikt doordat handelingen tot een minimum beperkt worden en alleen worden uitgevoerd door ervaren, getraind en bekwaam personeel.
Het onthouden van voer zal zoveel mogelijk gedurende en aansluitend aan de donkerperiode van de dieren plaats vinden (met een maximum van 5 uur aansluitend aan de donkerperiode).
Door meerdere malen per dag de dieren te observeren kan een goede inschatting worden gemaakt of een dier het humane eindpunt zal bereiken.

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.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bol zitten met een ruw verenkleed en het niet meer kunnen vertonen van hun natuurlijke gedrag gedurende 24 uur; niet meer zelfstandig kunnen lopen, staan, eten en drinken. Deze humane eindpunten zijn gemakkelijk herkenbaar door het personeel dat de dieren verzorgt. Na inoculatie met het Reo virus zijn er geen additionele humane eindpunten.

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

Maximaal 10%

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.

Reo-virus geïnfecteerd, niet NSAID behandeld: 100% matig.

Reo-virus geïnfecteerd, behandeld met NSAID in suboptimale dosering: 100% matig.

Reo-virus geïnfecteerd, behandeld met NSAID in beoogde dosering: 100% licht.

Reo-virus geïnfecteerd, behandeld met NSAID in overdosering: 100% licht.

Niet Reo-virus geïnfecteerd, net behandeld met NSAID: 100% licht.

Reserve dieren: licht (max 20 dieren).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

De dieren moeten aan het einde van de proef worden geëuthanaseerd voor het uitvoeren van postmortaal onderzoek om enkele van de primaire parameters (waaronder bepaling van de dikte van de synovia membraan en aanwezigheid van afwijkingen aan andere organen) vast te kunnen stellen.

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	426				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Gezondheidsdienst voor Dieren BV				
1.3 Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table> <tr> <th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr> <tr> <td>3.4.4.3</td><td>Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product B) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.</td></tr> </table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.3	Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product B) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.3	Dose-response bepaling van een nieuw te registreren NSAID (Product B) op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.				

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Kreupelheid is een veel voorkomend probleem bij kippen en kent vele oorzaken. NSAID's (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs) kunnen de ontsteking en de pijn leidend tot kreupelheid van een dier verminderen. Er zijn op dit moment in Europa hiervoor nog geen geregistreerde NSAID's bij pluimvee beschikbaar. In deze dierproef wordt de effectiviteit van een te registreren product voor kippen onderzocht om kreupelheid bij vleeskuikens als gevolg van Reo virus infectie te verminderen. Hiervoor wordt het product in drie verschillende concentraties toegediend aan vleeskuikens waarbij kreupelheid geïnduceerd is door infectie met Reo virus. Er is gekozen voor een infectiemodel met Reo virus om de volgende redenen:

- Reo virus infectie leidt tot ontsteking van specifiek de peesscheden in de poten van kippen, wat resulteert in kreupelheid en meetbare veranderingen aan de peesscheden.
- Kreupelheid veroorzaakt door bacteriële infectie leiden tot hoge mortaliteit en er is aanvullende behandeling met antibiotica nodig is. Dit infectiemodel achten wij daarom ethisch niet verantwoord (infecties met Reo virussen zijn veel milder in vergelijking met bacteriële infecties). De werking van een antibioticum interfereert bovendien met het effect van het NSAID en is daarom niet bruikbaar om de product te registreren.
- Het NSAID heeft geen direct effect op de Reo virus infectie, maar zal door remming van de ontsteking verlichting van pijn geven en zwelling doen verminderen, waardoor kreupelheid afneemt en/of verdwijnt.

In deze dierproef worden er 5 behandelgroepen gebruikt. De groepen worden op D0 geïnoculeerd volgens onderstaand schema (Tabel 1). Een groep krijgt enkel Reo virus toegediend (groep 1) en één groep krijgt geen Reo virus en geen NSAID toegediend (groep 5); beide groepen dienen als referentie voor de andere 3 groepen. De groepen 2, 3 en 4 krijgen naast het Reo virus het product toegediend in elk een andere dosering, om het effect van de verschillende concentraties op het verminderen van kreupelheid te onderzoeken. De beoogde doseringen voor dit product zijn: [REDACTED] (groep 2), [REDACTED] (groep 3) en [REDACTED] lichaamsgewicht (groep 3). De dosering van [REDACTED] wordt gezien als suboptimale dosering, [REDACTED] als optimale dosering en [REDACTED] als de maximale dosering van dit product. De beoogde doseringen zijn gebaseerd op andere indicaties van dit product en vormen een gebruikelijk reeks om NSAID's te testen op doeldieren. Op D0 worden zeven-dagen oude vleeskuikens zonder antilichamen tegen Reo virus geïnfecteerd (groep 1 t/m 4) en blijft één groep niet geïnfecteerd (groep 5). De toedieningsroute [REDACTED] en dosering [REDACTED] [REDACTED] van het Reo virus welke gebruikt zal worden, is in de studie beschreven in bijlage 1 bepaald.

Tussen D0 en D7 zal een door het Reo virus geïnduceerde kreupelheid bij de kuikens gaan optreden. Zodra bij maximaal 10% van alle kuikens afwijkende locomotie wordt gezien, zal behandeling met NSAID worden opgestart in groep 2-4. Het NSAID zal worden verstrekt via het drinkwater, waarbij de hoeveelheid toe te dienen NSAID dagelijks op basis van het lichaamsgewicht en de wateropname per groep zal worden bepaald, zodat per dag de juiste dosering NSAID kan worden toegediend. De dieren krijgen 3 dagen het NSAID toegediend. De toedieningsroute, doseringen en de duur van de behandeling zijn conform de registratie eisen van dit product.

Gedurende alle dagen van behandeling met NSAID wordt van elk individueel dier het lichaamsgewicht bepaald. Op de eerste dag van behandeling met het NSAID en 1 en 4 dagen na stoppen van de behandeling met NSAID wordt visueel de mate van kreupelheid beoordeeld. Één en vier dagen na het stoppen van de behandeling worden per moment 50% van de dieren uit de proef genomen voor postmortaal onderzoek. De 4 dagen dat de dieren na de laatste toediening van het NSAID geobserveerd blijven, dient om terugkeer van ontsteking na stopzetten van de behandeling met NSAID aan te tonen. Dit is één van de te registreren eigenschappen van dit product.

Tabel 1 Experimenteel ontwerp

Groep	1	2	3	4	5
n per groep	≤40	≤40	≤40	≤40	≤40
Behandeling	Reo-virus				Geen
D-6	Opzet eendagskuikens.				
D-6 – einde studie	Dagelijkse observatie en verzorging van de dieren.				
D0	• Identificatie van elk dier door middel van een swift tack in het nekvel. • Individuele weging (nuchter) en selectie van de kuikens voor deelname aan de studie. • Gerandomiseerde verdeling van de kippen over 5 groepen. Euthanasie van reservedieren. Het bloed van dieren wordt gebruikt om de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus aan te tonen.				
D0	Toediening Reovirus [±]	Toediening Reovirus [±]	Toediening Reovirus [±]	Toediening Reovirus [±]	
D0 tot einde van studie	• Registratie wateropname per dag, per groep. • Bepalen lichaamsgewicht.				
D0+(X [†])	• Behandeling met NSAID start als locomotieafwijkingen zichtbaar worden bij 10% van de dieren. • Beoordelen van de mate van kreupelheid van elk dier.				
D0+(X [†] +1)	Behandeling met NSAID dag 2.				
D0+(X [†] +2)	Behandeling met NSAID dag 3.				
D0+(X [†] +3)	• Beoordelen van de mate van kreupelheid van elk dier. • Euthanasie van 50% van de dieren voor post mortaal onderzoek (op basis van randomisatie worden de dieren te worden geëuthanaseerd bepaald).				

D0+(X [†] +7)	• Beoordelen van de mate van kreupelheid van elk dier. • Euthanasie van 50% van de dieren voor post mortaal onderzoek (op basis van randomisatie worden de dieren de worden geeuthanaseerd bepaald).
X[†] = dagen tussen inoculatie en de eerste klinische verschijnselen. Dit wordt bepaald in dierproef 3.4.4.1. met een maximum van 7 dagen. Indien 7 dagen na inoculatie geen kreupelheid is opgetreden zal de studie als invalide worden beschouwd. † Dosis en route zijn bepaald in de dierproef beschreven in bijlage 1. * N is maximaal 40 dieren groep. Het exacte aantal kippen per groep wordt bepaald op basis van de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1.	

