

Inventaris Wob-verzoek W17-08										
			wordt verstrekt				weigeringsgronden			
nr.	document NTS2017863	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						
4	Bijlage				x	x		x		
5	Ontvangstbevestiging en factuur				x		x	x		
6	DEC-Advies				x		x	x		
7	Advies CCD		x						x	
8	Beschikking en vergunning				x		x	x		



15 FEB. 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.centralecommissiedierproeven.nl](http://www.centralecommissiedierproeven.nl), of in de toelichting op de website.
- Of bel met 0900-2800028 (10 ct/min).

### 1 Gegevens aanvrager

1.1	Heeft u een deelnemernummer van de NVWA? <i>Neem voor meer informatie over het verkrijgen van een deelnemernummer contact op met de NVWA.</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Ja > Vul uw deelnemernummer in 10800																
		<input type="checkbox"/> Nee > U kunt geen aanvraag doen																
1.2	Vul de gegevens in van de instellingsvergunninghouder die de projectvergunning aanvraagt.	<table border="0"> <tr> <td>Naam instelling of organisatie</td> <td>Universiteit Utrecht</td> </tr> <tr> <td>Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde</td> <td>[REDACTED]</td> </tr> <tr> <td>KvK-nummer</td> <td>30275924</td> </tr> <tr> <td>Straat en huisnummer</td> <td>Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht</td> </tr> <tr> <td>Postbus</td> <td>12007</td> </tr> <tr> <td>Postcode en plaats</td> <td>3501AA Utrecht</td> </tr> <tr> <td>IBAN</td> <td>NL27INGB0000425267</td> </tr> <tr> <td>Tenaamstelling van het rekeningnummer</td> <td>Universiteit Utrecht</td> </tr> </table>	Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht	Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]	KvK-nummer	30275924	Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht	Postbus	12007	Postcode en plaats	3501AA Utrecht	IBAN	NL27INGB0000425267	Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht
Naam instelling of organisatie	Universiteit Utrecht																	
Naam van de portefeuillehouder of diens gemachtigde	[REDACTED]																	
KvK-nummer	30275924																	
Straat en huisnummer	Instantie voor Dierenwelzijn Utrecht																	
Postbus	12007																	
Postcode en plaats	3501AA Utrecht																	
IBAN	NL27INGB0000425267																	
Tenaamstelling van het rekeningnummer	Universiteit Utrecht																	
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>																	
1.4	Vul de gegevens in van de verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> 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]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	[REDACTED]		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]		
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.																
Functie	[REDACTED]																	
Afdeling	[REDACTED]																	
Telefoonnummer	[REDACTED]																	
E-mailadres	[REDACTED]																	
1.5	<i>(Optioneel)</i> Vul hier de gegevens in van de plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker.	<table border="0"> <tr> <td>(Titel) Naam en voorletters</td> <td>[REDACTED]</td> <td><input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.</td> </tr> <tr> <td>Functie</td> <td>PhD</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]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.	Functie	PhD		Afdeling	[REDACTED]		Telefoonnummer	[REDACTED]		E-mailadres	[REDACTED]		
(Titel) Naam en voorletters	[REDACTED]	<input type="checkbox"/> Dhr. <input checked="" type="checkbox"/> Mw.																
Functie	PhD																	
Afdeling	[REDACTED]																	
Telefoonnummer	[REDACTED]																	
E-mailadres	[REDACTED]																	

- 1.6 (Optioneel) Vul hier de gegevens in van de persoon die er verantwoordelijk voor is dat de uitvoering van het project in overeenstemming is met de projectvergunning.
- (Titel) Naam en voorletters  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 1 - 4 - 2017
- Einddatum 1 - 4 - 2018
- 3.2 Wat is de titel van het project?
- Het karakteriseren van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem van vleeskuikens.
- 3.3 Wat is de titel van de niet-technische samenvatting?
- Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in vleeskuikens.
- 3.4 Wat is de naam van de Dierexperimentencommissie (DEC) aan wie de instellingsvergunninghouder doorgaans haar projecten ter toetsing voorlegt?
- Naam DEC DEC Utrecht
- Postadres Postbus 85500 3508 GA Utrecht
- E-mailadres dec-utrecht@umcutrecht.nl

## 4 Betaalgegevens

- 4.1 Om welk type aanvraag gaat het?  Nieuwe aanvraag Projectvergunning € 568 Lege  
 Wijziging € Lege
- 4.2 Op welke wijze wilt u dit bedrag aan de CCD voldoen.  
 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.
- Via een eenmalige incasso  
 Na ontvangst van de factuur

## 5 Checklist bijlagen

- 5.1 Welke bijlagen stuurt u mee?
- Verplicht
- Projectvoorstel
- Niet-technische samenvatting
- Overige bijlagen, indien van toepassing
- Melding Machtiging
- 

## 6 Ondertekening

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

Naam

Functie

Plaats

Datum

Handtekening

Utrecht  
 07-02-2017



## 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl).
- Of neem telefonisch contact op. (0900-2800028).

### 1 Algemene gegevens

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

### 2 Categorie van het project

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

### 3 Algemene projectbeschrijving

#### 3.1 Achtergrond

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

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

Het voorliggende projectvoorstel is een uitvloeisel van het door NWO gefinancierde project "Optimizing Flock health and performance by influencing Immune Responsiveness and the gut Microbiome by nutritional interventions in Broilers (FIRM-broilers)". Dit NWO project heeft als doel om in vleeskuikens de interactie tussen het microbioom in de darm en de ontwikkeling van het immuunsysteem te bestuderen. Daarnaast wordt het effect van voerinterventies op de dynamiek van het microbioom in de darm en de ontwikkeling van het immuunsysteem onderzocht. Het uiteindelijke doel van het project is om door middel van voerinterventies de samenstelling van bacteriën in de darm zo te beïnvloeden dat het immuun systeem van de kip versterkt wordt waardoor de kuikens beter beschermd zijn tegen infecties.

Microbiota spelen een belangrijke rol in gezondheid en ziekte. Bij mensen is, onder andere mede dankzij het NIH Common Fund Human Microbiome Project, duidelijk geworden hoe belangrijk bacteriën in de darm kunnen zijn voor de algehele gezondheid. Ook bij vleeskuikens is de samenstelling en diversiteit van het kippen-darmmicrobiom (=verzameling darmmicrobiota) van invloed op essentiële fysiologische processen, zoals de ontwikkeling van de darmmorfologie, spijsvertering, immuunsysteem, toxine ontgiftiging, energiegebruik en groei (Kohl. *J Comp Physiol B* 2012 (182): 591-602; Wei et al. *Poult Sci* 2013 (92): 671-683; Stanley et al. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012 (96): 1361-1369). Het darmmicrobiom wordt bepaald door vele interacties tussen gastheer en omgevingsfactoren en varieert sterk binnen en tussen koppels vleeskuikens. Deze variatie is geassocieerd met verschillen in weerstand, voederconversie en groei/eindgewicht. Een efficiënte en geschikte methode om in koppels het darmmicrobiom te manipuleren is door middel van aanpassingen in diervoeders of het voermanagement (Choct. *Br Poult Sci* 2009 (50): 9-15; Lamot et al. *Poult Sci* 2014 (93): 2604-2614).

