

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC



Aanvrager:
Afdeling:



Titel dierproef: Bepalen immuunparameters in kippen na activatie door beta-glucanen

Aanmeldcode / Protocol: 2010111.a

Stadia van de proef:

06-10-2010	Aangemeld	
21-10-2010	Wijzigen	Secretaris van de DEC
21-10-2010	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Het experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Vleeskuikens hebben veelvuldig te maken met infecties, waardoor gezondheid en welzijn van de dieren negatief wordt beïnvloed. Vanwege het verbod op preventief gebruik van antibiotica wordt veel onderzoek gedaan naar componenten die, al of niet via het dieet, de weerstand van de dieren kunnen bevorderen. Een van de meest veel belovende componenten zijn de zogenaamde beta-glucanen. Dit zijn complexe suiker structuren die afkomstig zijn van schimmels en gisten. In een groot aantal studies in diverse diermodellen is aangetoond dat deze moleculen het immuunsysteem in gunstige zin kunnen moduleren en de werkzaamheid van het immuunsysteem positief kunnen beïnvloeden. Beta-glucanen grijpen dus direct aan op het immuunsysteem en lijken ook een belangrijke rol te spelen in de ontwikkeling van het nog onvolwassen immuunsysteem. Ook in kippen lijken beta-glucanen positieve effecten te hebben. Recent is door ons een experiment met beta-glucanen uitgevoerd (zie aanvraag 2009071c) waarin gekeken is naar het effect van tijdstip en tijdsduur van toediening van beta-glucanen op de reactie van het immuunsysteem als gevolg van een nagebootste longinfectie (Intatracheale LPS/ HuSA challenge). Om werking van immunomodulatoire stoffen aan te kunnen tonen is een immuunchallenge essentieel. In deze proef bleek de reactie op LPS zeer beperkt te zijn. Er was vrijwel geen effect van de LPS behandeling waar te nemen op de groei. Ook bleek maar 1/3 van de dieren een humorale immuun response te geven tegen HuSA. Deze resultaten zijn anders dan we gewend zijn in leghennen. Hierdoor is enige twijfel gerezen over de effectiviteit van de challenge en over welke immuunfactoren het meest informatief kunnen zijn. Enige tijd geleden is een vervolgonderzoek door de dec goedgekeurd (dec aanvraagb 2010072b). Dit experiment staat gepland van 1-09-2010 tm 30-11-2010. We hebben gezien de resultaten uit exp 2009089b besloten experiment 2010072b uit te stellen en eerst een pilot experiment uit te voeren. Inmiddels hebben we in de literatuur gevonden dat broilers een 5 tot 10 maal hogere dosering aan LPS nodig hebben om een duidelijke cachectische (ontstekings) reactie te geven. Ook zou de challenge een week later uitgevoerd kunnen worden. Er zijn dan meer dieren gematureerd en het aantal op HuSA responderende dieren zou daarmee fors toe kunnen nemen. Verder willen we een sterker contrast aanleggen wat betreft de beta-glucanen doseringen.

Voor dit experiment zijn de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

1. Leidt een intratracheale challenge met LPS en HuSA op een later tijdstip en een hogere dosering LPS tot een sterkere cachectine respons (gewichtsverlies)?
- 2 Welke immuunfactoren zijn in vleeskuikens het meest informatief als het gaat om het effect van beta-glucanen?

Getracht zal worden deze vragen te beantwoorden in een pilot experiment. De uitkomsten zullen worden gebruikt in een op een later tijdstip te plannen groter experiment.

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

Het uiteindelijk doel van dit experiment is de infectiegevoeligheid van vleeskuikens terug te dringen, waardoor gezondheid en welzijn van deze dieren worden bevorderd. Ook kan het onderzoek bijdragen aan het verder terugdringen van het antibioticum gebruik in de vleeskuikenhouderij. Verder beoogd dit onderzoek verder fundamenteel inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van immuunmodulerende verbindingen tijdens de ontwikkeling van het immuunsysteem in juveniele dieren.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-11-2010 tot 28-02-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	geen beta-glucanen; wel i.t. challenge
2	3	kippen	geen betaglucanen; geen i.t. challenge
3	3	kippen	100 ppm beta-glucanen; wel i.t. challenge
4	3	kippen	100 ppm betaglucanen; geen i.t. challenge
5	3	kippen	200 ppm beta-glucanen; wel i.t. challenge
6	3	kippen	200 ppm beta-glucanen; geen i.t. challenge
7	3	kippen	300 ppm beta-glucanen; wel i.t. challenge
8	3	kippen	300 ppm beta-glucanen; geen i.t. challenge
9	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; wel i.t. challenge
10	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; geen i.t. challenge

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Vleeskuikens (Ross) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij voor vleeskuikens.

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

Het vleeskuiken is het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment waarin het effect van een hogere dosering LPS zal worden onderzocht. Beta-glucanen zullen in een 5 tal doseringen worden verstrekt. Dit maakt het mogelijk het effect van beta-glucanen op diverse immuunparameters via niet-lineaire regressie te analyseren. Statistische onderbouwing is vanwege de beperkte omvang van de studie niet relevant.

4.d. Herkomst:

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

- 7 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 8 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 9 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 10 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

Kuikens zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De kuikens worden gehuisvest in groepjes van 3 kuikens in grondhokken.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd als gangbaar voor vleeskuikens. De volgende vaccinatie zullen worden toegepast:

[REDACTED]

5.c. Voeding:

De dieren krijgen ad lib voer en water. Er zal een standaardopfokvoer voor vleeskuikens worden gebruikt waaraan de juiste hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel) worden toegevoegd.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Kuikens worden random opgehokt in groepjes van 3 dieren per hok. Opfokvoerders met daardoorheen de aangegeven hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel: Trouw Nutrition) worden verstrekt vanaf dag 1. Op 3 weken leeftijd wordt 1 ml bloed afgenomen tbv een ex vivo immuun test met geïsoleerde perifere mononucleaire cellen. Ook wordt het basaal level aan acute fase eiwitten bepaald en eventueel interferon-gamma. Op 4 weken leeftijd worden de kuikens in de oneven groepen intratracheaal gechallengeerd met E. coli LPS (2.5 mg/ kg) en Humaan serum albumine (0.1 mg/ kg). De even groepen worden i.t. gechallengeerd met PBS. De stoffen zijn opgelost in een volume van 0.5 ml. Op t=0, 3, 7, 10, en 14 dagen na challenge wordt 1 ml bloed afgenomen uit de vleugel tbv bepalingen van antistoffen tegen HuSA, LPS, KLH (natuurlijke antistoffen) en zullen acute fase eiwitten worden gemeten. Ook zal worden onderzocht of de concentratie lysozym (product van macrofagen) in serum een goede parameter kan zijn voor het meten van het effect van beta-glucanen op de immuunresponse. Verder zal op 3 weken en 4 weken leeftijd de fagocytose capaciteit van monocyten in het bloed worden bepaald. Ook zal op 3 en 4 weken leeftijd een lymfocyt proliferatietest worden uitgevoerd. De kuikens worden wekelijks en op 24 en 48 uur na challenge gewogen.

6.b. Mate van ongerief:

- 1 C. Matig
- 2 A. Gering
- 3 C. Matig
- 4 A. Gering
- 5 C. Matig
- 6 A. Gering
- 7 C. Matig
- 8 A. Gering
- 9 C. Matig
- 10 A. Gering

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

Ongerief bestaat uit:

- vangen van de dieren ten behoeve van het wekelijks wegen (gering ongerief)
- bloedtappen en i.t. challenge (gering ongerief)
- response op de i.t. challenge (ingeschat als matig ongerief)

i.t. challenge met LPS vindt alleen plaats bij de groepen 1, 3, 5, 7, 9. De groepen 2, 4, 6, 8, 10 worden i.t. gechallenge met gebufferd fysiologisch zout (PBS).

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

Anesthesie:

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

Pijnbestrijding:

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

Bloedtappen en intratracheale challenge wordt uitgevoerd door ervaren personeel. De kuikens worden in groepjes van 3 gehuisvest in grondhokken met strooisel.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- 1 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 2 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 3 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 4 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 5 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 6 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 7 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 8 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 9 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 10 Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Vanwege de challenge met LPS mogen de dieren niet beschikbaar worden gesteld voor consumptie.

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

Er zijn geen alternatieven. Het vleeskuiken is het doeldier.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010111.a (K14):

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

	36 1 1 01								
1	1	51	1	3	05	1	1	3	2
2	1	51	1	3	01	1	1	1	2
3	1	51	1	3	05	1	1	3	2
4	1	51	1	3	01	1	1	1	2
5	1	51	1	3	05	1	1	3	2
6	1	51	1	3	01	1	1	1	2
7	1	51	1	3	05	1	1	3	2
8	1	51	1	3	01	1	1	1	2
9	1	51	1	3	05	1	1	3	2
10	1	51	1	3	01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC



Aanvrager:
Afdeling:



Titel dierproef: Bepalen immuunparameters in kippen na activatie door beta-glucanen (pilot).

Aanmeldcode / Protocol: 2010111.b

Stadia van de proef:

21-10-2010	Aangemeld	
29-10-2010	Wijzigen	Secretaris van de DEC
29-10-2010	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Het experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Vleeskuikens hebben veelvuldig te maken met infecties, waardoor gezondheid en welzijn van de dieren negatief wordt beïnvloed. Vanwege het verbod op preventief gebruik van antibiotica wordt veel onderzoek gedaan naar componenten die, al of niet via het dieet, de weerstand van de dieren kunnen bevorderen. Een van de meest veel belovende componenten zijn de zogenaamde beta-glucanen. Dit zijn complexe suiker structuren die afkomstig zijn van schimmels en gisten. In een groot aantal studies in diverse diermodellen is aangetoond dat deze moleculen het immuunsysteem in gunstige zin kunnen moduleren en de werkzaamheid van het immuunsysteem positief kunnen beïnvloeden. Beta-glucanen grijpen dus direct aan op het immuunsysteem en lijken ook een belangrijke rol te spelen in de ontwikkeling van het nog onvolwassen immuunsysteem. Ook in kippen lijken beta-glucanen positieve effecten te hebben. Recent is door ons een experiment met beta-glucanen uitgevoerd (zie aanvraag 2009071c) waarin gekeken is naar het effect van tijdstip en tijdsduur van toediening van beta-glucanen op de reactie van het immuunsysteem als gevolg van een nagebootste longinfectie (Intatracheale LPS/ HuSA challenge). Om werking van immunomodulatorische stoffen aan te kunnen tonen is een immuunchallenge essentieel. In deze proef bleek de reactie op LPS zeer beperkt te zijn. Er was vrijwel geen effect van de LPS behandeling waar te nemen op de groei. Ook bleek maar 1/3 van de dieren een humorale immuun response te geven tegen HuSA. Deze resultaten zijn anders dan we gewend zijn in leghennen. Hierdoor is enige twijfel gerezen over de effectiviteit van de challenge en over welke immuunfactoren het meest informatief kunnen zijn. Enige tijd geleden is een vervolgonderzoek door de dec goedgekeurd (dec aanvraag 2010072b). Dit experiment staat gepland van 1-09-2010 tm 30-11-2010. We hebben gezien de resultaten uit exp 2009089b besloten experiment 2010072b uit te stellen en eerst een pilot experiment uit te voeren. Inmiddels hebben we in de literatuur gevonden dat broilers een 5 tot 10 maal hogere dosering aan LPS nodig hebben om een duidelijke cachectine (ontstekings) reactie te geven. Ook zou de challenge een week later uitgevoerd kunnen worden. Er zijn dan meer dieren gematureerd en het aantal op HuSA responderende dieren zou daarmee fors toe kunnen nemen. Verder willen we een sterker contrast aanleggen wat betreft de beta-glucanen doseringen.

Voor dit experiment zijn de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

1. Leidt een intratracheale challenge met LPS en HuSA op een later tijdstip en een hogere dosering LPS tot een sterkere cachectische respons (gewichtsverlies)?
2. Welke immuunfactoren zijn in vleeskuikens het meest informatief als het gaat om het effect van beta-glucanen?