De primaire parameters in deze dierproef zijn:

- Beoordeling van de mate van kreupelheid (aan de hand van een internationaal erkende score systeem), waarbij aan dieren een score van 0, 1, 2 of 3 kan worden toegekend. Dieren met een score 0 hebben geen kreupelheid en geen afwijkend looppatroon.
- Percentage dieren dat kreupelheid laat zien (= dieren met een score hoger dan 0).
- Toename in lichaamsgewicht (in grammen).
- Percentage dieren dat is uitgevallen (overleden of uit de studie is gehaald).
- Dikte van de hakpees (macroscopische meting).
- Dikte van de synovia membraan van de hakpees (histologische meting).

De resultaten van de behandelde groepen 2, 3 en 4 worden onderling vergeleken, vergeleken met de niet behandelde groep (groep 1) en de groep die niet is blootgesteld aan Reo virus (groep 5). Op basis van de resultaten wordt bepaald welke dosis NSAID van dit product het meest effectief is in het reduceren van kreupelheid en de mate van ontsteking.

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.

Handelingen aan dieren		
Handeling	Aard van de handeling	Frequentie
Fixeren.	Het dier wordt vastgehouden, zodat het niet kan bewegen tijdens het uitvoeren van de handelingen.	Eenmaal op D0 en op de dagen dat de locomotie wordt beoordeeld. Eventueel worden dieren lopende de studie kortdurend gefixeerd om klinische inspectie mogelijk te maken (wordt alleen gedaan als afwijkende verschijnselen worden gezien bij een dier).
Wegen	Bepalen van het lichaamsgewicht door het dier op een weegschaal te zetten.	Vanaf D0 t/m einde behandeling met NSAID.
Voeronthouding	Onthouden van voer gedurende maximaal 4 uur na de reguliere donkerperiode, waarbij het licht uitblijft tot het moment dat de eerste handelingen aan de dieren worden uitgevoerd. Onthouden van voer is belangrijk om op een zuivere wijze het lichaamsgewicht te kunnen vaststellen..	Vanaf D0 t/m einde behandeling met NSAID.
Locomotiebeoordeling	Het dier wordt op een vlakke ondergrond gezet en moet een korte afstand (3-4 meter) lopen. Het looppatroon wordt door middel van een internationaal erkende score beoordeeld.	Alle dieren twee maal.
Identificatie.	Aanbrengen van een nummer in het nekvel.	Eenmaal op D0.
Inoculatie.	160 dieren oraal of subcutaan afhankelijk van uitkomst voorgaande studie	Eenmaal op D0
Euthanasie.	Doden waarna aanvullend onderzoek op het gedode dier.	Eenmaal.

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

Het exacte aantal dieren dat nodig is om een verschil tussen de behandelde groepen en de controle groepen enerzijds en een verschil tussen de groepen die een verschillende concentratie NSAID anderzijds aan te tonen wordt afgeleid van de resultaten van de studie beschreven in Bijlage 1. Uitgangspunten hierbij zijn dat:

- Er wordt gewerkt met dieren die vrij zijn van Reo virus infectie en antistoffen tegen Reo virus;
- Een dosering Reo virus leidt tot kreupelheid bij tenminste 40% van de geïnoculeerde dieren.
- Er maximaal 40 dieren per groep worden gebruikt.
- Er worden maximaal 220 eendagskuikens opgezet, waarvan er 20 als reserve dieren gebruikt, om voldoende vitale kuikens te hebben op D0 (de dieren hebben een leeftijd van 7 dagen op D0). De reserve dieren zullen op D0 worden geëuthanaseerd en het bloed zal worden gebruikt om de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus te bevestigen.

Mocht de studie niet valide zijn, dan moet deze worden herhaald. Invaliditeitscriteria voor deze dierproef zijn het aanwezig zijn van antilichamen tegen Reo virus op D0 en het optreden van kliniek en/of sterfte bij meer dan 10% van de dieren dat niet toe te schrijven is aan Reo virus infectie.

B. De dieren

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

- In deze dierproef worden niet genetisch gemodificeerde vleeskuikens gebruikt. Vleeskuikens zijn het doeldier van het product dat wordt getest en zijn gevoelig voor infectie met Reo virus.
- De kuikens zijn afkomstig van een niet-geregistreerd fokbedrijf.
- SPF-pluimvee: deze dieren zijn vrij van (maternale) antilichamen tegen Reo virus. Het voorkomen van maternale antilichamen interfereert met het doel van deze studie.
- Er worden mannelijke en vrouwelijke dieren gebruikt. Er is geen verschil in gevoeligheid voor het aanslaan van Reo infectie tussen vrouwelijke en mannelijke dieren. Het is mogelijk dat mannelijke dieren kreupelheid iets eerder na infectie met Reo virus optreedt, omdat deze dieren een iets groter lichaamsgewicht hebben dan de vrouwelijke dieren.
- Voor deze dierproef worden maximaal 220 dieren (5 groepen à 40 dieren + 20 reserve dieren) gebruikt.
- De dieren hebben bij aanvang van de proef (D0) een leeftijd van 7 dagen. Op deze leeftijd zijn de dieren gevoelig voor het aanslaan van infectie en kan infectie technisch makkelijk worden opgewekt. Bij kippen vindt de meest niet-specifieke sterfte plaats in de eerste levensweek (een uitval van 5% in de eerste levensweek is niet uitzonderlijk); door dieren met een leeftijd van 7 dagen te gebruiken blijven we uit deze kritieke periode.

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

Kippen zijn het doel dier van het te onderzoeken product en zijn gevoelig voor infectie met Reo virus. Het effect van de NSAIDs op kreupelheid en andere parameters kan alleen in levende kippen bepaald worden en niet met *in vitro* systemen, omdat de interacties tussen het dier, de omgeving, het Reo-virus en het product meespelen om de werkzaamheid van het product te bepalen.

Vermindering & verfijning is bereikt door:

- Kippen te gebruiken zonder antistoffen tegen het Reo virus die de infectie zouden kunnen remmen en daardoor direct van invloed zijn op de primaire parameters. Hierdoor zijn minder dieren nodig.
- De te gebruiken dosis Reo virus is in de dierproef beschreven in 3.4.4.1. bepaald. Hierdoor zal de infectie 'maximaal' aanslaan
- De dieren na inoculatie meermaals per dag te observeren. In geval dat verwacht kan worden dat humane eindpunten bereikt zullen worden, zal het betreffende dier uit de studie worden genomen.
- De in deze studie gebruikte Reo virus stam is eerder door ons instituut gebruikt in een in beschikbare literatuur beschreven diermodel, waardoor wij ervaring hebben met deze stam.
- De dosering Reo virus dat aan dieren wordt toegediend en de toedieningsroute wordt in de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1 bepaald.

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 dieren worden in groepen gehuisvest en individueel gevolgd. Pijn en angst als gevolg van het verrichten van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van deze studie, maar deze handelingen zullen door bevoegd en bekwaam personeel worden verricht, waardoor het ongerief ten gevolge van biotechnische handelingen tot een minimum beperkt worden. Lijden als gevolg van ziekte zal tot een minimum worden beperkt, doordat de doses Reo virus die worden gebruikt zijn gebaseerd op wetenschappelijke literatuur en de resultaten van de dierproef beschreven in bijlage 3.4.4.1. De dieren worden niet langer dan nodig na de inoculatie in leven gelaten indien verwacht wordt dat het humane eindpunt zal worden bereikt.

Geëuthanaseerde dieren, resten van onderzochte dieren en mest zullen volgens geldende regels worden afgevoerd. De dieren worden gehuisvest in een gesloten, HEPA gefilterde ruimte. Na postmortaal onderzoek worden de karkassen verwijderd als hoog risico materiaal volgens geldende wettelijke procedures. Er zijn hierdoor geen nadelige milieueffecten.

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.

Er zijn in de beschikbare literatuur geen studies beschreven waarin de werking van een NSAID op Reo virus geïnduceerde kreupelheid is onderzocht. Naar ons beste weten, zijn wij het enige instituut in de wereld die beschikt over een Reo virus model in kippen. De dierproef beschreven in deze bijlage is de enige dierproef in Europa die wordt uitgevoerd om het product te registreren.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

☒ Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

dieren gewaarborgd?

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

X Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

- Pijn door:
 - Percutane inoculatie met behulp van een naald.

Deze kortdurende pijnprikkels zijn inherent aan het uitvoeren van handelingen aan de dieren. Pijnstillers zijn voor dergelijke kortdurende ingrepen niet geïndiceerd.

Één groep (maximaal 40 dieren) krijgen na inoculatie met Reo virus geen pijnmedicatie en één groep (maximaal 40 dieren) krijgt mogelijk na inoculatie met Reo virus een suboptimale pijnmedicatie. Pijnmedicatie (al dan niet door NSAID's) heeft effect op de primaire uitkomstparameters doordat ze bijvoorbeeld pijn met als gevolg kreupelheid onderdrukken en zijn daarom gecontra-indiceerd.