De interactie tussen darmmicrobiom en immuunsysteem is voornamelijk onderzocht in zoogdieren en weinig in vogels. Men veronderstelt dat deze interacties gelijk zijn in kippen, maar vanwege de beperkte beschikbaarheid van reagentia om het kippen immuun systeem te bestuderen was het eerder niet mogelijk om deze relatie te bestuderen.

Omdat het innate immuunsysteem juist in jonge kuikens een zeer belangrijke rol speelt, is het essentieel om ook in kippen de interactie tussen microbiom en de ontwikkeling van het immuunsysteem te bestuderen. Vervolgens wordt het effect van voerinterventies op de dynamiek van het microbiom in de darm en de ontwikkeling van het immuunsysteem onderzocht.

Eerder onderzoek heeft uitgewezen dat de ontwikkeling van immuunsysteem direct na uitkomst uit het ei wordt beïnvloed door voedingsstoffen en microbiota (Cunningham-Rundles et al. *J Allergy Clin Immunol* 2005 (115): 1119-1128, quiz 1129; Green et al. *Clin Exp Immunol* 2004 (136): 472-482; Bar-Shira et al. *Dev Comp Immunol* 2006 (30): 930-941; Yin et al. *ISME Journal* 2010 (4):367-376; Bar-Shira et al. *Dev Comp Immunol* 2003 (27): 147-157; Torok et al. *Appl Environ Microbiol* 2011 (77): 3380-3390). Hoewel de ontwikkeling van het immuunsysteem van de kip begint tijdens het embryonale leven, is het immuunsysteem nog niet volledig ontwikkeld als het kuiken uit het ei komt (Mast et al. *Vet Immunol Immunopathol* 1999 (70): 245-256). Het innate (aangeboren) immuunsysteem is al wel ontwikkeld als de kuikens uit het ei komen, maar de adaptieve (specifieke) immuunrespons komt pas na 2-3 weken op gang. Het aangeboren immuun systeem is dus de eerste afweer barrière tegen binnendringende pathogenen en speelt dan ook een belangrijke rol in de bescherming tegen infecties in het vroege leven van een kuiken. Daarnaast is het innate immuunsysteem belangrijk voor het op gang brengen van de adaptieve afweer reactie. Wanneer het innate immuunsysteem niet goed ontwikkeld is wordt het gat tussen het uitkomen uit het ei en de ontwikkeling van een volledig functioneel en geactiveerd specifiek immuunsysteem niet overbrugd. Dit zal resulteren in een verminderde weerstand van vleeskuikens met als gevolg infecties. Er is echter nog weinig specifieke kennis beschikbaar over de ontwikkeling van het innate immuunsysteem bij het kuiken. Het is dus van belang om meer kennis te verkrijgen over de ontwikkeling van het innate immuunsysteem, zodat de weerstand van de vleeskuikens wordt verhoogd.

Belangrijke componenten van het innate immuunsysteem zijn de NK cel en de DC. NK cellen spelen een rol in de eerste afweer reactie nadat een virus de gastheer binnenkomt door rechtstreeks geïnfecteerde cellen te doden (Trinchieri. *Adv Immunol* 1989 (47): 187-376; Lanier. *Annu Rev Immunol* 2005 (23): 225-274). Daarnaast zijn zowel NK cellen als DCs betrokken bij het initiëren van de adaptieve immuun



response (Raulet et al Nat Immunol. 2004;5(10):996-1002; Andoniou et al. Nat Immunol 2005 (6): 1011-1019). In de afgelopen jaren zijn technieken ontwikkeld om belangrijke cellen van het innate immuunsysteem zoals "natural killer" (NK) cellen en "dendritische cellen" (DC) van kippen te meten. Er zijn echter nog geen studies gedaan naar de ontwikkeling van NK cellen en DC in de darm en andere organen van kuikens. Een eerdere studie toonde aan dat darmweefsel van één-dag oude kuikens al verscheidene elementen bevatte van het aangeboren immuunsysteem, zoals receptoren en cel markers (Eren. Microsc Res Tech 2016 (79): 604-614). In deze pilot studie zal als eerste zowel tijdens de embryonale ontwikkeling als in kuikens worden onderzocht welke subtypen NK cellen voorkomen in verschillende organen. De ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem begint tijdens de embryonale fase en is volgroeid bij uitkomen uit het ei. Om de gehele ontwikkeling te kunnen onderzoeken is het van belang om de embryonale fase mee te nemen in experimenten naast de eerste levensdagen van de kuikens. Daarnaast wordt de aanwezigheid en activatie van DCs onderzocht. Omdat weinig bekend is over de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in vleeskuikens zullen daarnaast andere immuun relevante organen zoals milt, beenmerg en lever worden bestudeerd. Op basis van deze resultaten kan een beeld gevormd worden van hoe het innate immuunsysteem in de darm zich ontwikkeld, en hebben we een "base line" voor toekomstige experimenten waarin het effect van interventies op deze ontwikkeling bestudeerd zal worden.

Deze toekomstige studies naar de interactie tussen microbiom en de ontwikkeling van het immuunsysteem en het effect van voer interventies op deze interactie zullen ondergebracht worden in een volgend projectvoorstel.

### 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 ontwikkeling van het innate immuunsysteem in de darm en immuun relevante organen zoals milt, lever en beenmerg van vleeskuikens in kaart te brengen.

De onderzoekslijn naar kippen NK cellen is opgezet in 2007. Op dit moment is dit een van de belangrijkste onderzoeklijnen in de aviaire immunologie groep. Na het ontwikkelen van testen om de aanwezigheid en de activiteit van NK cellen te meten (Jansen et al, DCI 2010) zijn deze technieken in verschillende studies toegepast. In deze studies is de rol van NK cellen tijdens infecties met virussen zoals IBV en vogelgriepvirus bestudeerd (Vervelde et al, Vet Immunol Immunopathol 2013, Jansen et al Sci Reps 2013). Ook heeft de aviaire immunologie groep verschillende assays ontwikkeld om de aanwezigheid en activatie van kippen DCs te meten (de Geus et al, JI 2012). Met onze ruime ervaring die op het gebied van dierexperimenten met kippen en het bestuderen van het kippen innate immuunsysteem zal dit ertoe leiden dat de studies in deze aanvraag afgerond zullen zijn voor het eind van de periode waarvoor toestemming wordt gevraagd.