Getracht zal worden deze vragen te beantwoorden in een pilot experiment. De uitkomsten zullen worden gebruikt in een op een later tijdstip te plannen groter experiment.

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

Het uiteindelijk doel van dit experiment is de infectiegevoeligheid van vleeskuikens terug te dringen, waardoor gezondheid en welzijn van deze dieren worden bevorderd. Ook kan het onderzoek bijdragen aan het verder terugdringen van het antibioticum gebruik in de vleeskuikenhouderij. Verder beoogd dit onderzoek verder fundamenteel inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van immuunmodulerende verbindingen tijdens de ontwikkeling van het immuunsysteem in juveniele dieren.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-11-2010 tot 28-02-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	geen beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
2	3	kippen	geen betaglucanen; i.t. challenge met PBS
3	3	kippen	100 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
4	3	kippen	100 ppm betaglucanen; i.t. challenge met PBS
5	3	kippen	250 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
6	3	kippen	250 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS
7	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
8	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS
9	3	kippen	500 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
10	3	kippen	500 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Vleeskuikens (Ross) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij voor vleeskuikens.

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

Het vleeskuiken is het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment waarin het effect van een hogere dosering LPS zal worden onderzocht. Beta-glucanen zullen in een 5 tal doseringen worden verstrekt. Dit maakt het mogelijk het effect van beta-glucanen op diverse immuunparameters via niet-lineaire regressie te analyseren. Statistische onderbouwing is vanwege de beperkte omvang van de studie niet relevant.

4.d. Herkomst:

- | | |
|---|--|
| 1 | A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland |
| 2 | A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland |
| 3 | A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland |
| 4 | A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland |
| 5 | A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland |
| 6 | A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland |

- 7 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 8 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 9 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 10 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

Kuikens zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De kuikens worden gehuisvest in groepjes van 3 kuikens in grondhokken.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd als gangbaar voor vleeskuikens. De volgende vaccinatie zullen worden toegepast:

[REDACTED]

5.c. Voeding:

De dieren krijgen ad lib voer en water. Er zal een standaardopfokvoer voor vleeskuikens worden gebruikt waaraan de juiste hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel) worden toegevoegd.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Kuikens worden random opgehokt in groepjes van 3 dieren per hok. Opfokvoerders met daardoorheen de aangegeven hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel: Trouw Nutrition) worden verstrekt vanaf dag 1. Op 3 weken leeftijd wordt 1 ml bloed afgenomen tbv een ex vivo immuun test met geïsoleerde perifere mononucleaire cellen. Ook wordt het basaal level aan acute fase eiwitten bepaald en eventueel interferon-gamma. Op 4 weken leeftijd worden de kuikens in de oneven groepen intratracheaal gechallengeerd met E. coli LPS (2.5 mg/ kg) en Humaan serum albumine (0.1 mg/ kg). De even groepen worden i.t. gechallengeerd met PBS. De stoffen zijn opgelost in een volume van 0.5 ml. Op t=0, 3, 7, 10, en 14 dagen na challenge wordt 1 ml bloed afgenomen uit de vleugel tbv bepalingen van antistoffen tegen HuSA, LPS, KLH (natuurlijke antistoffen) en zullen acute fase eiwitten worden gemeten. Ook zal worden onderzocht of de concentratie lysozym (product van macrofagen) in serum een goede parameter kan zijn voor het meten van het effect van beta-glucanen op de immuunresponse. Verder zal op 3 weken en 4 weken leeftijd de fagocytose capaciteit van monocyten in het bloed worden bepaald. Ook zal op 3 en 4 weken leeftijd een lymfocyt proliferatietest worden uitgevoerd. De kuikens worden wekelijks en op 24 en 48 uur na challenge gewogen.

6.b. Mate van ongerief:

- 1 C. Matig
- 2 B. Gering/Matig
- 3 C. Matig
- 4 B. Gering/Matig
- 5 C. Matig
- 6 B. Gering/Matig
- 7 C. Matig
- 8 B. Gering/Matig
- 9 C. Matig
- 10 B. Gering/Matig

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

Ongerief bestaat uit:

- vangen van de dieren ten behoeve van het wekelijks wegen (gering ongerief)
- bloedtappen en i.t. challenge (gering ongerief)
- response op de i.t. challenge (ingeschat als matig ongerief)

i.t. challenge met LPS vindt alleen plaats bij de groepen 1, 3, 5, 7, 9. De groepen 2, 4, 6, 8, 10 worden i.t. gechallenge met gebufferd fysiologisch zout (PBS).

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

Anesthesie:

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

Pijnbestrijding:

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

Bloedtappen en intratracheale challenge wordt uitgevoerd door ervaren personeel. De kuikens worden in groepjes van 3 gehuisvest in grondhokken met strooisel.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- 1 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 2 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 3 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 4 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 5 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 6 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 7 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 8 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 9 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- 10 Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Vanwege de challenge met LPS mogen de dieren niet beschikbaar worden gesteld voor consumptie.

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

Er zijn geen alternatieven. Het vleeskuiken is het doeldier.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010111.b (K14):

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

36 1 1 01

1	1	51	1	3	05	1	1	3	2
2	1	51	1	3	01	1	1	2	2
3	1	51	1	3	05	1	1	3	2
4	1	51	1	3	01	1	1	2	2
5	1	51	1	3	05	1	1	3	2
6	1	51	1	3	01	1	1	2	2
7	1	51	1	3	05	1	1	3	2
8	1	51	1	3	01	1	1	2	2
9	1	51	1	3	05	1	1	3	2
10	1	51	1	3	01	1	1	2	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Bepalen immuunparameters in kippen na activatie door beta-glucanen (pilot).