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

Bij 3 groepen is het toedienen van een NSAID bij het optreden van kreupelheid een onderdeel van de proef om de effectiviteit van de NSAID te testen. Het NSAID wordt via drinkwater toegediend. De wateropname en het lichaamsgewicht wordt per groep dagelijks nauwkeurig vastgesteld, zodat medicatie met het NSAID accuraat kan worden ingesteld.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Stress door:
 - Fixatie voor het uitvoeren van handelingen.
 - Transport van dieren van hun bekende verblijf naar de eindbestemming (dit duurt 10-15 minuten).
 - Inductie van de verdoving door inhalatie van een O₂-CO₂ gasmengsel (toenemende concentratie CO₂) ten tijde van euthanasie.
 - Onthouden van voer gedurende maximaal 4 uur na de reguliere donkerperiode, waarbij het licht uitblijft tot het moment dat de eerste handelingen aan de dieren worden uitgevoerd. Onthouden van voer is belangrijk om op een zuivere wijze het lichaamsgewicht te kunnen vaststellen.
- Reo virus infectie: de klinische verschijnselen behoudens kreupelheid blijven na Reo virus infectie beperkt tot verminderde toename van het lichaamsgewicht (ten opzichte van de toename in lichaamsgewicht die mag worden verwacht). Omdat er antilichamen worden gevormd tegen het Reo virus, zal het virus na verloop van tijd worden geëlimineerd, maar blijft de kreupelheid bestaan omdat ontstekingsreacties in pezen en peesmembranen zeer langzaam worden opgeruimd. Er is na Reo-virus infectie geen toename te verwachten in gevoeligheid voor secundaire infecties.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De bovengenoemde vormen van welzijnsaantasting door het uitvoeren van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van deze studie.

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

Vermindering van de ernst van deze effecten wordt bereikt doordat handelingen tot een minimum beperkt worden en alleen worden uitgevoerd door ervaren, getraind en bekwaam personeel. Het onthouden van voer zal zoveel mogelijk gedurende en aansluitend aan de donkerperiode van de dieren plaats vinden (met een maximum van 5 uur aansluitend aan de donkerperiode). Door meerdere malen per dag de dieren te observeren kan een goede inschatting worden gemaakt of een dier het humane eindpunt zal bereiken.

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.

X Ja > Geef aan welke criteria hierbij worden gehanteerd.

Bol zitten met een ruw verenkleed en het niet meer kunnen vertonen van hun natuurlijke gedrag gedurende 24 uur; niet meer zelfstandig kunnen lopen, staan, eten en drinken. Deze humane eindpunten zijn gemakkelijk herkenbaar door het personeel dat de dieren verzorgt. Na inoculatie met het Reo virus zijn er geen additionele humane eindpunten.

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

Maximaal 10%

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.

Reo-virus geïnfecteerd, niet NSAID behandeld: 100% matig.

Reo-virus geïnfecteerd, behandeld met NSAID in suboptimale dosering: 100% matig.

Reo-virus geïnfecteerd, behandeld met NSAID in beoogde dosering: 100% licht.

Reo-virus geïnfecteerd, behandeld met NSAID in overdosering: 100% licht.

Niet Reo-virus geïnfecteerd, net behandeld met NSAID: 100% licht. Reserve dieren: licht (max 20 dieren).

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

De dieren moeten aan het einde van de proef worden geëuthanaseerd voor het uitvoeren van postmortaal onderzoek om enkele van de primaire parameters (waaronder bepaling van de dikte van de synovia membraan en aanwezigheid van afwijkingen aan andere organen) vast te kunnen stellen.

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Gezondheidsdienst voor Dieren

Postbus 9
7400 AA DEVENTER


**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
AVD426002016734

Bijlagen

2

Datum 24 maart 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte 

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 23 maart 2017. Het gaat om uw project "Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers.". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD426002016734. 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. U ontvangt binnen veertig werkdagen een beslissing op uw aanvraag. Als wij nog informatie van u nodig hebben, wordt deze termijn opgeschort. 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 kan uw aanvraag buiten behandeling worden 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.centralecommissiedierproeven.nl. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Datum:

24 maart 2017

Aanvraagnummer:

AVD426002016734

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

Datum:
24 maart 2017
Aanvraagnummer:
AVD426002016734

Gegevens aanvrager

Uw gegevens

Deelnemersnummer NVWA: 42600
Naam instelling of organisatie: Gezondheidsdienst voor Dieren
Naam portefeuillehouder of
diens gemachtigde: 
KvK-nummer: 8 1 1 7 6 3 6
Postbus: 9
Postcode en plaats: 7400 AA DEVENTER
IBAN: NL79ANBA0108807045
Tenaamstelling van het
rekeningnummer: Gezondheidsdienst voor Dieren BV

Gegevens verantwoordelijke onderzoeker

Naam: 
Functie: 
Afdeling: 
Telefoonnummer: 
E-mailadres: 

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

Datum:

24 maart 2017

Aanvraagnummer:

NL026002016734

Over uw project

Geplande startdatum:

1 mei 2017

Geplande einddatum:

1 mei 2019

Titel project:

Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers.

Titel niet-technische samenvatting:

Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers

Naam DEC:

[REDACTED]

Postadres DEC:

[REDACTED]

E-mailadres DEC:

[REDACTED]

Betaalgegevens

De leges bedragen:

€ 1.684,-

De leges voldoet u:

na ontvangst van de factuur

Checklist bijlagen

Verplichte bijlagen:

- ☒ Projectvoorstel
☒ Beschrijving Dierproeven
☒ Niet-technische samenvatting

Overige bijlagen:

- ☒ DEC-advies

Ondertekening

Naam:

[REDACTED]

Functie:

[REDACTED]

Plaats:

Deventer

Datum:

23 maart 2017



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Gezondheidsdienst voor Dieren

Postbus 9
7400 AA DEVENTER
|||||

**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
AVD426002016734
Bijlagen
2

Datum 24 maart 2017
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

Factuur

Factuurdatum: 24 maart 2017
Vervaldatum: 23 april 2017
Factuurnummer: 170734

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD426002016734	€ 1.684,00

Wij verzoeken u het totaalbedrag vóór de gestelde vervaldatum over te maken op rekening NL29INGB 070.500.1512 onder vermelding van het factuurnummer en aanvraagnummer, ten name van Centrale Commissie Dierproeven, Postbus 93144, 2509 AC te 's Gravenhage.

DEC-advies

A. Algemene gegevens over de procedure

1. Aanvraagnummer: AVD426002016734
 2. Titel van het project: Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers.
 3. Titel van de NTS: Behandeling van pijn bij kreupele kippen
 4. Type aanvraag:
 - X nieuwe aanvraag projectvergunning
 5. Contactgegevens DEC:
 - naam DEC: [REDACTED]
 - telefoonnummer contactpersoon: [REDACTED]
 - e-mailadres contactpersoon: [REDACTED]
 6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):
 - X ontvangen door DEC: 10-01-2017
 - X aanvraag compleet: 02-03-2017
 - X in vergadering besproken: 15-02-2017 en 15-03-2017
 - andersonszins behandeld
 - termijnonderbreking(en) van / tot
 - besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met maximaal 15 werkdagen
 - X aanpassing aanvraag: 02-03-2017
 - X advies aan CCD: advies aan aanvrager gestuurd 22-03-2017
 7. Geef aan of de aanvraag is afgestemd met de IvD en deze de instemming heeft van de IvD.
De inhoud van dit project is afgestemd met de IvD en deze heeft geen bedenkingen rond de uitvoering van het project binnen deze instelling.
- Bij de punten 8 t/m 10 kan worden volstaan met 'n.v.t.' wanneer de betreffende acties niet aan de orde zijn geweest.*
8. Eventueel horen van aanvrager: n.v.t.
 9. Correspondentie met de aanvrager:
Datum gestelde vragen: 27-01-2017
De aanvrager is gevraagd om een aantal punten te verduidelijken m.b. t het belang van het project en een nadere toelichting op het model. Verder werd gevraagd het doel en de strategie beter op elkaar af te stemmen. Er werden vragen gesteld betreffende de experimentele opzet, de huisvesting en mogelijke bijwerkingen van de te testen producten.
Datum verstrekte antwoorden: 02-03-2017
Alle vragen en opmerkingen werden naar tevredenheid beantwoord en zijn verwerkt in de bijgestelde projectaanvraag.
 10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC): n.v.t.