### 3.3 Belang

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

Wetenschappelijk belang:

Er is weinig bekend over NK cel biologie in kippen. Tot nu toe zijn verschillende populaties NK cellen beschreven in longen, bloed en milt van leghennen en in de milt van kippen embryo's. Een studie waarin in detail wordt gekeken naar NK cel subtypen in verschillende organen van vleeskuikens en kippen embryo's en naar hoe kippen NK cellen migreren van het ene naar het andere orgaan is niet eerder uitgevoerd. Ook over kippen DCs, hun migratie en activatie is weinig bekend. Deze studie zal zeker bijdragen aan meer kennis op het gebied van het innate immuunsysteem in de kip.

Maatschappelijk belang:

Een goede ontwikkeling van het immuunsysteem van kuikens zal ervoor zorgen dat deze al vanaf jonge leeftijd kan optreden tegen ziekteverwekkers. Hiermee wordt ook de kans op het oplopen van infecties die bij de mens tot voedselinfecties kunnen leiden (zoals Salmonella en Campylobacter) verminderd. Ook zullen kippen die gezond zijn minder snel worden behandeld met antibiotica. Gezondere koppels pluimvee zorgen dus voor minder kans op overdracht van dierziekten of antibioticaresistentie van dier naar de mens via onder andere de consumptie van vlees.

### 3.4 Onderzoeksstrategie

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

Aanpak:

Eieren afkomstig van een commerciële boerderij worden getransporteerd naar de onderzoeksfaciliteiten van de faculteit diergeneeskunde. Hier worden de eieren bebroed tot het gewenste embryonale stadium of tot uitkomst. Na uitkomst worden de kuikens in een experimentele stal geplaatst en verzorgd. Om een beeld te krijgen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem worden vleeskuikens op verschillende leeftijden gedood. Vervolgens wordt darm materiaal verzameld, en wordt materiaal van andere immuun relevante organen zoals milt, lever en beenmerg geïsoleerd. Het is helaas niet mogelijk om alle immuun relevante organen te bestuderen gezien de complexiteit van de isolatie procedures en de assays. Als mucosaal immuunorgaan is de darm het meest relevant omdat in vervolg experimenten de interactie tussen immuunsysteem en microbiota wordt onderzocht. De overige selectie van organen is gebaseerd op waar de mogelijkheid ligt om NK cellen en DCs te meten. Immuuncellen worden geïsoleerd uit de organen en vervolgens wordt de aanwezigheid en activiteit van de NK cellen en DCs bestudeerd. Deze experimenten zullen laten zien waar en wanneer de cellen van het innate immuun systeem zich ontwikkelen.

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

1. Om de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in vleeskuikens in kaart te brengen, zullen NK cellen en DCs worden geïsoleerd uit de darm en verschillende organen zoals beenmerg, milt en lever van vleeskuiken embryo's en 1-7 en 14 en 21 dagen oude kuikens. Dag 1 is de dag van uitkomst. In deze experimenten zullen kippen embryo's van 14, 16, 18 en 20 dagen en kuikens van 1, 3, 5, 7, 14 en 21 dagen worden doodgemaakt. De genoemde organen zullen worden verzameld voor de isolatie van leukocyten. NK-cel subsets zullen worden bepaald met behulp van flowcytometrie na kleuring van de cellen met NK cel specifieke markers. Daarnaast zal de activiteit, cytokine productie en 'killing' capaciteit van NK cellen worden gemeten met behulp van verschillende assays. Ook wordt de lokalisatie en co-lokalisatie van NK cellen met andere immuun cellen bepaald door middel van immunohistochemistry. Ook zal de aanwezigheid van DC's worden bepaald met behulp van flowcytometrie na kleuring met specifieke markers. Daarnaast zal de activiteit van DC's worden gemeten met een assay en co-lokalisatie met andere immuun cellen door middel van immunohistochemistry.

#### 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.

1. Het in kaart brengen van NK cellen in verschillende organen zal aantonen waar de ontwikkeling van NK cellen plaatsvindt en hoe NK cellen door het lichaam van de kip migreren.  
2. Het bestuderen van de aanwezigheid en activatie van DCs zal aantonen wat de wisselwerking is tussen NK cellen en DCs en hoe ze elkaar beïnvloeden.

De wisselwerking tussen NK cellen en DC's is optimaal bij cel-cel contact. Aanwezigheid van beide cellen (dichtbij elkaar) en activatie markers op de cellen zullen een beeld geven van de interactie tussen NK cellen en DC's.

Milestone 1: het in kaart brengen van de ontwikkeling van NK cellen in kippen embryo's en jonge kuikens  
Milestone 2: het in kaart brengen van DCs in kippen embryo's en jonge kuikens



De resultaten uit deze pilot studie zullen gebruikt worden voor vervolgexperimenten, die niet onder deze projectvergunningaanvraag zijn opgenomen, maar wel onderdeel worden van het onderzoeksproject (FIRM-Broilers).

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

Volgnummer	Type dierproef
1	Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kippen embryo's en jonge kuikens
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	



## Bijlage

### Beschrijving dierproeven

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

### 1 Algemene gegevens

1.1 Vul uw deelnemernummer van de NVWA in.	10800				
1.2 Vul de naam van de instelling of organisatie in.	Universiteit Utrecht				
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><thead><tr><th>Volgnummer</th><th>Type dierproef</th></tr></thead><tbody><tr><td>3.4.4.1</td><td>Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kippen embryo's en jonge kuikens</td></tr></tbody></table>	Volgnummer	Type dierproef	3.4.4.1	Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kippen embryo's en jonge kuikens
Volgnummer	Type dierproef				
3.4.4.1	Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kippen embryo's en jonge kuikens				

### 2 Beschrijving dierproeven

#### A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters

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

Om de ontwikkeling van NK cellen en DCs in kaart te brengen, worden deze cellen geïsoleerd uit organen zoals beenmerg, milt, bloed en darm van kippen embryo's en kuikens. Vleeskuiken embryo's van 14 dagen, 16 dagen, 18 dagen en 20 dagen oud en kuikens van 1, 3, 5, 7, 14 en 21 dagen oud worden doodgemaakt. Organen worden verzameld en in het lab worden uit de verschillende organen de leukocyten geïsoleerd voor verder onderzoek.

De keuze voor de tijdstippen waarop de embryo's/kuikens gedood worden is bepaald om zo nauwkeurig mogelijk de innate response in beeld te krijgen en veranderingen in deze response in toekomstige experimenten. Het is bekend dat de adaptieve afweer in jonge kuikens nog niet ontwikkeld is, deze komt pas na een week of drie op gang. In deze eerste periode is het innate immuun systeem dus erg belangrijk in de bescherming tegen ziekteverwekkers. Om een beeld te krijgen van de frequentie en functie van NK cellen en DCs is gekozen voor een studie waarin de cellen elke twee dagen bestudeerd worden gedurende een week en op 14 en 21 dagen.

ED14: Er is bekend dat in embryo's van 14 dagen de milt uitsluitend NK cellen bevat. NK cellen uit de milt van embryo's van deze leeftijd zijn door ons uitgebreid bestudeerd dus de normale waarden voor de frequentie en functie van deze NK cellen zijn bekend. Dit is het uitgangspunt van onze studie. Ook wordt er gekeken naar aanwezigheid en activiteit van DCs.