Aanmeldcode / Protocol: 2010111.c

Stadia van de proef:

29-10-2010	Aangemeld	
02-11-2010	Wijzigen	Secretaris van de DEC
02-11-2010	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Het experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Vleeskuikens hebben veelvuldig te maken met infecties, waardoor gezondheid en welzijn van de dieren negatief wordt beïnvloed. Vanwege het verbod op preventief gebruik van antibiotica wordt veel onderzoek gedaan naar componenten die, al of niet via het dieet, de weerstand van de dieren kunnen bevorderen. Een van de meest veel belovende componenten zijn de zogenaamde beta-glucanen. Dit zijn complexe suiker structuren die afkomstig zijn van schimmels en gisten. In een groot aantal studies in diverse diersoorten is aangetoond dat deze moleculen het immuunsysteem in gunstige zin kunnen moduleren en de werkzaamheid van het immuunsysteem positief kunnen beïnvloeden. Beta-glucanen grijpen dus direct aan op het immuunsysteem en lijken ook een belangrijke rol te spelen in de ontwikkeling van het nog onvolwassen immuunsysteem. Ook in kippen lijken beta-glucanen positieve effecten te hebben. Recent is door ons een experiment met beta-glucanen uitgevoerd (zie aanvraag 2009071c) waarin gekeken is naar het effect van tijdstip en tijdsduur van toediening van beta-glucanen op de reactie van het immuunsysteem als gevolg van een nagebootste longinfectie (Intratracheale LPS/ HuSA challenge). Om werking van immunomodulatorische stoffen aan te kunnen tonen is een immuunchallenge essentieel. In deze proef bleek de reactie op LPS zeer beperkt te zijn. Er was vrijwel geen effect van de LPS behandeling op de groei. Ook bleek maar 1/3 van de dieren een humorale immuun response te geven tegen HuSA. Deze resultaten zijn anders dan we gewend zijn in leghennen. Hierdoor is enige twijfel gerezen over de effectiviteit van de challenge en over welke immuunfactoren het meest informatief kunnen zijn. Enige tijd geleden is een vervolgonderzoek door de dec goedgekeurd (dec aanvraag 2010072b). Dit experiment staat gepland van 1-09-2010 tot 30-11-2010. We hebben gezien de resultaten uit exp 2009089b besloten experiment 2010072b uit te stellen en eerst een pilot experiment uit te voeren. Inmiddels hebben we in de literatuur gevonden dat broilers een 5 tot 10 maal hogere dosering aan LPS nodig hebben om een duidelijke cachectische (ontstekings) reactie te geven. Ook zou de challenge een week later uitgevoerd kunnen worden. Er zijn dan meer dieren gematureerd en het aantal op HuSA responderende dieren zou daarmee fors toe kunnen nemen. Verder willen we een sterker contrast aanleggen wat betreft de beta-glucanen doseringen.

Voor dit experiment zijn de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

1. Leidt een intratracheale challenge met LPS en HuSA op een later tijdstip en een hogere dosering LPS tot een sterkere cachectine respons (gewichtsverlies)?
2. Welke immuunfactoren zijn in vleeskuikens het meest informatief als het gaat om het effect van beta-glucanen?

Getracht zal worden deze vragen te beantwoorden in een pilot experiment. De uitkomsten zullen worden gebruikt in een op een later tijdstip te plannen groter experiment.

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

Het uiteindelijk doel van dit experiment is de infectiegevoeligheid van vleeskuikens terug te dringen, waardoor gezondheid en welzijn van deze dieren worden bevorderd. Ook kan het onderzoek bijdragen aan het verder terugdringen van het antibioticum gebruik in de vleeskuikenhouderij. Verder beoogd dit onderzoek verder fundamenteel inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van immuunmodulerende verbindingen tijdens de ontwikkeling van het immuunsysteem in juveniele dieren.

1.c. Leksamenovvatting:

2. Gepland vanaf: 01-11-2010 tot 28-02-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	geen beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
2	3	kippen	geen betaglucanen; i.t. challenge met PBS
3	3	kippen	100 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
4	3	kippen	100 ppm betaglucanen; i.t. challenge met PBS
5	3	kippen	250 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
6	3	kippen	250 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS
7	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
8	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS
9	3	kippen	500 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
10	3	kippen	500 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Vleeskuikens (Ross) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij voor vleeskuikens.

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

Het vleeskuiken is het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment waarin het effect van een hogere dosering LPS zal worden onderzocht. Beta-glucanen zullen in een 5 tal doseringen worden verstrekt. Dit maakt het mogelijk het effect van beta-glucanen op diverse immuunparameters via niet-lineaire regressie te analyseren. Statistische onderbouwing is vanwege de beperkte omvang van de studie niet relevant.

4.d. Herkomst:

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

- 7 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 8 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 9 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland
- 10 A. van gereg. fok/toeleveringsbedrijf in Nederland

Toelichting:

Kuikens zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De kuikens worden gehuisvest in groepjes van 3 kuikens in grondhokken.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd als gangbaar voor vleeskuikens. De volgende vaccinatie zullen worden toegepast:

[REDACTED]

5.c. Voeding:

De dieren krijgen ad lib voer en water. Er zal een standaardopfokvoer voor vleeskuikens worden gebruikt waaraan de juiste hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel) worden toegevoegd.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Kuikens worden random opgehokt in groepjes van 3 dieren per hok. Opfokvoerders met daardoorheen de aangegeven hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel: Trouw Nutrition) worden verstrekt vanaf dag 1. Op 3 weken leeftijd wordt 1 ml bloed afgenomen tbv een ex vivo immuun test met geïsoleerde perifere mononucleaire cellen. Ook wordt het basaal level aan acute fase eiwitten bepaald en eventueel interferon-gamma. Op 4 weken leeftijd worden de kuikens in de oneven groepen intratracheaal gechallengeerd met E. coli LPS (2.5 mg/ kg) en Humaan serum albumine (0.1 mg/ kg). De even groepen worden i.t. gechallengeerd met PBS. De stoffen zijn opgelost in een volume van 0.5 ml. Op t=0, 3, 7, 10, en 14 dagen na challenge wordt 1 ml bloed afgenomen uit de vleugel tbv bepalingen van antistoffen tegen HuSA, LPS, KLH (natuurlijke antistoffen) en zullen acute fase eiwitten worden gemeten. Ook zal worden onderzocht of de concentratie lysozym (product van macrofagen) in serum een goede parameter kan zijn voor het meten van het effect van beta-glucanen op de immuunrespons. Verder zal op 3 weken en 4 weken leeftijd de fagocytose capaciteit van monocytten in het bloed worden bepaald. Ook zal op 3 en 4 weken leeftijd een lymfocyt proliferatietest worden uitgevoerd. De kuikens worden wekelijks en op 24 en 48 uur na challenge gewogen. Voeropname zal niet worden bepaald, omdat dit gezien de hoeveelheid extra werk niet veel extra informatie verstrekt, gelet op het doel van het experiment. groei en voeropname zijn direct aan elkaar gerelateerd, maar een verandering in voederconversie als gevolg van beta-glucanen kan hier toch niet worden aangetoond, omdat de opzet van de proef hiervoor veel te kleinschalig is. Voeropname zal in het uiteindelijk hoofdexperiment wel een factor zijn.