B. Beoordeling (adviesvraag en behandeling)

1. Is het project vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet)? Indien van toepassing, licht toe waarom het project niet vergunningplichtig is en of daar discussie over geweest is.
Het project is vergunningplichtig.
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. Is de DEC competent om hierover te adviseren?
De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Geef aan of DEC-leden, met het oog op onafhankelijkheid en onpartijdigheid, zijn uitgesloten van de behandeling van de aanvraag en het opstellen van het advies. Indien van toepassing, licht toe waarom.
Geen van de aanwezige DEC-leden is betrokken bij het betreffende project of de aanvrager. Een van de leden adviseert de instelling in algemene zin over dierproeven en het wettelijk kader.

C. Beoordeling (inhoud)

1. Beoordeel of de aanvraag toetsbaar is en voldoende samenhang heeft (*Zie handreiking 'Invulling definitie project'; zie bijlage I voor toelichting en voorbeeld*).
Deze aanvraag heeft een duidelijke concrete doelstelling en kan getypeerd worden als een project. Het doel van dit project is om, [REDACTED] de werkzaamheid van twee pijnstillers met ontstekingsremmende werking (NSAIDs) te testen in vleeskuikens. Hiertoe wordt eerst een relevant ontstekingsmodel ontwikkeld waarbij de dieren worden besmet met Reo virus. Deze besmetting veroorzaakt klinische verschijnselen die met ontsteking en kreupelheid gepaard gaan. Als gebleken is dat in dit model effecten van een (bekende) NSAID kunnen worden gemeten worden de twee NSAIDs in dit model getest op effectiviteit.
2. Signaleer of er mogelijk tegenstrijdige wetgeving is die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan. Het gaat hier om wetgeving die gericht is op de gezondheid en welzijn van het dier of het voortbestaan van de soort (bijvoorbeeld Wet dieren en Flora- en faunawet). De indiener heeft dit aangegeven en voor zover de DEC weet is er geen tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. Beoordeel of de in de projectaanvraag aangekruiste doelcategorie(ën) aansluit(en) bij de hoofddoelstelling. Nevendoelstellingen van beperkt belang hoeven niet te worden aangekruist in het projectvoorstel.
De in de projectaanvraag aangekruiste doelcategoriën zijn in overeenstemming met de hoofddoelstelling.

Belangen en waarden

4. Benoem zowel het directe doel als het uiteindelijke doel en geef aan of er een directe en reële relatie is tussen beide doelstellingen. Beoordeel of het directe doel gerechtvaardigd is binnen de context van het onderzoeksveld (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C4; zie bijlage I voor voorbeeld*).
Het directe doel van het project is het beantwoorden van de vraag of twee veterinaire preparaten met als werkzame stof een pijnstiller met ook ontstekingsremmende werking, (NSAID), effectiviteit hebben in een relevant model voor pijn (a.g.v. ontsteking) bij slachtkuikens dat hiertoe vooraf wordt gevalideerd.
[REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED] De directe en uiteindelijke doelstellingen zijn nauw verbonden en haalbaar, ook gezien de beschikbare expertise en voorzieningen bij de aanvrager. Het betreft wettelijk verplicht onderzoek waarbij de werkzaamheid van de middelen aangetoond dient te worden.

5. Benoem de belanghebbenden in het project en beschrijf voor elk van de belanghebbenden welke morele waarden in het geding zijn of bevorderd worden (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 2.B en tabel 1; zie bijlage I voor voorbeeld*).

De belangrijkste belanghebbenden zijn de proefdieren, de doeldieren waarvoor de preparaten bestemd zijn, de instelling die de vergunning heeft aangevraagd, [REDACTED]

[REDACTED] en de pluimveehouders die hun dieren beter kunnen behandelen en zo ook schade (dierenwelzijn, technische resultaten) voorkomen. Voor de proefdieren geldt dat hun welzijn en integriteit worden aangetast. De dieren zullen gedurende de proeven stress, pijn en ziekte ondervinden. Uiteindelijk zullen ze in het kader van het onderzoek gedood worden. De dieren hebben er belang bij hiervan gevrijwaard te blijven.

De uiteindelijke doeldieren (vleeskuikens) hebben belang bij een goed werkende NSAID omdat ontstekingen van het bewegingsapparaat frequent voorkomen. Door de beschikbaarheid van NSAIDs zullen de dieren minder pijn lijden. Het belang van de aanvrager is een economisch belang maar geeft ook invulling aan haar maatschappelijke taak als expertisecentrum voor pluimveeziekten. [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED]
Het belang van de pluimveehouder is dat met een goed werkzame NSAID en de keuze uit meerdere producten op goede wijze gezorgd kan worden voor gezondheid en welzijn van de gehouden dieren.

6. Geef aan of er sprake kan zijn van substantiële milieueffecten. Zo ja, benoem deze, leg uit waarom daar sprake van kan zijn en geef aan of deze effecten afgedekt worden door specifieke wet- en regelgeving op het gebied van het omgaan met voor het milieu risicovolle stoffen of organismen.

Er is geen sprake van substantiële milieueffecten als gevolg van het onderzoek.

Proefopzet en haalbaarheid

7. Beoordeel of de kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven voldoende gewaarborgd zijn. Licht uw beoordeling toe. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C5*).

De aanvrager heeft ruime ervaring met het uitvoeren van dit type dierproeven en met een vergelijkbaar diermodel. [REDACTED]

[REDACTED] De commissie is er van overtuigd dat de ervaring en expertise bij de gebruiker er toe zal leiden dat de doelstelling haalbaar is, dat er zorgvuldig met de proefdieren gewerkt zal worden en dat er niet onnodig dieren gebruikt zullen worden.

8. Beoordeel of het project goed is opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en of de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. Licht uw beoordeling toe. *Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C6*).

De commissie is van oordeel dat het project goed is opgezet, dat de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters logisch en helder aansluiten bij de aangegeven doelstellingen en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling in het kader van het project. [REDACTED]

[REDACTED] Tevens

is aannemelijk gemaakt dat de uitkomsten statistisch toetsbaar zijn. De commissie is er van overtuigd dat de doelstellingen van dit project haalbaar zijn.

Welzijn dieren

9. Geef aan of er sprake is van één of meerdere bijzondere categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren. Beoordeel of de keuze hiervoor voldoende wetenschappelijk is onderbouwd en of de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de Dierproeven (Wod). voor de desbetreffende categorie genoemde beperkende voorwaarden. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C1; zie bijlage I voor toelichting en voorbeelden*).

X Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)

Er wordt bij een deel van de controle dieren pijn verwacht ten gevolge van de niet behandelde ontsteking veroorzaakt door de Reo virus infectie. Het doel van de studie is de pijn en deze ontsteking tegen te gaan. Het toepassen van andere pijnbestrijding is in deze studie gecontra-indiceerd, omdat dat in dat geval de werkzaamheid van de te testen stoffen niet onderzocht kan worden.

10. Geef aan of de dieren gehuisvest en verzorgd worden op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van richtlijn 2010/63/EU. Indien niet aan deze minimale eisen kan worden voldaan, omdat het, om redenen van dierenwelzijn of diergezondheid of om wetenschappelijke redenen, noodzakelijk is hiervan af te wijken, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe.
De dieren worden gehuisvest in grondhokken conform de richtlijn 2010/63/EU.

11. Beoordeel of het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven voor elk dier realistisch is ingeschat en geclassificeerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*).

Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. De welzijnsaantasting is matig als gevolg van de biotechnische handelingen en de effecten van de ontsteking (440 dieren). Voor de dieren die een effectieve ontstekingsremmer krijgen of niet geïnfecteerd worden met het Reo virus blijft de welzijnsaantasting beperkt tot licht (724 dieren).

12. Het uitvoeren van dierproeven zal naast het ongerief vaak gepaard gaan met aantasting van de integriteit van het dier. Beschrijf op welke wijze er sprake is van aantasting van integriteit. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C2*). (*zie bijlage I voor voorbeeld*).

De integriteit van het dier wordt aangetast door de handelingen die aan de dieren worden uitgevoerd en door de ontsteking (gepaard gaand met kreupelheid) die wordt geïnduceerd.

13. Beoordeel of de criteria voor humane eindpunten goed zijn gedefinieerd en of goed is ingeschat welk percentage dieren naar verwachting een humaan eindpunt zal bereiken. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De commissie is van oordeel dat de criteria voor humane eindpunten voldoende specifiek gedefinieerd zijn en toegesneden zijn op het experiment. Op basis van eerdere ervaringen met dit diermodel wordt ingeschat dat 10% van de dieren een humaan eindpunt zal bereiken. De commissie onderschrijft deze inschatting en de gehanteerde humane eindpunten.

3V's

14. Beoordeel of de aanvrager voldoende aannemelijk heeft gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte

vervangingsalternatieven zijn. [REDACTED] De effectiviteit van een NSAID kan alleen in een dier dat een pijnlijke ontsteking doormaakt getest worden op effectiviteit. Pijn is niet in vitro te simuleren in het licht van deze doelstelling, en ontsteking is een complexe reactie op een infectie die niet buiten het intacte dier kan worden gesimuleerd. Bovendien is het niet mogelijk een indruk te krijgen in welke mate een NSAID effectief is zonder de voorgestelde dierproeven.