ED16-ED20: Om de ontwikkeling van ED16 naar ED20 te kunnen bestuderen en wat te kunnen leren over veranderingen in frequentie en functie van embryonale NK cellen en DCs.

Dag 1-3-5-7: Om na uitkomst uit het ei de ontwikkeling te kunnen bestuderen en wat te kunnen leren over veranderingen in frequentie en functie van NK cellen en DCs.

Dag 14-21: Weergeven van de verhouding tussen NK cellen en DCs, wanneer het adaptieve immuunsysteem begint te ontwikkelen.

Primaire uitkomst parameters:

- De frequentie van NK cellen gemeten met behulp van markers voor kippen NK cellen
- De frequentie van DCs met behulp van bijpassende markers
- De activiteit van NK cellen (bepaling van de expressie van CD107, een eiwit wat op de buitenkant van geactiveerde NK cellen zit; productie van IFN $\gamma$ )
- De activiteit van DCs met behulp van markers die de activatie van DC's aantonen

De frequentie van cellen is erg afhankelijk van andere cellen die aanwezig zijn. Naast het meten van de percentages cellen worden de organen gewogen voor de cellen geïsoleerd worden, zodat uiteindelijk het aantal cellen per gram weergegeven kan worden.

Tijdens de analyses nemen we ook parameters mee van het adaptieve immuunsysteem, zoals B en T cellen. Gezien de complexiteit van de assays is het niet mogelijk om ook de functie van B en T cellen in detail te bestuderen. Wel zal de aanwezigheid van B en T cellen en de activatie van CD8+ T cellen gemeten worden met behulp van flowcytometrie.

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

De eieren worden uitgebroed. De kippen ontvangen geen verder behandeling. Op verschillende tijdstippen worden de kippen doorgemaakt door cervicale dislocatie of elektrocutie gevolgd door verbloeding.

Onderbouwing:

Op verschillende dagen wordt de NK cel response gemeten, als mede van DCs om te onderzoeken hoe het innate en adaptieve immuunsysteem zich ontwikkelt in embryo's en jonge kuikens. In deze pilot studie zal gekeken worden hoe de natuurlijke ontwikkeling verloopt, dus van de immuun cellen in embryo's en kuikens die geen behandeling hebben ontvangen.

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

Dit is een pilot studie waarin voor het eerst naar de ontwikkeling van NK cellen en DCs wordt gekeken in deze organen van vleeskuikens. Uit een eerdere pilot studie waarin gekeken is naar NK cellen in de darm van 2 en 4 weken oude dieren, is bekend dat met 3 dieren per groep een betrouwbare analyse uitgevoerd kan worden met betrekking tot de aanwezigheid, functie en activatie van cellen. Ook is bekend uit een eerder experiment waarin gekeken is naar immuun cellen in de darm van één dag oude kuikens dat het aantal cellen per orgaan op deze leeftijd erg laag is. Om een betrouwbare meting te kunnen doen moeten cellen van tenminste drie één dag oude kuikens gecombineerd worden en zijn er in totaal op dit tijdstip 9 kuikens nodig. Uit een eerder experiment is ook gebleken dat vanaf dag 3 voldoende cellen te isoleren zijn uit individuele dieren.

Op advies van de IvD is het aantal benodigde dieren per groep verhoogd naar 5 in verband met mogelijke uitval die voor kan komen op deze leeftijden en omdat in dit experiment ook jongere kuikens gebruikt worden dan in het experiment waarnaar verwezen wordt. Voor één dag oude kuikens betekent dit dat er in totaal 15 kuikens nodig zijn om een betrouwbare analyse uit te voeren.

In deze pilot studie wordt fundamenteel onderzoek gedaan en wordt het microbiom nog niet meegenomen als interventie, dit zal in vervolg projecten gaan plaatsvinden. Daardoor is de variatie van het microbiom in deze pilot nog niet van belang, maar er zal in vervolgstappen rekening worden gehouden met de grote variatie en aantallen dieren die nodig zijn voor een statistische onderbouwing. In overleg met de IvD is het aantal dieren voor deze fundamentele pilotstudie opgehoogd naar 5 kuikens per tijdstip en dit aantal geeft een voldoende statistische onderbouwing.

In totaal gaat het dus om de volgende aantallen:

1 dag oud: 5 kuikens (x drie om voldoende cellen te hebben) = 15

3 dagen oud: 5 kuikens (vanaf deze leeftijd is het mogelijk om voldoende cellen te isoleren uit individuele dieren)

5 dagen oud: 5 kuikens

7 dagen oud: 5 kuikens

14 dagen oud: 5 kuikens

21 dagen oud: 5 kuikens

In totaal: 40 kuikens

## **B. De dieren**

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

40 eieren van vleeskuikens afkomstig van een commerciële boerderij van het ras Ross. Deze eieren worden getransporteerd naar de onderzoeksfaciliteiten van de faculteit diergeneeskunde. Hier worden de eieren bebroed tot uitkomst en na uitkomst worden de kuikens in een experimentele stal geplaatst en verzorgd tot de gewenste leeftijd. Per tijdstip zullen alle 5 kuikens (dag 1: 15) worden gebruikt, er blijven geen dieren over. Er is geen voorkeur voor een geslacht aangezien beide geslachten in de praktijk worden gebruikt en er in eerdere studies geen verschillen in immuun responses zijn gemeten tussen hennen en hanen. We werken met het geslacht wat uitkomt uit het ei. Er is voor vleeskuikens gekozen omdat in dit project wordt gestreefd naar een verbetering van de huidige weerstand in vleeskuikens. De keuze voor het gebruik van dit ras is gebaseerd op het feit dat deze kippen het meest in de praktijk gebruikt worden, zodoende wordt er zo dicht mogelijk bij de praktijk situatie gebleven. Daarnaast is dit ras hetzelfde als wordt gebruikt in experimenten van ██████, het bedrijf waar dit project mee samenwerkt.

Het doel van dit project is de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kaart te brengen in deze kippen. Het is interessant om de ontwikkeling in verschillende rassen te bestuderen en te vergelijken, maar dat valt buiten de scope van deze studie. Ook variatiefactoren als verschillende bedrijven en omstandigheden zijn niet relevant in deze pilotstudie.

### 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:

Voor het testen van de activiteit van het immuun systeem is het noodzakelijk om cellen vers uit een dier te verkrijgen. Inzicht verkrijgen in immuun responsen kan deels middels computermodellen, echter voor de kip zijn computermodellen van immuun responsen nog niet beschikbaar. Het meten van de daadwerkelijk functionele activiteit dient nog steeds getest te worden met levende cellen.