6.b. Mate van ongerief:

- 1 C. Matig
- 2 B. Gering/Matig
- 3 C. Matig
- 4 B. Gering/Matig
- 5 C. Matig
- 6 B. Gering/Matig
- 7 C. Matig
- 8 B. Gering/Matig
- 9 C. Matig
- 10 B. Gering/Matig

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

Ongerief bestaat uit:

- vangen van de dieren ten behoeve van het wekelijks wegen (gering ongerief)
- bloedtappen en i.t. challenge (gering ongerief)
- response op de i.t. challenge (ingeschat als matig ongerief)

i.t. challenge met LPS vindt alleen plaats bij de groepen 1, 3, 5, 7, 9. De groepen 2, 4, 6, 8, 10 worden i.t. gechallenge met gebufferd fysiologisch zout (PBS).

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

Anesthesie:

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

Pijnbestrijding:

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

Bloedtappen en intratracheale challenge wordt uitgevoerd door ervaren personeel. De kuikens worden in groepjes van 3 gehuisvest in grondhokken met strooisel.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- | | |
|----|---|
| 1 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 2 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 3 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 4 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 5 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 6 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 7 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 8 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 9 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 10 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |

Toelichting:

Vanwege de challenge met LPS mogen de dieren niet beschikbaar worden gesteld voor consumptie.

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

Vermindering:

Het betreft hier een pilot proef die gedaan wordt om in de uiteindelijk proef de meest informatieve parameters te kunnen testen. Hierdoor zal deze proef meer informatie opleveren, wat uiteindelijk het gebruik van proefdieren zal verminderen.

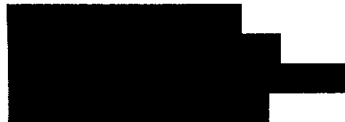
Verfijning:

Het experiment zal worden uitgevoerd door zeer ervaren personeel. De dieren worden in groepen in grondhokken met verrijking (strooisel) gehuisvest. Ernstig zieke dieren zullen uit de proef worden gehaald. Bij twijfel zal de proefdierdeskundige van wur worden geraadpleegd.

Vervanging:

De kip is het doeldier. Het gaat om het effect van beta-glucanen in vivo. In vitro onderzoek is hier niet mogelijk. Wel zullen een aantal ex vivo testen worden uitgevoerd.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010111.c (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					36	1	1	01					
1	1	51	1	3					05	1	1	3	2
2	1	51	1	3					01	1	1	2	2
3	1	51	1	3					05	1	1	3	2
4	1	51	1	3					01	1	1	2	2
5	1	51	1	3					05	1	1	3	2
6	1	51	1	3					01	1	1	2	2
7	1	51	1	3					05	1	1	3	2
8	1	51	1	3					01	1	1	2	2
9	1	51	1	3					05	1	1	3	2
10	1	51	1	3					01	1	1	2	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:

Afdeling:

Titel dierproef: Bepalen immuunparameters in kippen na activatie door beta-glucanen (pilot).

Aanmeldcode / Protocol: 2010111.d

Stadia van de proef:

02-11-2010	Aangemeld		
02-11-2010	Positief advies na behandeling DEC	Secretaris van de DEC	
15-11-2010	Proef gestart		
31-01-2011	Welzijnsevaluatie aangemaakt		
31-01-2011	Welzijnsevaluatie aangemeld		
31-01-2011	Welzijnsevaluatie goedgekeurd		

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Het experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Vleeskuikens hebben veelvuldig te maken met infecties, waardoor gezondheid en welzijn van de dieren negatief wordt beïnvloed. Vanwege het verbod op preventief gebruik van antibiotica wordt veel onderzoek gedaan naar componenten die, al of niet via het dieet, de weerstand van de dieren kunnen bevorderen. Een van de meest veel belovende componenten zijn de zogenaamde beta-glucanen. Dit zijn complexe suiker structuren die afkomstig zijn van schimmels en gisten. In een groot aantal studies in diverse diersmodellen is aangetoond dat deze moleculen het immuunsysteem in gunstige zin kunnen moduleren en de werkzaamheid van het immuunsysteem positief kunnen beïnvloeden. Beta-glucanen grijpen dus direct aan op het immuunsysteem en lijken ook een belangrijke rol te spelen in de ontwikkeling van het nog onvolwassen immuunsysteem. Ook in kippen lijken beta-glucanen positieve effecten te hebben. Recent is door ons een experiment met beta-glucanen uitgevoerd (zie aanvraag 2009071c) waarin gekeken is naar het effect van tijdstip en tijdsduur van toediening van beta-glucanen op de reactie van het immuunsysteem als gevolg van een nagebootste longinfectie (Intatracheale LPS/ HuSA challenge). Om werking van immunomodulatorische stoffen aan te kunnen tonen is een immuunchallenge essentieel. In deze proef bleek de reactie op LPS zeer beperkt te zijn. Er was vrijwel geen effect van de LPS behandeling waar te nemen op de groei. Ook bleek maar 1/3 van de dieren een humorale immuun response te geven tegen HuSA. Deze resultaten zijn anders dan we gewend zijn in leghennen. Hierdoor is enige twijfel gerezen over de effectiviteit van de challenge en over welke immuunfactoren het meest informatief kunnen zijn. Enige tijd geleden is een vervolgonderzoek door de dec goedgekeurd (dec aanvraag 2010072b). Dit experiment staat gepland van 1-09-2010 tm 30-11-2010. We hebben gezien de resultaten uit exp 2009089b besloten experiment 2010072b uit te stellen en eerst een pilot experiment uit te voeren. Inmiddels hebben we in de literatuur gevonden dat broilers een 5 tot 10 maal hogere dosering aan LPS nodig hebben om een duidelijke cachectische (ontstekings) reactie te geven. Ook zou de challenge

een week later uitgevoerd kunnen worden. Er zijn dan meer dieren gematureerd en het aantal op HuSA responderende dieren zou daarmee fors toe kunnen nemen. Verder willen we een sterker contrast aanleggen wat betreft de beta-glucanen doseringen.