15. Beoordeel of het aantal te gebruiken dieren realistisch is ingeschat en of er een heldere strategie is om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Het maximale aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat. [REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

16. Beoordeel of het project in overeenstemming is met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project zodanig is opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd. Licht uw beoordeling toe (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Het project is in overeenstemming met de vereiste van de verfijning van dierproeven. Kippen zijn het doeldier van deze dierproeven. De DEC is er van overtuigd dat de beschreven proefopzet de meest verfijnde is en dat de dierproeven zo humaan mogelijk worden uitgevoerd. De onderzoekers hebben ook andere beproefde modellen beschreven om pijn en ontsteking te induceren bij deze diersoort, maar deze gaan gepaard met aanzienlijk meer ongerief dan het nu voorgestelde model.

17. Beoordeel, indien het wettelijk vereist onderzoek betreft, of voldoende aannemelijk is gemaakt dat er geen duplicatie plaats zal vinden en of de aanvrager beschikt over voldoende expertise en informatie om tijdens de uitvoering van het project te voorkomen dat onnodige duplicatie plaatsvindt. Licht uw beoordeling toe.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef

18. Geef aan of dieren van beide geslachten in gelijke mate ingezet zullen worden. Indien alleen dieren van één geslacht gebruikt worden, beoordeel of de aanvrager dat in voldoende mate wetenschappelijk heeft onderbouwd. (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Voor deze studie zullen dieren van beide geslachten worden ingezet. Er is geen reden om aan te nemen dat de NSAIDs verschillend werken in prepuberale dieren van verschillend geslacht. De preparaten zijn uiteindelijk ook bestemd voor toepassing in gemengde koppels

19. Geef aan of dieren gedood worden in kader van het project (tijdens of na afloop van de dierproef). Indien dieren gedood worden, geef aan of en waarom dit noodzakelijk is voor het behalen van de doelstellingen van het project. Indien dieren gedood worden, geef aan of er een voor de diersoort passende dodingsmethode gebruikt wordt die vermeld staat in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU. Zo niet, beoordeel of dit in voldoende mate is onderbouwd. Licht uw beoordeling toe. Indien van toepassing, geeft ook aan of er door de aanvrager ontheffing is aangevraagd (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 1.C3*).

Alle voor deze dierproef gebruikte dieren worden gedood in het kader van de proef, t.b.v. nader post mortem onderzoek van de weefsels en organen.

Er wordt een voor de dieren passende dodingsmethode gebruikt, vermeld in bijlage IV van richtlijn 2010/63/EU.

20. Indien niet-humane primaten, honden, katten of landbouwhuisdieren worden gedood om niet-wetenschappelijke redenen, is herplaatsing of hergebruik overwogen? Licht toe waarom dit wel/niet mogelijk is.

Er worden in deze projectaanvraag geen landbouwhuisdieren, honden, katten of niet-humane primaten gedood om niet-wetenschappelijke redenen, de dieren worden in het kader van de proef gedood om wetenschappelijke redenen.

NTS

21. Is de niet-technische samenvatting een evenwichtige weergave van het project en begrijpelijk geformuleerd?

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

D. Ethische afweging

1. Benoem de centrale morele vraag (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.A*).
Rechtvaardigt het belang van de doelstelling van het project het ongerief dat de dieren wordt aangedaan, en is aan alle zorgvuldigheidseisen (3V's) voldaan?

2. Weeg voor de verschillende belanghebbenden, zoals beschreven onder C5, de sociale en morele waarden waaraan tegemoet gekomen wordt of die juist in het geding zijn, ten opzichte van elkaar af. Om dit proces te vergemakkelijken, kunt u de belangrijkste belanghebbenden en de belangrijkste waarden die in het geding zijn waarderen. U kunt dit verwoorden in termen van gering, matig of veel/ernstig voordeel of nadeel. Geef aan waarom de DEC bevordering van waarden (baten) voor de ene belanghebbende prevaleert boven de aantasting van waarden (kosten) voor de andere belanghebbende (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.B; zie bijlage I voor voorbeelden*).

Naar schatting 38% van de proefdieren ervaart een matige aantasting van het welzijn. De overige dieren ervaren een lichte aantasting van hun welzijn. De doelstellingen kunnen niet zonder gebruik van dieren (in dit geval het doeldier) worden behaald. De onderzoekers doen al het mogelijke om het lijden van de dieren en het aantal dieren te beperken.

De uiteindelijke doeldieren hebben belang bij een goed werkzame pijnstiller/ontstekingsremmer teneinde de aantasting van hun welzijn in geval van (bij voorbeeld) kreupelheid te verminderen. [REDACTED]

[REDACTED]

Pluimveehouders hebben een economisch belang bij het gebruiken van pijnstillers/ontstekingsremmers omdat dit schade aan de dieren (en technische uitkomsten) kan voorkomen.

De aanvragende instelling heeft een economisch belang bij het op verzoek van derden uitvoeren van proeven in het kader van gezondheidszorg van landbouwhuisdieren. Dit geeft bovendien invulling aan haar maatschappelijke taak als expertisecentrum voor pluimveeziekten. Dit draagt ertoe bij dat de experimenten zorgvuldig en met een grote kans op succes worden uitgevoerd.

[REDACTED]

In het licht van de bovengeschetste belangen voor de verschillende belanghebbenden (inclusief de doeldieren), acht de commissie het beschikbaar komen van deze NSAID-preparaten van belang. De voorgestelde experimenten zijn daarvoor noodzakelijk.

3. Beantwoord de centrale morele vraag. Maak voor het beantwoorden van deze vraag gebruik van bovenstaande afweging van morele waarden. Maak daarnaast gebruik van de volgende moreel relevante feiten: belang onderzoek (C4), kennis en kunde van

betrokkenen (C7), haalbaarheid doelstellingen (C8), categorieën en herkomst dieren (C9), 3V's (C14-C18), ongerief (C10-13 en C19) en relevante wet en regelgeving (C2). Onderbouw hoe al deze elementen zijn meegewogen bij de beantwoording van de centrale morele vraag, zodanig dat het navolgbaar is zonder gedetailleerde kennis te hebben van het projectvoorstel (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 3.C; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Kreupelheid komt bij 20 tot 30% van de vleeskuikens voor. Dit is onder andere het gevolg van infecties, maar ook, soms indirect, door de wijze waarop deze dieren worden gehouden. Er is hier sprake van enerzijds de economische belangen van de pluimveesector, die te maken heeft met de markt voor hun producten en daarom beperkte mogelijkheden heeft om de leefomstandigheden van de dieren te verbeteren en anderzijds de belangen van de doeldieren die bij voorkeur op een diervriendelijker manier gehouden zouden moeten worden. Deze spagaat wordt mede veroorzaakt door de wens van (een deel van) de maatschappij om goedkoop kippenvlees te kunnen kopen en anderzijds om dierenleed zo veel mogelijk te beperken. Het gaan toedienen van pijnstillers aan dieren die ten gevolge van onder andere niet optimale huisvestingsomstandigheden kreupel worden bestrijdt eerder de symptomen dan de oorzaak van het probleem hetgeen dit dilemma niet oplost.

Daarnaast is het van maatschappelijk belang om ontstekingen in de pluimveehouderij niet te bestrijden met antibiotica omdat dit resistentie bij micro-organismen kan bevorderen.

De commissie is op grond hiervan overtuigd van het belang van de doelstelling: het beantwoorden van de vraag of de te testen NSAIDs effectief zijn bij kippen, [REDACTED]

[REDACTED] Dit heeft belangrijke voordelen voor de doeldieren omdat er een behandeling beschikbaar komt en ook geen ondeugdelijke NSAIDs zullen worden gebruikt, en voor de pluimveehouders [REDACTED]

De commissie is overtuigd van de kwaliteit van het werk van de aanvrager. De opzet van de voorgestelde dierproeven volgt uit wettelijke eisen. De DEC is van mening dat het project goed is opgezet, en dat de gekozen strategie en experimentele aanpak kunnen leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn, dat het doel niet met minder dieren behaald kan worden, dat de gebruikte aanpak de meest verfijnde is en dat zij zal kunnen voorkomen dat mens, dier en milieu onbedoelde negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven.

De DEC is van oordeel dat het hierboven geschetste belang de onvermijdelijke nadelige gevolgen van dit onderzoek voor de dieren, in de vorm van angst, pijn, stress of ziekte, rechtvaardigt. Aan de eis dat het belang van de experimenten dient op te wegen tegen het ongerief dat de dieren wordt berokkend, wordt voldaan.