#### Vermindering:

Het is voornamelijk niet mogelijk aan de hand van statistische berekeningen vast te stellen hoeveel dieren exact gebruikt moeten worden. De benodigde aantallen zijn gebleken uit eerdere experimenten waar 3 dieren per groep een goed beeld geeft. In overleg met de IvD is dit aantal opgehoogd naar 5 dieren per groep. Daarnaast moeten op dag 1 drie kuikens gecombineerd worden voor een betrouwbare meting en zijn er in totaal op dit tijdstip 15 kuikens nodig om een goed beeld te krijgen van de aanwezigheid en functie/activatie van cellen. Hierdoor worden er niet meer dieren dan nodig ingezet.

#### Verfijning:

- De vleeskuikens worden veelvuldig gecontroleerd op gezondheid en welzijn en er wordt gezorgd voor adequate voer- en watervoorziening en een goed klimaat.
- Het vleeskuiken is het doeldier binnen dit project, waardoor de uitkomsten makkelijk vertaalbaar zijn naar de uiteindelijke toepassing in de praktijk.

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.

1. De dieren worden in groepen gehouden in een omgeving die in ieder geval aansluit bij hun basisbehoeften wat betreft management van klimaat, licht, strooisel, voer en watervoorziening.
2. Het welzijn en de gezondheid van de dieren wordt elke dag gecontroleerd. Hierdoor worden eventuele welzijnsaantastingen snel gesignaleerd en kan snel worden ingegrepen door aanpassingen in het management, een passende behandeling of euthanasie.

## 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.

## Huisvesting en verzorging

### F. Huisvesting en verzorging

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

Nee

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

### G. Plaats waar de dieren worden gehuisvest

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

Nee > Ga verder met vraag H.

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

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

## Ongeriefinschatting/humane eindpunten

### H. Pijn en pijnbestrijding

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

Nee > Ga verder met vraag I.

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

Nee > Motiveer dan waarom geen pijnverlichtingsmethoden worden toegepast.

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

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

Welke eventuele andere vormen van welzijnsaantasting worden voorzien?

Geen.

Geef aan wat de mogelijke oorzaken hiervan zijn.

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

### 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.

Wanneer wordt waargenomen dat:

- een dier niet in staat is zelfstandig het voer en/of drinkwater tot zich te nemen;
- een dier ernstig ziek is, ernstig verwond is of ernstige pijn vertoont; wordt overgegaan tot euthanasie.

Hierbij wordt als algemeen criterium het "analogieprincipe" gehanteerd, hetgeen inhoudt dat men ervan uitgaat dat handelingen of toestanden die bij de mens als pijnlijk worden ervaren ook door dieren als pijnlijk zullen worden ervaren. Voor kippen geldt dat zij niet snel ziekte, pijn of verwondingen zullen laten zien. Wanneer wel verschijnselen getoond worden, moet dit als serieus tot ernstig geïnterpreteerd worden en worden de dieren nader bekeken. Gewichtsverlies is bij vleeskuikens niet zo'n bruikbare parameter omdat vanwege hun hoge groeisnelheid er al sprake kan zijn van ongerief als de dieren achterblijven in groei. Wanneer dieren achter lijken te blijven in gewicht worden deze dieren extra geobserveerd en wordt de kropvulling met regelmatige tussenpozen beoordeeld. Wanneer er niet of nauwelijks voer wordt opgenomen gedurende 2 opeenvolgende dagen en dit niet verbetert, wordt overgegaan tot euthanasie.

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

< 1%

### 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.

Transport en binnenbrengen van de kuikens in de stal: licht ongerief  
Labelen van de kuikens door middel van wingtags: licht ongerief  
Doodmaken: licht ongerief

Cumulatief: licht ongerief

## Einde experiment

### L. Wijze van doden

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

Nee

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

Voor het onderzoek zijn cellen uit organen nodig. Het is niet mogelijk deze organen te isoleren uit levende dieren.

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

Nee > Beschrijf de euthanasiemethode en onderbouw de keuze hiervoor.

Ja





> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**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  
AVD108002017863

**Bijlagen**

2

Datum 9 februari 2017

Betreft Ontvangstbevestiging aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED],

Wij hebben uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen op 7 februari 2017. Het gaat om uw project "Het karakteriseren van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem van vleeskuikens". Het aanvraagnummer dat wij aan deze aanvraag hebben toegekend is AVD108002017863. 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](http://www.centralecommissiedierproeven.nl). Of neem telefonisch contact met ons op: 0900 28 000 28 (10 ct/minuut).

Met vriendelijke groet,

Centrale Commissie Dierproeven

Deze brief is automatisch aangemaakt en daarom niet ondertekend.

Bijlagen:

- Gegevens aanvraagformulier
- Factuur

**Datum:**

9 februari 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD108002017863



**Datum:**  
9 februari 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD108002017863

Gegevens plaatsvervangende verantwoordelijke onderzoeker

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

**Over uw aanvraag**

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

**Over uw project**

Geplande startdatum: 1 april 2017  
Geplande einddatum: 1 april 2018  
Titel project: Het karakteriseren van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem van vleeskuikens  
Titel niet-technische samenvatting: Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in vleeskuikens  
Naam DEC: DEC Utrecht  
Postadres DEC: Postbus 85500 3508 GA Utrecht  
E-mailadres DEC: dec-utrecht@umcutrecht.nl

**Betaalgegevens**

De leges bedragen: € 568,-  
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:



Functie:



Plaats:

Utrecht

Datum:

7 februari 2017

**Datum:**

9 februari 2017

**Aanvraagnummer:**

AVD108002017863



> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

UU-ASC  
Postbus 80.011  
3508 TA UTRECHT  


**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  
AVD108002017863  
**Bijlagen**  
2

Datum 9 februari 2017  
Betreft Factuur aanvraag projectvergunning Dierproeven

**Factuur**  
Factuurdatum: 9 februari 2017  
Vervaldatum: 11 maart 2017  
Factuurnummer: 170863  
Ordernummer: CB.841910.3.01.011

Omschrijving	Bedrag
Betaling leges projectvergunning dierproeven Betreft aanvraag AVD108002017863	€ 568,00

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.



6.



**A. Algemene gegevens over de procedure**

1. Aanvraagnummer : 2016.II.811.030
2. Titel van het project : Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kippen embryo's en jonge kuikens
3. Titel van de NTS : Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in vleeskuikens

4. Type aanvraag:

- nieuwe aanvraag projectvergunning
- wijziging van vergunning met nummer :

5. Contactgegevens DEC

Naam DEC : DEC Utrecht  
Telefoonnummer contactpersoon : 088 – 75 59 247  
Emailadres contactpersoon : dec-utrecht@umcutrecht.nl

6. Adviestraject (data dd-mm-jjjj):

- ontvangen door DEC: 06-01-2017
- aanvraag compleet:
- in vergadering besproken: 18-01-2017
- anderszins behandeld:
- termijnonderbreking(en) van / tot : 24-01-2017/31-01-2017
- besluit van CCD tot verlenging van de totale adviestermijn met max. 15 werkdagen:
- aanpassing aanvraag:
- advies aan CCD: 06-02-2017

7. De aanvraag is afgestemd met de IvD en deze is hiermee akkoord.

8. Eventueel horen van aanvrager

- Datum:
- Plaats:
- Aantal aanwezige DEC-leden:
- Aanwezige (namens) aanvrager:
- Gestelde vragen en verstrekte antwoorden:
- Het horen van de aanvrager heeft geleid tot aanpassing van de aanvraag.