Voor dit experiment zijn de volgende onderzoeksvragen geformuleerd:

1. Leidt een intratracheale challenge met LPS en HuSA op een later tijdstip en een hogere dosering LPS tot een sterkere cachectine respons (gewichtsverlies)?
- 2 Welke immuunfactoren zijn in vleeskuikens het meest informatief als het gaat om het effect van beta-glucanen?

Getracht zal worden deze vragen te beantwoorden in een pilot experiment. De uitkomsten zullen worden gebruikt in een op een later tijdstip te plannen groter experiment.

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

Het uiteindelijke doel van dit experiment is de infectiegevoeligheid van vleeskuikens terug te dringen, waardoor gezondheid en welzijn van deze dieren worden bevorderd. Ook kan het onderzoek bijdragen aan het verder terugdringen van het antibioticum gebruik in de vleeskuikenhouderij. Verder beoogd dit onderzoek verder fundamenteel inzicht te krijgen in de werkingsmechanismen van immuunmodulerende verbindingen tijdens de ontwikkeling van het immuunsysteem in juveniele dieren.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 15-11-2010 tot 15-03-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	geen beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
2	3	kippen	geen betaglucanen; i.t. challenge met PBS
3	3	kippen	100 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
4	3	kippen	100 ppm betaglucanen; i.t. challenge met PBS
5	3	kippen	250 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
6	3	kippen	250 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS
7	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
8	3	kippen	400 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS
9	3	kippen	500 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met LPS
10	3	kippen	500 ppm beta-glucanen; i.t. challenge met PBS

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Vleeskuikens (Ross) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij voor vleeskuikens.

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

Het vleeskuiken is het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment waarin het effect van een hogere dosering LPS zal worden onderzocht. Beta-glucanen zullen in een 5 tal doseringen worden verstrekt. Dit maakt het mogelijk het effect van beta-glucanen op diverse immuunparameters via niet-lineaire regressie te analyseren. Statistische onderbouwing is vanwege de beperkte omvang van de studie niet relevant.

4.d. Herkomst:

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

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

Toelichting:

Kuikens zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij

5.a. Accommodatie:

De kuikens worden gehuisvest in groepjes van 3 kuikens in grondhokken.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd als gangbaar voor vleeskuikens. De volgende vaccinatie zullen worden toegepast:

[Redacted text]

5.c. Voeding:

De dieren krijgen ad lib voer en water. Er zal een standaardopfokvoer voor vleeskuikens worden gebruikt waaraan de juiste hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel) worden toegevoegd.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Kuikens worden random opgehokt in groepjes van 3 dieren per hok. Opfokvoerders met daardoorheen de aangegeven hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel: Trouw Nutrition) worden verstrekt vanaf dag 1. Op 3 weken leeftijd wordt 1 ml bloed afgenomen tbv een ex vivo immuun test met geïsoleerde perifere mononucleaire cellen. Ook wordt het basaal level aan acute fase eiwitten bepaald en eventueel interferon-gamma. Op 4 weken leeftijd worden de kuikens in de oneven groepen intratracheaal gechallengeerd met E. coli LPS (2.5 mg/ kg) en Humaan serum albumine (0.1 mg/ kg). De even groepen worden i.t. gechallengeerd met PBS. De stoffen zijn opgelost in een volume van 0.5 ml. Op t=0, 3, 7, 10, en 14 dagen na challenge wordt 1 ml bloed afgenomen uit de vleugel tbv bepalingen van antistoffen tegen HuSA, LPS, KLH (natuurlijke antistoffen) en zullen acute fase eiwitten worden gemeten. Ook zal worden onderzocht of de concentratie lysozym (product van macrofagen) in serum een goede parameter kan zijn voor het meten van het effect van beta-glucanen op de immuunresponse. Verder zal op 3 weken en 4 weken leeftijd de fagocytose capaciteit van monocyten in het bloed worden bepaald. Ook zal op 3 en 4 weken leeftijd een lymfocyt proliferatietest worden uitgevoerd. De kuikens worden wekelijks en op 24 en 48 uur na challenge gewogen. Voeropname zal niet worden bepaald, omdat dit gezien de hoeveelheid extra werk niet veel extra informatie verstrekt, gelet op het doel van het experiment. groei en voeropname zijn direct aan elkaar gerelateerd, maar een verandering in voederconversie als gevolg van beta-glucanen kan hier toch niet worden aangetoond, omdat de opzet van de proef hiervoor veel te kleinschalig is. Voeropname zal in het uiteindelijk hoofdexperiment wel een factor zijn.

Argumentatie voor de keuze van de verschillende doseringen:

De reeks aan doseringen is gekozen omdat een interactie tussen beta-glucanen toediening en LPS challenge wordt verwacht. Beide moleculen activeren namelijk macrofagen. Op basis van fundamentele immunologie wordt verwacht dat bij hoge doseringen immuunsuppressie ipv immuunactivatie optreedt. Hierdoor wordt een verschillende response op intratracheale LPS toediening verwacht. Op deze wijze wordt dus een contrast aangebracht, waardoor we variatie in de immuun responsen krijgen, waardoor de informatiewaarde van de diverse immuunparameters bestudeerd kan worden.