E. Advies

1. Advies aan de CCD
X De DEC adviseert de vergunning te verlenen.
2. Het uitgebrachte advies kan unaniem tot stand zijn gekomen dan wel gebaseerd zijn op een meerderheidsstandpunt in de DEC. Indien gebaseerd op een meerderheidsstandpunt, specificeer het minderheidsstandpunt op het niveau van verschillende belanghebbenden en de waarden die in het geding zijn (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.A; zie bijlage I voor voorbeeld*).

Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Omschrijf de knelpunten/dilemma's die naar voren zijn gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies zowel binnen als buiten de context van het project (*Zie Praktische handreiking ETK: Stap 4.B*).

De DEC constateert het volgende dilemma:

In de pluimveehouderij worden de dieren zodanig gehuisvest dat een groot deel last heeft van kreupelheid. [REDACTED]

[REDACTED]
[REDACTED] In de ethische afweging hierboven is reeds op dit dilemma ingegaan. Daarnaast zullen er ook andere indicaties zijn, niet gerelateerd aan suboptimale huisvesting, voor NSAIDs in kippen, [REDACTED]



Centrale Commissie Dierproeven

9.

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Gezondheidsdienst voor Dieren

[Redacted]

Postbus 9

7400 AA DEVENTER



**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

AVD426002016734

Datum 4 april 2017

Betreft aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Op 23 maart 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers." met aanvraagnummer AVD426002016734. 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:

Onduidelijkheden

U geeft in bijlage 3.4.4.1 aan de dieren onder praktijkomstandigheden te huisvesten (vraag B van de bijlage), terwijl u in vraag F van deze bijlage aangeeft de dieren volgens de eisen in Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU te huisvesten. Dit lijkt niet consistent. Kunt u dit consistent maken en indien nodig een onderbouwing geven bij vraag F?

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. Stuurt u het per post op, gebruik dan het formulier dat u bij deze brief krijgt.

Datum:

4 april 2017

Aanvraagnummer:

AVD426002016734

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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Betreft: AVD426002016734

Geachte heer, mevrouw,

In uw schrijven d.d. 04 april 2017 stelt u de volgende vraag:

Onduidelijkheden

U geeft in bijlage 3.4.4.1 aan de dieren onder praktijkomstandigheden te huisvesten (vraag B van de bijlage), terwijl u in vraag F van deze bijlage aangeeft de dieren volgens de eisen in Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU te huisvesten. Dit lijkt niet consistent. Kunt u dit consistent maken en indien nodig een onderbouwing geven bij vraag F?

Antwoord:

Wij begrijpen de onduidelijkheid tussen de 2 tekstpassages die is ontstaan. De dieren worden conform de eisen zoals gesteld in bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU gehuisvest. De term 'praktijkomstandigheden' zoals genoemd onder vraag B heeft betrekking op de huisvesting van de dieren in een grondhok op strooisel, zoals in de praktijk ook wordt uitgevoerd. Omwille van de duidelijkheid hebben wij in bijlage 3.4.4.1. bij vraag B de zin waarin het woord 'praktijkomstandigheden' wordt genoemd verwijderd. Een nieuwe bijlage treft u bijgaand aan.

Met vriendelijke groet,





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.centralecommissiedierproeven.nl.
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

1 Algemene gegevens

1.1	Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	426				
1.2	Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Gezondheidsdienst voor Dieren BV				
1.3	Vul het volgnummer en het type dierproef in. <i>Gebruik de volgnummers van vraag 3.4.4 van het format Projectvoorstel.</i>	<table><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr><tr><td>3.4.4.1</td><td>Vaststelling van de dosering en toedieningsroute van Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.</td></tr></table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	Vaststelling van de dosering en toedieningsroute van Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.
Volgnummer	Type dierproef					
3.4.4.1	Vaststelling van de dosering en toedieningsroute van Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.					

2 Beschrijving dierproeven

A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Kreupelheid is een veel voorkomend probleem bij kippen en kent vele oorzaken. NSAID's (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs) kunnen de ontsteking en de pijn leidend tot kreupelheid van een dier verminderen. Er zijn op dit moment in Europa hiervoor nog geen geregistreerde NSAID's bij pluimvee beschikbaar. Om de werkzaamheid van NSAID's voor wat betreft het verminderen van kreupelheid bij vleeskuikens te onderzoeken, is een diermodel nodig waarbij kreupelheid wordt opgewekt als gevolg van ontsteking. In deze dierproef wordt een bestaand Reo virus infectiemodel gevalideerd, waarbij SPF-vleeskuikens worden geïnfecteerd met Reo virus, omdat dit een ontsteking geeft van specifiek de peesscheden wat leidt tot kreupelheid. De Reo virusstam die in deze proef zal worden gebruikt is reeds eerder in diermodellen gebruikt in ons instituut, waarbij ontsteking van de peesscheden en kreupelheid werd opgewekt. Het doel van dit - in de literatuur beschreven - model was anders dan het doel van de dierproef zoals beschreven in deze bijlage. In deze dierproef willen we de optimale dosering en toedieningsroute vinden om vleeskuikens met de Reo virus stam te infecteren, zodat onder gecontroleerde omstandigheden ontsteking van de peesschede en kreupelheid worden opgewekt, die vergelijkbaar zijn met die welke onder praktijkomstandigheden wordt gezien. Daarnaast wordt dit model gebruikt om te kijken of een NSAID in een gebruikelijke dosering peesschedeontsteking en kreupelheid kan reduceren. Het diermodel dat in deze bijlage wordt beschreven vormt namelijk de basis voor 2 dierproeven, waarin de werkzaamheid van [REDACTED] NSAID [REDACTED] wordt onderzocht. [REDACTED]

		Visuele bepaling van de mate van kreupelheid van elk dier. Bloed afname bij 10 dieren om de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus te bepalen.
D0+(X [†])	-	Behandeling met NSAID start als kreupelheid zichtbaar wordt bij tenminste [REDACTED] dieren (uit de gekoppelde groep). Bepaling lichaamsgewicht voor vaststelling toe te dienen hoeveelheid NSAID aan drinkwater.
D0+(X [†] +1d)	-	Behandeling met NSAID. Bepaling lichaamsgewicht voor vaststelling toe te dienen hoeveelheid NSAID aan drinkwater.
D0+(X [†] +2d)	-	Behandeling met NSAID. Bepaling lichaamsgewicht voor vaststelling toe te dienen hoeveelheid NSAID aan drinkwater.
D0+(X [†] +3d)		Visuele bepaling van de mate van kreupelheid van elk dier. Bepaling lichaamsgewicht. Euthanaseren van de helft van de dieren voor sectie.
D0+(X [†] +7d)		Visuele bepaling van de mate van kreupelheid van elk dier. Bepaling lichaamsgewicht. Euthanaseren van de helft van de dieren voor sectie.

* ELD₅₀: Embryo Lethal Dose (wordt uitgevoerd op 8-16 dagen ge-embryoneerde SPF-kippen-eieren)

X[†] = dagen tussen inoculatie en de eerste klinische verschijnselen.

De primaire parameters in deze dierproef zijn:

- Beoordeling van de mate van kreupelheid (aan de hand van een internationaal erkend score systeem), waarbij aan dieren een score van 0, 1, 2 of 3 kan worden toegekend. Dieren met een score 0 hebben geen kreupelheid en geen afwijkend looppatroon.
- Percentage dieren dat kreupelheid laat zien (= dieren met een score hoger dan 0).
- Toename in lichaamsgewicht (in grammen).
- Percentage dieren dat is uitgevallen (overleden of uit de studie is gehaald).
- Dikte van de hakpees aan het einde van de studie (macroscopische meting).
- Dikte van de synovia membraan van de hakpees (histologische meting).

Per toedieningsroute worden de resultaten van de groepen a (alleen geïnoculeerd met Reo virus) met elkaar vergeleken, om een uitspraak te kunnen doen over de te gebruiken dosering Reo virus. Per dosering en per toedieningsroute worden de resultaten van de gekoppelde groepen a & b met elkaar vergeleken, om een uitspraak te kunnen doen of NSAID een door Reo virus geïnduceerde ontsteking en kreupelheid reduceert.

Invaliditeitscriteria van de studie zijn:

- de aanwezigheid van ziekte en sterfte als gevolg van andere oorzaken dan het Reo virus bij meer dan 1 op de 10 dieren per groep (in dat geval wordt de groep geïnvaleideerd).
- met de gebruikte doseringen Reo virus is geen onderscheid tussen Reo geïnfecteerde groepen en de controle groep (groep 1) te maken.
- het niet optreden van kreupelheid binnen 8 dagen na inoculatie met het Reo virus.

Niet valide studies moeten worden herhaald. Het herhalen van de dierproef omdat de validatiecriteria niet zijn gehaald is een go/no go moment en zal worden voorgelegd aan de IvD die zal beslissen of de studie mag worden herhaald.

Aan de hand van de vergelijkingen tussen de groepen wordt:

- Die dosering Reo virus en toedieningsroute gekozen die duidelijke effecten laat zien op de primaire parameters;
- Het effect van het NSAID op de primaire parameters kwalitatief beoordeeld (de gebruikte dosering NSAID heeft effect versus de gebruikte dosering NSAID heeft geen effect), zodat een inschatting gemaakt kan worden welke doseringen NSAID er in de proef beschreven onder bijlage 2 gebruikt moeten worden.

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.

Handelingen aan dieren		
Handeling	Aard van de handeling	Frequentie
Fixeren.	Het dier wordt vastgehouden, zodat het niet kan bewegen tijdens het uitvoeren van de handelingen.	Eenmaal op D0 De dieren worden enkele malen kortdurend gefixeerd om klinische inspectie mogelijk te maken (wordt alleen gedaan als afwijkende verschijnselen worden gezien bij een dier).
Wegen.	Bepalen van het lichaamsgewicht door het dier op een weegschaal te zetten.	- D0: alle dieren. - Dagelijks 1 maal tijdens de toedieningsperiode van het NSAID (geldt alleen voor alle dieren die NSAID krijgen). 3 dagen na de start van de behandeling: alle dieren. 7 dagen na de start van de behandeling: alle (dan nog aanwezige) dieren.
Voeronthouding.	Gedurende maximaal 4 uur wordt voer onthouden aan de dieren. Dit zal zoveel mogelijk gedurende de periode dat de dieren in het donker zitten worden gedaan. Voeronthouding is noodzakelijk om het gewicht van de dieren zuiver vast te kunnen stellen.	Op D0 en 3 & 7 dagen na de start van de behandeling met NSAID bij alle aanwezige dieren.
Kreupelheidsscore	Het dier wordt op een vlakke ondergrond gezet en moet een korte afstand lopen. Het looppatroon wordt door middel van een internationaal erkende score beoordeeld.	Alle aanwezige dieren op D0 en op 3 en 7 dagen na behandeling met het NSAID.
Identificatie.	Aanbrengen van een nummer in de nek.	Eenmaal op D0.
Inoculatie.	60 dieren subcutaan en 60 dieren oraal	Eenmaal op D0
Euthanasie.	Doden waarna aanvullend onderzoek op het gedode dier.	10 dieren op D0 (dit betreft reservedieren). De helft van de dieren 3 dagen na de start van de behandeling. De andere helft van de dieren 7 dagen na de start van de behandeling.

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

Op basis van een powercalculatie is gekeken hoeveel dieren per groep a er minimaal nodig zijn om verschillen in dieren met kreupelheid tussen deze groepen en de referentie groep aan te tonen. Uitgangspunt hierbij is dat er wordt gewerkt met dieren die vrij zijn van Reo virus infectie en niet kreupel zijn voor de infectie met Reo virus (p1). Daarnaast is – gebaseerd op het eerder ontwikkelde model - aangenomen is dat elke dosering Reo virus leidt tot kreupelheid bij tenminste 40% van de geïnoculeerde dieren (p2).

De berekeningen laten zien dat met groepsgroottes van 10 dieren duidelijke verschillen in groepen zijn aan te tonen (Figuur 1). Zo is de power bij 5 kreupele dieren 78% als een REO geïnfecteerde groep wordt vergeleken met de niet-geïnoculeerde controle groep (waarin geen enkel dier kreupel is). Bij deze proef gaat het niet om significante verschillen tussen groepen aan te tonen, maar om een indicatie te krijgen over de te gebruiken dosering Reo virus en de te kiezen toedieningsroute.

Estimated power for a two-sample proportions test
 Fisher's exact test
 Ho: $p_2 = p_1$ versus Ha: $p_2 < p_1$

alpha	alpha_a	power	N	N1	N2	delta	p1	p2
.05	1.8e-06	.9998	20	10	10	-.89	.99	.1
.05	1.8e-06	.9957	20	10	10	-.79	.99	.2
.05	1.8e-06	.9752	20	10	10	-.69	.99	.3
.05	1.8e-06	.9143	20	10	10	-.59	.99	.4
.05	1.8e-06	.7841	20	10	10	-.49	.99	.5
.05	1.8e-06	.5741	20	10	10	-.39	.99	.6
.05	1.8e-06	.3213	20	10	10	-.29	.99	.7
.05	1.8e-06	.1099	20	10	10	-.19	.99	.8

Figuur 1: Power berekening voor het detecteren van verschillen tussen groepen (p1: percentage dieren zonder kreupelheid (in het statistische programma kan geen waarde 0 worden ingegeven, vandaar dat de proportie wordt afgerond naar 0.99 is); p2: percentage dieren zonder kreupelheid)

B. De dieren

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

- In deze dierproef worden niet genetisch gemodificeerde SPF-vleeskuikens gebruikt. Kippen (vleeskuikens) zijn het doeldier van de NSAID's die worden getest en zijn gevoelig voor infectie met Reo virus.
- De dieren zijn afkomstig van een niet-geregistreerd fokbedrijf.
- SPF-pluimvee: deze dieren zijn vrij van maternale antilichamen tegen Reo virus en het Reo virus zelf. Het voorkomen van maternale antilichamen interfereert met het doel van deze studie (omdat deze de infectie met Reo virus zullen couperen, waardoor ontsteking niet zal optreden).
- Er worden per groep 5 mannelijke en 5 vrouwelijke dieren gebruikt, omdat dit relevant is voor de registratie van het NSAID. Er is geen verschil in het aanslaan van Reo virus infectie tussen mannelijke en vrouwelijk dieren. Hooguit zal kreupelheid bij mannelijke dieren iets eerder worden opgemerkt, omdat deze dieren in het algemeen iets zwaarder zijn dan vrouwelijke dieren.
- Voor deze studie worden 284 vleeskuikens gebruikt met een leeftijd van 1 dag, zodat op D0 (7 dagen leeftijd) er 260 gezonde vleeskuikens geïncubeerd kunnen worden in de studie. De reservedieren die op D0 over zijn worden niet gebruikt, en worden geëuthanaseerd; van 10 reserve dieren wordt als onderdeel van het euthanasieproces het bloed opgevangen zodat de afwezigheid van antilichamen tegen Reo virus kan worden geverifieerd.
- De dieren worden maximaal 21 dagen oud.

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 welk keuzes daarbij zijn gemaakt.

Vervanging

Kippen (vleeskuikens) zijn het doeldier van de te onderzoeken NSAID's en gevoelig voor het Reo virus. Het effect van NSAID's op kreupelheid en andere primaire parameters kan alleen in een diermodel worden bepaald en niet met *in vitro* systemen, omdat alle interacties tussen het te onderzoeken NSAID, het dier, het Reo virus en de omgeving alleen in een dier tot uiting komen. Het reeds ontwikkelde model is niet direct bruikbaar voor deze studie, omdat met dat model een andere onderzoeksvraag beantwoord moest worden.

Vermindering en verfijning

- Er worden kippen gebruikt zonder antistoffen tegen het Reo virus die de infectie zouden kunnen remmen en daardoor direct van invloed zijn op de primaire parameters. Hierdoor zijn minder dieren nodig.
- De in deze studie gebruikte Reo virus stam en de doses Reo virus zijn afgeleid van een in beschikbare literatuur beschreven model dat in ons instituut is ontwikkeld. [REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]
gebruikelijke stappen om in virale diermodellen tot een reeks te komen.
- Het Reo virus model is in vergelijking met andere modellen die kreupelheid opwekken bij kippen zoals infectie met bacteriën relatief mild. Daarnaast is bij gebruik van een model met bacteriën een antibioticum noodzakelijk, waardoor het effect van een NSAID niet goed kan worden onderscheiden van het effect van een antibioticum. Bij infectie met Reo virus speelt dit niet, omdat er na infectie een immuunreactie in het dier wordt opgewekt, die geen effect heeft op de mate van kreupelheid en omdat het NSAID geen rechtstreeks effect heeft op de pathogenese en virulentie van het Reo virus.
- Door middel van powerberekeningen is bepaald dat per groep minimaal 10 dieren nodig zijn om verschillen tussen groepen aan te tonen.

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 dieren worden in groepen gehuisvest en individueel gevolgd. Pijn en angst als gevolg van het verrichten van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van de studie, maar deze handelingen zullen door bevoegd en bekwaam personeel worden verricht, waardoor het ongerief ten gevolge van deze biotechnische handelingen tot een minimum beperkt worden. Lijden als gevolg van ziekte zal tot een minimum worden beperkt, doordat de doses Reo virus die worden gebruikt zijn gebaseerd op wetenschappelijke literatuur en een eerder ontwikkeld model, en doordat de dieren na inoculatie meerdere malen per dag worden geobserveerd. De dieren worden niet langer dan nodig na de inoculatie in leven gelaten indien verwacht wordt dat het humane eindpunt zal worden bereikt. Geëuthanaseerde dieren, resten van onderzochte dieren en mest zullen volgens geldende regels worden afgevoerd, zodat er geen nadelige milieueffecten zijn te verwachten.

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.

Niet van toepassing. Het betreft geen wettelijk vereist onderzoek.

Huisvesting en verzorging

F. Huisvesting en verzorging

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

☒ Nee

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

G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

X Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

Ongeriefinschatting/humane eindpunten

H. Pijn en pijnbestrijding

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

☐ Nee > Ga verder met vraag I.

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

X Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

Pijn door:

- Percutane inoculatie met behulp van een naald.
-

Deze kortdurende pijnprikkels zijn inherent aan het uitvoeren van handelingen aan de dieren. Pijnstillers zijn voor dergelijke kortdurende ingrepen niet geïndiceerd.

Zes groepen (60 dieren) krijgen na inoculatie met Reo virus geen pijnmedicatie. Pijnmedicatie (al dan niet door NSAID's) heeft effect op de primaire uitkomstparameters doordat ze bijvoorbeeld pijn met als gevolg kreupelheid onderdrukken en zijn daarom in deze dierproef gecontra-indiceerd.

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

Bij 6 groepen is het toedienen van een NSAID bij het optreden van kreupelheid bij 1 van de 20 dieren een onderdeel van de proef om de effectiviteit van het NSAID te testen. Het NSAID wordt via drinkwater toegediend. Omdat gedurende de behandeling met NSAID de wateropname per hok (=groep) nauwkeurig wordt geregistreerd, kan de medicatie met het NSAID accuraat worden ingesteld.

I. Overige aantasting van het welzijn en maatregelen

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

- Stress door:
 - o Fixatie voor het uitvoeren van handelingen.
 - o Transport van dieren van hun bekende verblijf naar de eindbestemming (dit duurt 10-15 minuten).
 - o Inductie van de verdoving door inhalatie van een O₂-CO₂ gasmengsel (toenemende concentratie CO₂) ten tijde van euthanasie.
- Onthouden van voer gedurende maximaal 4 uur na de reguliere donkerperiode, waarbij het licht uitblijft tot het moment dat de eerste handelingen aan de dieren worden uitgevoerd. Onthouden van voer is belangrijk om op een zuivere wijze het lichaamsgewicht te kunnen vaststellen.
- Reo virus infectie: de klinische verschijnselen behoudens de verwachte kreupelheid blijven na infectie met Reo virus beperkt tot verminderde toename van het lichaamsgewicht (ten opzichte van de toename in lichaamsgewicht die mag worden verwacht bij dieren die niet met Reo virus zijn geïnfecteerd). Omdat er antilichamen worden gevormd tegen het Reo virus, zal het virus na verloop van tijd worden geëlimineerd, maar blijft de kreupelheid bestaan omdat ontstekingsreacties in pezen en peesmembranen zeer langzaam worden opgeruimd. Er is na Reo virus infectie geen toename te verwachten in gevoeligheid voor secundaire infecties.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

De bovengenoemde vormen van welzijnsaantasting door het uitvoeren van (biotechnische) handelingen zijn inherent aan het uitvoeren van deze studie.

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

Vermindering van de ernst van deze effecten wordt bereikt doordat handelingen tot een minimum beperkt worden en alleen worden uitgevoerd door ervaren, getraind, bevoegd en bekwaam personeel.

Het onthouden van voer zal zoveel mogelijk aansluitend aan de donkerperiode van de dieren plaats vinden (tijdens de donkerperiode nemen de dieren nauwelijks/geen voer op).

De dieren worden dagelijks minimaal 1 keer geobserveerd op dierniveau, zodat maatregelen (zoals het uit de proef halen als verwacht wordt dat humane eindpunten zullen worden bereikt) tijdig genomen kunnen worden.

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.

Bol zitten met een ruw verenkleed en het niet meer kunnen vertonen van hun natuurlijke gedrag gedurende 24 uur; niet meer zelfstandig kunnen lopen, staan, eten en drinken. Deze humane eindpunten zijn gemakkelijk herkenbaar door het personeel dat de dieren verzorgt. Na inoculatie met het Reo virus zijn er geen additionele humane eindpunten.

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

Maximaal 10%

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.

Niet Reo geïnfecteerde dieren en Reo geïnfecteerde dieren die worden behandeld met NSAID: licht (58 %). Reo geïnfecteerde dieren die niet worden behandeld met NSAID: matig (42%). Deze inschatting is gebaseerd op de verwachting dat het NSAID werkt.

Einde experiment

L. Wijze van doden

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

☐ Nee

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

De dieren moeten aan het einde van de proef worden geëuthanaseerd voor het uitvoeren van postmortaal onderzoek om enkele van de primaire parameters (waaronder bepaling van de dikte van de synovia membraan en aanwezigheid van afwijkingen aan andere organen) vast te kunnen stellen.

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

☐ Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

X Ja

**Centrale Commissie Dierproeven**

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Gezondheidsdienst voor Dieren

[Redacted]

Postbus 9

7400 AA DEVENTER



**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

AVD426002016734

Bijlagen

1

Datum 11 april 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [Redacted]

Op 23 maart 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers." met aanvraagnummer AVD426002016734. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

Op 6 april 2017 heeft u uw aanvraag aangevuld. Voor bijlage 3.4.4.1 is verhelderd dat deze dieren volgens de eisen in Bijlage III van de richtlijn 2010/63/EU worden gehuisvest.

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(n) zijn opgenomen op grond van artikel 1d lid 4, artikel 10a1 lid 2, artikel 10 lid 2 en/of artikel 10a3 van de wet.

U kunt met uw project "Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers." starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 mei 2017 tot en met 1 mei 2019.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

Procedure

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie [Redacted] gevoegd. Dit advies is opgesteld op 22 maart 2017. 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. Dit advies van de commissie nemen wij over, inclusief de daaraan ten grondslag liggende motivering. Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld. Het DEC-advies en de in de bijlage opgenomen beschrijving van de artikelen van de wet- en regelgeving zijn de grondslag van dit besluit.

Datum:
11 april 2017
Aanvraagnummer:
AVD426002016734

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. Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Centrale Commissie Dierproeven



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: Gezondheidsdienst voor Dieren

Adres: Postbus 9

Postcode en plaats: 7400 AA DEVENTER

Deelnemersnummer: 42600

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 mei 2017 tot en met 1 mei 2019, voor het project "Symptomatische behandeling van kreupelheid bij kippen met ontstekingsremmers." met aanvraagnummer AVD426002016734, volgens advies van [REDACTED]

[REDACTED] Er worden aanvullende algemene voorwaarde(n) gesteld.

De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is [REDACTED]

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 23 maart 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
 - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 6 april 2017;
 - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 23 maart 2017;
 - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 22 maart 2017, ontvangen op 23 maart 2017.
 - d De aanvullingen op uw aanvraag, ontvangen op 6 april 2017

Aanvraagnummer:
AVD426002016734

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
3.4.4.1 Vaststelling van de dosering Reo virus die bij vleeskuikens kreupelheid en ontsteking veroorzaakt voor gebruik in een model om de werking van NSAID's hiertegen te bepalen.				
	Kippen / SPF vleeskuikens	270	42% Matig 58% Licht	
3.4.4.2 Dose-response bepaling van een [REDACTED] NSAID [REDACTED] op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.				
	Kippen / SPF-vleeskuikens	220	36% Matig 64% Licht	
3.4.4.3 Dose-response bepaling van een [REDACTED] NSAID [REDACTED] op de symptomatische behandeling van Reo virus geïnduceerde locomotie afwijkingen bij vleeskuikens.				
	Kippen / SPF-vleeskuikens	220	36% Matig 64% Licht	

Voorwaarden

Op grond van artikel 10a1 lid 2 van de Wet op de dierproeven zijn aan een projectvergunning voorwaarden te stellen

De vergunning wordt verleend onder de voorwaarde dat go/no go momenten worden afgestemd met de IvD.

Aanvraagnummer:
AVD426002016734

In artikel 10, lid 1 sub a 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 afstemming met de IvD te melden bij de CCD. De CCD kan in een dergelijke situatie aan de vergunning nieuwe voorwaarden verbinden en gestelde voorwaarde wijzigen of intrekken.



Aanvraagnummer:

AVD426002016734

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

Aanvraagnummer:
AVD426002016734

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

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

Uit artikel 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.