9. Correspondentie met de aanvrager

- Datum vragen: 24-10-2017
- Datum antwoord: 31-01-2017

- Gestelde vragen en antwoorden:

#### Projectvoorstel

- 3.1 Achtergrond: De DEC zou graag de samenhang met uw vorige project (*Natural killer cells as potential biomarkers of immune system development in chickens*) duidelijker beschreven zien, zulks om mogelijke 'overlap' te voorkomen.  
*In het vorige project gaat het om de ontwikkeling van NK cellen in leghennen, in dit project gaat het om vleeskuikens. De opzet van het dierexperiment en de technieken die gebruikt worden om de NK cellen te meten komen overeen, maar het gaat om twee totaal verschillende soorten kippen die ook genetisch van elkaar verschillen. Vleeskuikens worden geselecteerd op maximale vleesproductie in een zo kort mogelijke tijd, leghennen op maximale eiproductie. Verschillende studies hebben laten zien dat het selecteren op deze eigenschappen ook het immuunsysteem heeft beïnvloed. Miltcellen van vleeskuikens bevatten minder pro-inflammatoire cytokines (Leshchinsky et al, Dev. Comp. Immunol 2001) en delen minder na stimulatie met ConA (Koenen et al, Vet Immunol 2002). Ook hebben vleeskuikens meer IgM en minder IgY (Koenen et al). Mogelijke verschillen in NK cel frequentie en functie tussen leghennen en vleeskuikens zijn nog niet onderzocht. Vandaar dat de ontwikkeling van NK cellen in het vorige project niet zomaar als baseline kan dienen voor de ontwikkeling van NK cellen in vleeskuikens.*

#### Bijlage 1

- B. De dieren: De herkomst van de dieren is niet helemaal duidelijk. U zegt dat de vleeskuikens afkomstig zijn van een commerciële boerderij, maar de DEC vraagt zich af of u niet bedoeld dat de eieren afkomstig zijn van een commerciële boerderij en u de eieren zelf laat uitbroeden in isolatoren. Indien dat correct is, dan dient dat duidelijker in de aanvraag vermeld te worden.  
*Deze veronderstelling is correct en dit is duidelijker onder B. De dieren vermeld.*
- B. De dieren: Daarnaast gaat de DEC ervan uit dat rekening wordt gehouden met een uitvalpercentage van ca. 10% en er dus meer dan 40 eieren uitgebroed zullen worden. Wat doet u met de dieren die eventueel over zijn?  
*Er is inderdaad rekening gehouden met een uitvalpercentage van 10% en dit is al meegerekend in het aantal eieren dat wij nodig hebben. Dit is onder A. Experimentele aanpak en primaire uitkomstparameters, laatste onderdeel, vermeld. Voor een betrouwbaar resultaat hebben we 3 kuikens nodig per tijdstip, en dit is (op advies van IvD) opgehoogd naar 5 kuikens per tijdstip. Per tijdstip worden alle kuikens gebruikt en zullen er geen dieren over blijven, dit is aangevuld onder B in rood.*

#### Niet Technische Samenvatting

- 3.1 Beschrijving doelstellingen: De informatie over de darmbacteriën is geen onderdeel van dit project. De DEC raadt u aan om dit uit de NTS te verwijderen.  
*De eerste twee alinea's onder 3.1 zijn verwijderd uit de NTS.*

- 4.3 Verfijning: U spreekt hier over 'voerinterventies'. Dit komt voor de DEC uit de lucht vallen omdat het nergens in het projectvoorstel wordt genoemd. Graag verhelderen en/of verwijderen uit de NTS.

*Met 'voerinterventies' wordt hier verwezen naar toekomstige experimenten, nu niet van toepassing. Dit is verwijderd uit de NTS.*

- De antwoorden hebben geleid tot aanpassing van de aanvraag.

#### 10. Eventuele adviezen door experts (niet lid van de DEC)

- Aard expertise:
- Deskundigheid expert:
- Datum verzoek:
- Strekking van het verzoek:
- Datum expert advies:
- Advies expert:

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

1. Het project is vergunningplichtig (dierproeven in de zin der wet).
2. De aanvraag betreft een nieuwe aanvraag.
3. De DEC is competent om hierover te adviseren.
4. Er zijn geen DEC-leden betrokken bij het betreffende project.

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

1. De aanvraag is toetsbaar en heeft voldoende samenhang.

Het is bekend dat de samenstelling van het darmmicrobioom zowel in mensen als in dieren grote invloed heeft op allerlei fysiologische processen, waaronder de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem. Er zijn aanwijzingen dat ook in vleeskuikens sprake is van een dergelijke invloed, maar fundamentele kennis op dat gebied ontbreekt nog. Er is behoefte aan dergelijke kennis, omdat een optimale ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem bijdraagt aan optimaal presterende koppels vleeskuikens in termen van gezondheid, welzijn en efficiënte groei. Wanneer bekend is hoe de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem in vleeskuikens verloopt, en ook hoe deze beïnvloed wordt door het darmmicrobioom, dan kan men mogelijk in de toekomst met behulp van voederinterventies een optimale ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem in vleeskuikens ondersteunen. De eerste stap die nodig is om de effectiviteit van dergelijke voederinterventies te kunnen onderzoeken – het in kaart brengen van de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem in vleeskuikens – is het doel van de voorliggende projectaanvraag.

2. Voor zover de DEC bekend, is er geen mogelijk tegenstrijdige wetgeving die het uitvoeren van de proef in de weg zou kunnen staan.
3. De in de aanvraag aangekruiste doelcategorie sluit aan bij de hoofddoelstelling.

### *Belangen en waarden*

4. Het directe doel van het project is het in kaart brengen van het aangeboren immuunsysteem van vleeskuikens. Het uiteindelijke doel van het project is het vinden van aanknopingspunten voor de toekomstige ontwikkeling van voederinterventies, die de samenstelling van het darmmicrobioom zodanig kunnen beïnvloeden, dat het aangeboren immuunsysteem van vleeskuikens optimaal tot ontwikkeling komt. Voordat de werkzaamheid van dergelijke voederinterventies onderzocht kan worden is het noodzakelijk dat in eerste instantie de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem van vleeskuikens in detail onderzocht wordt (het doel van deze projectaanvraag), en in tweede instantie de interacties tussen het darmmicrobioom en het aangeboren immuunsysteem (het doel van een andere projectaanvraag). De DEC is daarom van mening dat er in voldoende mate een relatie is tussen het directe doel en het uiteindelijke doel.
5. De belangrijkste belanghebbenden in dit onderzoeksproject zijn: de proefdieren en het onderzoeksveld, en op de lange termijn de doelgroep (de pluimveehouderij) en de diervoederindustrie. De morele waarden die voor de proefdieren in het geding zijn: welzijn (stress) en rechtvaardigheid (intrinsieke waarde en integriteit). De morele waarden die voor de doelgroep worden bevorderd zijn: welzijn en rechtvaardigheid (beschikbaarheid van effectieve voederinterventies). De morele waarden die voor het onderzoeksveld en de diervoederindustrie worden bevorderd zijn: welzijn (wetenschappelijke en commerciële ontwikkelingen).
6. Er is geen sprake van substantiële milieueffecten.

### *Proefopzet en haalbaarheid*

7. De kennis en kunde van de onderzoeksgroep en andere betrokkenen bij de dierproeven zijn voldoende gewaarborgd en dragen eraan bij dat de doelstellingen behaald kunnen worden, dat aan de 3V-beginselen voldaan kan worden en dat voorkomen kan worden dat mens, dier en milieu negatieve effecten ondervinden als gevolg van de dierproeven. De onderzoeksgroep heeft veel ervaring met immunologisch onderzoek in kippen en met de uit te voeren experimentele handelingen. De DEC is van mening dat het projectvoorstel aansluit bij recente inzichten en dat het geen belangrijke hiaten bevat die de bruikbaarheid van de resultaten beperken. Gezien het feit dat dit projectvoorstel onderdeel is van een groter NWO-project zou het haalbaar moeten zijn dat de resultaten van dit project op termijn leiden tot de ontwikkeling van eerdergenoemde voederinterventies voor vleeskuikens.
8. Het project is goed opgezet, de voorgestelde experimentele opzet en uitkomstparameters sluiten logisch en helder aan bij de aangegeven doelstellingen en de gekozen strategie en experimentele aanpak kan leiden tot het behalen van de doelstelling binnen het kader van het project. De ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem wordt in de darm en immuungerelateerde organen zoals milt, lever en beenmerg onderzocht. Daartoe worden embryo's en jonge kuikens op verschillende tijdstippen geëuthanaseerd en relevante weefsels

en organen uit de dieren geïsoleerd. Vervolgens wordt de hoeveelheid, functie en activiteit van dendritische cellen (DC) en verschillende subtypen 'natural killer' cellen (NK cellen) in de geïsoleerde weefsels en organen in kaart gebracht.

#### *Welzijn dieren*

9. Er is sprake van de volgende bijzonderheden op het gebied van categorieën van dieren, omstandigheden of behandeling van de dieren:

- Bedreigde diersoort(en) (10e lid 4)
- Niet-menselijke primaten (10e)
- Dieren in/uit het wild (10f)
- Niet gefokt voor dierproeven (11, bijlage I EU richtlijn)
- Zwerfdieren (10h)
- Hergebruik (1e lid 2)
- Locatie: buiten instelling vergunninghouder (10g)
- Geen toepassing verdoving/pijnbestrijding (13)
- Dodingsmethode niet volgens bijlage IV EU richtlijn (13c lid 3)

De keuze hiervoor is voldoende wetenschappelijk onderbouwd en de aanvrager voldoet aan de in de Wet op de dierproeven, voor de desbetreffende categorie, genoemde beperkende voorwaarden. Het doeldier van de op termijn te ontwikkelen voederinterventies is het vleeskuiken. Het spreekt voor zich dat het voorbereidende fundamenteel wetenschappelijke onderzoek in dezelfde diersoort uitgevoerd wordt. Eieren worden aangekocht van een commerciële broederij en binnen de onderzoeksfaciliteit uitgebroed.

10. De dieren worden gehuisvest en verzorgd op een wijze die voldoet aan de eisen die zijn opgenomen in bijlage III van de EU richtlijn.
11. Het cumulatieve ongerief als gevolg van de dierproeven is realistisch ingeschat en geclassificeerd. Voor alle dieren geldt dat zij licht ongerief zullen ervaren als gevolg van het verplaatsen naar de stal nadat de vleeskuikens uit het ei zijn gekomen, van het aanbrengen van de *wingtags* en van de euthanasie.
12. De integriteit van de dieren wordt fysiek aangetast. De dieren worden gedood om organen, weefsels en cellen te kunnen isoleren.
13. De humane eindpunten zijn in de bijlage dierproeven goed gedefinieerd en het percentage dieren dat naar verwachting een humaan eindpunt bereikt is goed ingeschat. Men houdt er rekening mee dat minder dan 1% van de dieren uitvalt om redenen die niet gerelateerd zijn aan de dierproef.

### 3V's

14. De aanvrager heeft voldoende aannemelijk gemaakt dat er geen geschikte vervangingsalternatieven zijn. Om de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem in kaart te kunnen brengen is het vooralsnog noodzakelijk om de te onderzoeken cellen rechtstreeks uit een dier te isoleren en *ex vivo* te onderzoeken. Computermodellen die interacties tussen cellen, weefsels en organen kunnen voorspellen zijn nog niet beschikbaar voor de kip. De fundamentele kennis die daarvoor nodig is is nog niet beschikbaar, en wordt juist met behulp van het voorliggende project vergaard.
15. Het aantal te gebruiken dieren is realistisch ingeschat en er is een heldere strategie om ervoor te zorgen dat tijdens het project met zo min mogelijk dieren wordt gewerkt waarmee een betrouwbaar resultaat kan worden verkregen. De berekening van het benodigde aantal dieren is gebaseerd op ervaringen met eerder uitgevoerde experimenten. Deze hebben uitgewezen dat met 3 dieren per groep een betrouwbare analyse uitgevoerd kan worden met betrekking tot de hoeveelheid, functie en activiteit van cellen. Op advies van de IvD is dit aantal verhoogd naar 5 dieren per groep, zodat men voldoende dieren per groep overhoudt wanneer sprake is van – niet aan de dierproef gerelateerde – uitval. Voor de kuikens die één dag oud zijn zijn meer dieren per groep nodig, omdat de celopbrengst uit kuikens van deze leeftijd dusdanig laag is dat men niet kan volstaan met 5 dieren per groep. Om betrouwbare resultaten te kunnen behalen moeten cellen van 3 kuikens gecombineerd worden en zijn in totaal voor deze leeftijdscategorie drie keer zoveel (dus  $3 \times 5 = 15$ ) dieren nodig.
16. Het project is in overeenstemming met de vereiste van verfijning van dierproeven en het project is zodanig opgezet dat de dierproeven zo humaan mogelijk kunnen worden uitgevoerd.
17. Er is geen sprake van wettelijk vereist onderzoek.

### *Dieren in voorraad gedood en bestemming dieren na afloop proef*

18. Dieren van beide geslachten zullen in gelijke mate worden ingezet.
19. De dieren worden in het kader van het project gedood, omdat de doelstellingen van het project alleen behaald kunnen worden door verschillende organen, weefsels en cellen rechtstreeks uit embryo's en kuikens te isoleren. De dieren worden volgens een passende en in bijlage IV van de EU richtlijn genoemde methode gedood.
20. Omdat in het projectvoorstel kippen worden aangevraagd is de vraag over herplaatsing/hergebruik niet van toepassing.



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

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

1. De centrale morele vraag luidt: rechtvaardigt het belang van het voorliggende project, dat tot doel heeft de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem van vleeskuikens in kaart te brengen, de onvermijdelijke aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren?
2. In het voorliggende project wordt het welzijn en de integriteit van jonge vleeskuikens aangetast, wat gepaard gaat met licht ongerief. Daar staat tegenover dat van dit project verwacht mag worden dat het fundamentele kennis oplevert over de ontwikkeling van het aangeboren immuunsysteem van vleeskuikens. De DEC kent daar veel gewicht aan toe. Op de korte termijn kan met behulp van deze kennis daarop voortbordurend fundamenteel wetenschappelijk onderzoek uitgevoerd worden, gericht op de interactie tussen het darmmicrobioom en het aangeboren immuunsysteem van het vleeskuiken. Op de langere termijn kan het voorliggende project van belang zijn voor de pluimveehouderij, omdat met behulp van deze kennis mogelijk voederinterventies ontwikkeld kunnen worden die een optimale ontwikkeling van vleeskuikenkoppels ondersteunen. Niet alleen de dieren en directe betrokkenen binnen de pluimveehouderij zouden daar baat bij hebben, ook de samenleving. Jonge vleeskuikens met een goed functionerend aangeboren immuunsysteem zijn namelijk minder vatbaar voor infecties. Dat draagt op zijn beurt bij aan een duurzame pluimveehouderij – in termen van gezondheid, welzijn en efficiënt grondstoffengebruik, en ook in termen van antibioticumgebruik. Een gezondere veestapel maakt gereduceerd antibioticumgebruik mogelijk en verkleint zo de kans op overdracht van antibioticumresistentie naar mensen. Daarnaast wordt ook de kans op overdracht van ziekteverwekkers die bij de mens tot voedselinfecties kunnen leiden gereduceerd.  
Het is aannemelijk dat deze fundamentele – en op termijn ook de toegepaste – doelstellingen behaald zullen worden. Daarvoor is de inzet van proefdieren noodzakelijk, maar de onderzoekers doen al het mogelijke om het ongerief voor de dieren en het aantal dieren tot een minimum te beperken. Dat het voor de individuele onderzoeker van belang kan zijn om aansprekende onderzoeksresultaten te boeken is juist, maar speelde voor de DEC bij het maken van de ethische afweging geen rol van betekenis. Net zomin als het feit dat het voor de diervoederindustrie van belang kan zijn om eerdergenoemde voederinterventies te kunnen ontwikkelen.
3. Op grond van het bovenstaande is de DEC van oordeel dat het in kaart brengen van het aangeboren immuunsysteem van vleeskuikens een reëel belang vertegenwoordigt en dat dit reële belang opweegt tegen de aantasting van het welzijn en de integriteit van de proefdieren. Het gebruik van de proefdieren zoals beschreven in de aanvraag is daarmee gerechtvaardigd.

## **E. Advies**

1. Advies aan de CCD

De DEC adviseert de vergunning te verlenen.

De DEC adviseert de vergunning te verlenen onder de volgende voorwaarden.

De DEC adviseert de vergunning niet te verlenen vanwege:

2. Het uitgebrachte advies is gebaseerd op consensus.

3. Er zijn geen knelpunten/dilemma's naar voren gekomen tijdens het beoordelen van de aanvraag en het opstellen van het advies.



8.

> Retouradres Postbus 20401 2500 EK Den Haag

Universiteit Utrecht

Postbus 12007

3501 AA UTRECHT



**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

AVD108002017863

**Bijlagen**

1

Datum 1 maart 2017

Betreft Beslissing aanvraag projectvergunning Dierproeven

Geachte [REDACTED]

Op 7 februari 2017 hebben wij uw aanvraag voor een projectvergunning dierproeven ontvangen. Het gaat om uw project "Het karakteriseren van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem van vleeskuikens" met aanvraagnummer AVD108002017863. Wij hebben uw aanvraag beoordeeld.

#### **Beslissing**

Wij keuren uw aanvraag goed op grond van artikel 10a van de Wet op de Dierproeven (hierna: de wet).

U kunt met uw project "Het karakteriseren van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem van vleeskuikens" starten. De vergunning wordt afgegeven van 1 april 2017 tot en met 1 april 2018.

Overige wettelijke bepalingen blijven van kracht.

#### **Procedure**

Bij uw aanvraag heeft u een advies van de Dierexperimentencommissie DEC Utrecht gevoegd. Dit advies is opgesteld op 6 februari 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.

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

**Bezwaar**

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

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

**Datum:**  
1 maart 2017  
**Aanvraagnummer:**  
AVD108002017863

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

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

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

**Meer informatie**

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

Centrale Commissie Dierproeven  
namens deze: 

ir. G. de Peuter  
Algemeen Secretaris

Bijlagen:

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



# Projectvergunning

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

Verleent de Centrale Commissie Dierproeven aan

Naam: Universiteit Utrecht

Adres: Postbus 12007

Postcode en plaats: 3501 AA UTRECHT

Deelnemersnummer: 10800

deze projectvergunning voor het tijdvak 1 april 2017 tot en met 1 april 2018, voor het project "Het karakteriseren van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem van vleeskuikens" met aanvraagnummer AVD108002017863, volgens advies van Dierexperimentencommissie DEC Utrecht. De functie van de verantwoordelijk onderzoeker is Assistent professor.

De aanvraag omvat de volgende bescheiden:

- 1 een aanvraagformulier projectvergunning dierproeven, ontvangen op 7 februari 2017
- 2 de bij het aanvraagformulier behorende bijlagen:
  - a Projectvoorstel, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 februari 2017;
  - b Niet-technische Samenvatting van het project, zoals ontvangen per digitale indiening op 7 februari 2017;
  - c Advies van dierexperimentencommissie d.d. 6 februari 2017, ontvangen op 7 februari 2017.

Naam proef	Diersoort/ Stam	Aantal dieren	Ernst	Opmerkingen
<b>3.4.4.1 Het in kaart brengen van de ontwikkeling van het innate immuunsysteem in kippen embryo's en jonge kuikens</b>				
	Kippen / Ross	40	100% Licht	





**Aanvraagnummer:**

AVD108002017863

## 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:**

AVD108002017863

kunnen lijden als de verdoving eenmaal is uitgewerkt, moeten preventief en postoperatief behandeld worden met pijnstillers of andere geschikte pijnbestrijdingsmethoden, mits die verenigbaar zijn met het doel van de dierproef. Zodra het doel van de dierproef is bereikt, moeten passende maatregelen worden genomen om het lijden van het dier tot een minimum te beperken.

**Einde van een dierproef**

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

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

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

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

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