6.b. Mate van ongerief:

1 C. Matig

- | | |
|----|-----------------|
| 2 | B. Gering/Matig |
| 3 | C. Matig |
| 4 | B. Gering/Matig |
| 5 | C. Matig |
| 6 | B. Gering/Matig |
| 7 | C. Matig |
| 8 | B. Gering/Matig |
| 9 | C. Matig |
| 10 | B. Gering/Matig |

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

Ongerief bestaat uit:

- vangen van de dieren ten behoeve van het wekelijks wegen (gering ongerief)
- bloedtappen en i.t. challenge (gering ongerief)
- response op de i.t. challenge (ingeschat als matig ongerief)

i.t. challenge met LPS vindt alleen plaats bij de groepen 1, 3, 5, 7, 9. De groepen 2, 4, 6, 8, 10 worden i.t. gechallenge met gebufferd fysiologisch zout (PBS).

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

Anesthesie:

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

Pijnbestrijding:

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

Bloedtappen en intratracheale challenge wordt uitgevoerd door ervaren personeel. De kuikens worden in groepjes van 3 gehuisvest in grondhokken met strooisel.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- | | |
|---|---|
| 1 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 2 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 3 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 4 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 5 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 6 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 7 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 8 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |

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

Toelichting:

Kuikens zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij

5.a. Accommodatie:

De kuikens worden gehuisvest in groepjes van 3 kuikens in grondhokken.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De dieren worden verzorgd als gangbaar voor vleeskuikens. De volgende vaccinatie zullen worden toegepast:

[Redacted text]

5.c. Voeding:

De dieren krijgen ad lib voer en water. Er zal een standaardopfokvoer voor vleeskuikens worden gebruikt waaraan de juiste hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel) worden toegevoegd.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Kuikens worden random opgehokt in groepjes van 3 dieren per hok. Opfokvoerders met daardoorheen de aangegeven hoeveelheden beta-glucanen (Fibosel: Trouw Nutrition) worden verstrekt vanaf dag 1. Op 3 weken leeftijd wordt 1 ml bloed afgenomen tbv een ex vivo immuun test met geïsoleerde perifere mononucleaire cellen. Ook wordt het basaal level aan acute fase eiwitten bepaald en eventueel interferon-gamma. Op 4 weken leeftijd worden de kuikens in de oneven groepen intratracheaal gechallengeerd met E. coli LPS (2.5 mg/ kg) en Humaan serum albumine (0.1 mg/ kg). De even groepen worden i.t. gechallengeerd met PBS. De stoffen zijn opgelost in een volume van 0.5 ml. Op t=0, 3, 7, 10, en 14 dagen na challenge wordt 1 ml bloed afgenomen uit de vleugel tbv bepalingen van antistoffen tegen HuSA, LPS, KLH (natuurlijke antistoffen) en zullen acute fase eiwitten worden gemeten. Ook zal worden onderzocht of de concentratie lysozym (product van macrofagen) in serum een goede parameter kan zijn voor het meten van het effect van beta-glucanen op de immuunresponse. Verder zal op 3 weken en 4 weken leeftijd de fagocytose capaciteit van monocyten in het bloed worden bepaald. Ook zal op 3 en 4 weken leeftijd een lymfocyt proliferatietest worden uitgevoerd. De kuikens worden wekelijks en op 24 en 48 uur na challenge gewogen. Voeropname zal niet worden bepaald, omdat dit gezien de hoeveelheid extra werk niet veel extra informatie verstrekt, gelet op het doel van het experiment. groei en voeropname zijn direct aan elkaar gerelateerd, maar een verandering in voederconversie als gevolg van beta-glucanen kan hier toch niet worden aangetoond, omdat de opzet van de proef hiervoor veel te kleinschalig is. Voeropname zal in het uiteindelijk hoofdexperiment wel een factor zijn.

Argumentatie voor de keuze van de verschillende doseringen:

De reeks aan doseringen is gekozen omdat een interactie tussen beta-glucanen toediening en LPS challenge wordt verwacht. Beide moleculen activeren namelijk macrofagen. Op basis van fundamentele immunologie wordt verwacht dat bij hoge doseringen immuunsuppressie ipv immuunactivatie optreedt. Hierdoor wordt een verschillende response op intratracheale LPS toediening verwacht. Op deze wijze wordt dus een contrast aangebracht, waardoor we variatie in de immuun responsen krijgen, waardoor de informatiewaarde van de diverse immuunparameters bestudeerd kan worden.

6.b. Mate van ongerief:

1 C. Matig

- | | |
|----|-----------------|
| 2 | B. Gering/Matig |
| 3 | C. Matig |
| 4 | B. Gering/Matig |
| 5 | C. Matig |
| 6 | B. Gering/Matig |
| 7 | C. Matig |
| 8 | B. Gering/Matig |
| 9 | C. Matig |
| 10 | B. Gering/Matig |

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

Ongerief bestaat uit:

- vangen van de dieren ten behoeve van het wekelijks wegen (gering ongerief)
- bloedtappen en i.t. challenge (gering ongerief)
- response op de i.t. challenge (ingeschat als matig ongerief)

i.t. challenge met LPS vindt alleen plaats bij de groepen 1, 3, 5, 7, 9. De groepen 2, 4, 6, 8, 10 worden i.t. gechallenge met gebufferd fysiologisch zout (PBS).

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

Anesthesie:

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

Pijnbestrijding:

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

Bloedtappen en intratracheale challenge wordt uitgevoerd door ervaren personeel. De kuikens worden in groepjes van 3 gehuisvest in grondhokken met strooisel.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- | | |
|---|---|
| 1 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 2 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 3 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 4 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 5 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 6 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 7 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |
| 8 | Het dier is gedood na het einde van de proef. |

- 9 Het dier is gedood na het einde van de proef.
10 Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

Vanwege de challenge met LPS mogen de dieren niet beschikbaar worden gesteld voor consumptie.

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

Vermindering:

Het betreft hier een pilot proef die gedaan wordt om in de uiteindelijk proef de meest informatieve parameters te kunnen testen. Hierdoor zal deze proef meer informatie opleveren, wat uiteindelijk het gebruik van proefdieren zal verminderen.

Verfijning:

Het experiment zal worden uitgevoerd door zeer ervaren personeel. De dieren worden in groepen in grondhokken met verrijking (strooisel) gehuisvest. Ernstig zieke dieren zullen uit de proef worden gehaald. Bij twijfel zal de proefdierdeskundige van wur worden geraadpleegd.

Vervanging:

De kip is het doeldier. Het gaat om het effect van beta-glucanen in vivo. In vitro onderzoek is hier niet mogelijk. Wel zullen een aantal ex vivo testen worden uitgevoerd.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010111.d (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					36	1	1	01					
1	1	51	1	3					05	1	1	3	2
2	1	51	1	3					01	1	1	2	2
3	1	51	1	3					05	1	1	3	2
4	1	51	1	3					01	1	1	2	2
5	1	51	1	3					05	1	1	3	2
6	1	51	1	3					01	1	1	2	2
7	1	51	1	3					05	1	1	3	2
8	1	51	1	3					01	1	1	2	2
9	1	51	1	3					05	1	1	3	2
10	1	51	1	3					01	1	1	2	2

Uw aanvraag 2010111.a, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de DEC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC onderschrijft het doel van de proef, maar heeft een aantal inhoudelijke vragen ter verheldering waarop ze een antwoord wil alvorens tot een definitieve afweging te komen. Het gaat om de volgende vragen en opmerkingen:

De DEC verzoekt u bij 1.a. (te beantwoorden vraag) toe te lichten, waarom u het gewichtsverlies als belangrijkste parameter beschouwt voor de mate van respons, aangezien zij er van uitgaat, dat er hiervoor nog andere indicatoren zijn, zoals verandering in voeropname en zij geeft u in overweging deze mee te nemen, aangezien deze in een eerder stadium informatie geeft.

Daarnaast verzoekt de DEC u toe te lichten, of de doseringen van de betaglucanen zodanig zijn gekozen, dat een verschil in effect tussen de groepen inderdaad is toe te schrijven aan deze verschillende doses. Tevens verzoekt zij u toe te lichten, hoe u omgaat met verschillen tussen individuen binnen een groep. Bovendien verzoekt de DEC u enkele groepen toe te voegen om de dosering van LPS te bepalen, aangezien het nog niet duidelijk is dat de gekozen dosering de juiste is.

Daarnaast verzoekt de DEC u bij 3. (specificatie diergroepen) de keuze voor de doseringen voor de betaglucanen te onderbouwen. Bij vorige proef ging het om 250 en 500ppm. Het is de DEC niet duidelijk, waarom u begint bij 100 en niet bij 250 en waarom u niet doorgaat tot 500 ppm.

Bij proef 2010072 wordt het effect van een of meerdere korte (24 uur) gepulseerde toedieningen via het dieet onderzocht. Kortdurende toediening zou positievere effecten hebben op de performance van vleeskuikens dan permanente toediening. De DEC verzoekt u aan te geven, op welke manier dit nog een rol speelt in de voorliggende pilot en gaat er in elk geval van uit, dat dit wordt meegenomen.

Tevens verzoekt de DEC u bij 4.a (nadere aanduiding gebruikte dieren) het geslacht te vermelden.

Daarnaast verzoekt de DEC u de dieren gedurende minimaal 8 uur in het donker te huisvesten en dit te vermelden bij 5.b. (huisvesting & verzorging).

Bovendien verzoekt de DEC u bij 6.b. (mate van ongerief) het ongerief voor de even groepen te wijzigen in "gering/ matig" in verband met de stressvolle behandeling.

Tevens verzoekt de DEC u bij 9. (alternatieven) in te gaan op de 3 V's.

Daarnaast heeft de DEC nog enkele redactionele opmerkingen.

Zij verzoekt u in de titel aan te geven dat het een pilot betreft.

Tenslotte verzoekt zij u bij 3. voor de even groepen aan te geven, dat er i.t.-challenge met PBS plaatsvindt.

Uw antwoorden zullen door het klein comité worden besproken en afgehandeld.

Uw aanvraag 2010111.b, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC is nog niet tot een definitieve afweging gekomen en heeft de volgende vragen ter verheldering: De DEC beschouwt juist bij vleeskuikens de voeropname als een behoorlijk indicatieve parameter en veranderingen daarin gaan aan die in gewichtsverlies vooraf. Ook met 3 dieren per hok is voeropname nog steeds een informatief kenmerk. Zij acht het meenemen van dagelijkse voeropname een zeer geringe inspanning ten opzichte van de informatie die het oplevert en zij verzoekt u duidelijker te beargumenteren, waarom u dit niet wilt opnemen in het proefplan.

Daarnaast verzoekt zij u de dosis glucanen duidelijker te onderbouwen en aan te geven, waarom u verwacht, dat een veel hogere dan de adviesdosis extra werkt, terwijl u een lagere dosis dan de adviesdosis hier niet meeneemt. Als u een range wilt testen, lijkt het de DEC zinvol onder en boven de adviesdosis te gaan zitten en niet alleen 0 of er (ver) boven.

Tenslotte verzoekt de DEC u nogmaals bij 9. (alternatieven) in te gaan op de 3 V's.

Uw antwoorden zullen opnieuw door de kleine commissie worden besproken en afgehandeld.

Uw aanvraag 2010111.c, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten maximaal matige ongerief dat de dieren ondergaan. Voorafgaand aan een definitief advies Verzoekt de DEC u de toelichting m.b.t. de doseringen zoals vermeld in uw e-mail in het proefplan op te nemen.

Na aanpassing zal de proef door de secretaris van de DEC worden afgehandeld.

Indien de status op 'wijzigen' is gezet en u wilt deze aanvraag gaan wijzigen, dan selecteert u deze aanvraag en kiest u vanuit het menu 'bewerken aanvraag', en dan de optie 'wijzigen'. Er wordt dan een kopie van de originele aanvraag gemaakt. Deze kopie kunt u vervolgens wijzigen, en opnieuw aanmelden.

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC

Uw aanvraag 2010111.d, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Positief advies na behandeling DEC' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten maximaal matige ongerief dat de dieren ondergaan en dat de vraag m.b.t. alternatieven voldoende is beantwoord.

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC