

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Immuunmodulerende werking van lectines in leghennen (pilot experiment)

Aanmeldcode / Protocol: 2010112.a

Stadia van de proef:

06-10-2010	Gekopieerd	
06-10-2010	Aangemeld	
21-10-2010	Wijzigen	Secretaris van de DEC
29-10-2010	Gekopieerd	

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

Dit experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Lectines zijn eiwitten die specifiek kunnen binden aan suikerstructuren, waaronder suikerstructuren die deel uitmaken van receptoren op (immuun) cellen. Deze lectines zijn in relatief hoge concentraties aanwezig in o.a. bonen en paddestoelen. Consumptie van relatief grote hoeveelheden lectines leidt tot schadelijke effecten, zoals anorexia, darmpermeabiliteit en ontsteking. Echter in lage doseringen blijken lectines in het dieet immuunmodulerend te werken, waarbij o.a. cytokinen die de cellulaire immuniteit bevorderen worden geactiveerd. Dit blijkt te resulteren in een verlaging van allergische reacties en een remmende werking op de groei van tumoren. Ook zijn er aanwijzingen dat lectines bijdragen aan de weerstand tegen infectieziekten. In kippen is er tot nu toe beperkt onderzoek gedaan naar de immuunmodulerende werking van lectines.

In dit experiment willen we de immuunmodulerende capaciteit van lectines uit bonen (red kidney beans) en paddestoelen (*Flammulina velutipes*) onderzoeken. Red kidney beans bevatten o.a. veel van het lectine PHA, dat aan galactose en mannose residuen bindt. Dit lectine wordt veelvuldig gebruikt in immunologisch onderzoek (ook in kippen) als activator van immuuncellen. Deze immuuncellen worden o.a. aangezet tot het produceren van interferon-gamma, een cytokine dat een rol speelt in de maturatie van het immuunsysteem en de weerstand tegen virale en parasitaire infecties. Een vergelijkbaar effect heeft het lectine fungal immunomodulatory protein (FIP-fve) uit de paddestoel *F. velutipes*. In muizen leidt orale toediening van een in *Escherichia coli* geproduceerde recombinante vorm van dit lectine tot verhoogde productie van interferon-gamma. In kippen is dit (recombinante) lectine recent door onderzocht, waarbij het een beschermende werking tegen een *Eimeria* infecties bleek te hebben.

In dit experiment willen we de immuunmodulerende capaciteit van via het dieet toegediende lectines uit red kidney beans en recombinant FIP-fve onderzoeken met als uiteindelijk doel de gezondheid en het

welzijn van leghennen te bevorderen.

Er zal een tweetal dierproeven worden uitgevoerd. Experiment 1 is een pilot waarin voor het red kidney bean preparaat die dosering zal worden gezocht waarbij geen negatief effect op de voeropname en groei kan worden waargenomen.

In experiment 2 zal het immuunmodulerende effect van de 2 lectines (red kidney bean extract en recombinant FIP-fve (geleverd door [REDACTED]) in een tweetal dosering worden onderzocht (hoogste dosering waarbij geen schadelijke effecten en een dosering die zich precies tussen de hoogste dosering en de controle bevindt). Dit 2e experiment zal voor de duidelijkheid als een aparte dec aanvraag worden ingediend.

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

Er is een voortdurende behoefte om via het dieet de werking van het immuunsysteem van (landbouw)huisdieren te stimuleren. Dit is te meer belangrijk, omdat op korte termijn het gebruik van antibiotica in de dierhouderij sterk teruggedrongen moet worden vanwege de resistentie problematiek. Gezien het sterke effect van lectines op het immuunsysteem zouden deze stoffen een belangrijke immuunmoduleren, maar ook therapeutische werking kunnen hebben. Uitvoering van dit onderzoek draagt bij aan meer inzicht in de werking van het immuunsysteem en kan op de langere termijn bijdragen aan het bevorderen van gezondheid en welzijn van dieren en indirect ook een bijdrage leveren aan de volksgezondheid dmv het terugdringen van het gebruik aan antibiotica.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-11-2010 tot 01-06-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	0% bonen extract
2	3	kippen	1.5% bonen extract
3	3	kippen	3% bonen extract
4	3	kippen	4% bonen extract
5	3	kippen	5% bonenextract
6	3	kippen	6% bonen extract
7	3	kippen	7% bonen extract
8	3	kippen	8% bonen extract
9	3	kippen	9% bonen extract
10	3	kippen	10% bonen extract

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Eendagskuikens (Lohman Brown) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij.

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

Leghennen zijn het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment, waarbij met behulp van lineaire regressie die lectine concentratie zal worden gezocht, waarbij geen effecten op voeropname en groei worden gevonden. We denken dit met 10 doseringen en 3 kuikens/ dosering te kunnen bepalen. Statistische onderbouwing is hier niet mogelijk.

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:

De kuikens worden aangekocht bij een commerciële broederij voor legpluimvee door medewerkers van [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De dieren zullen worden gehuisvest in groepjes van 3 dieren in grondhokken met houtkrul als strooisel.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Temperatuur en luchtvochtigheid zijn overeenkomstig de gebruikelijke waarden voor opfok van leghennen. Dieren worden dagelijks geobserveerd.

5.c. Voeding:

Kuikens krijgen ad lib. voer en water. Er wordt een standaard opfokvoer voor leghennen gebruikt.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Eendagskuikens van het ras Lohman Brown (alleen hennen) worden aangekocht. De kuikens worden in grondhokken met strooisel in groepjes van 3 gehuisvest en krijgen de gelegenheid gedurende een week te acclimatiseren. De kuikens krijgen vervolgens voer aangeboden dat is gesupplementeerd met de aangegeven hoeveelheden rauwe bonen extract. Het extract is reeds beschikbaar. Het is bereid volgens een protocol beschreven door Pusztai et al, J Appl Bacteriology, 1993, 75:360. Per hok wordt dagelijks de voeropname bepaald door de voerbakken te wegen. Ook worden de kuikens dagelijks gewogen. De proef wordt uiterlijk na een week beëindigd. Op basis van de uitkomsten zullen de doseringen voor de uiteindelijke proef worden bepaald.

6.b. Mate van ongerief:

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

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

De kuikens worden dagelijks gewogen. Bij de hogere doseringen kan het lectine preparaat een schadelijk effect hebben, wat leidt tot daling van de voeropname. Bij varkens is ook darmschade aangetoond bij hogere doseringen. In een proef met rauwe bonen (Huisman et al., 1990) is er geen effect van toevoeging van 20% rauwe bonen op de groeisnelheid bij kippen gevonden. Echter in een andere studie (Arija et al., 2006) wordt bij een dosering van 30% rauwe bonen een reductie van voeropname gevonden van 40 %. De hoogste doseringen in deze pilot van het bonen extract zijn gebaseerd op genoemde publicaties (het bonenextract heeft een 3x hoger gehalte aan actieve lectines dan rauwe bonen). We verwachten op basis van deze studies geen ernstig ongerief, maar kunnen matig ongerief bij de hoogste doseringen niet uitsluiten.

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.

Inzet van ervaren personeel. De kuikens zullen in groepjes van 3 worden gehuisvest en ontvangen hokverrijking in de vorm van houtkrul. De duur van de lectine verstrekking wordt beperkt tot maximaal een week. Bij ernstig negatieve effecten van het bonen extract zullen de kuikens onmiddellijk uit de proef worden genomen.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- 1 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 2 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 3 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 4 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 5 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 6 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 7 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 8 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 9 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 10 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De kuikens zullen worden gedood door cervicale dislocatie, waarna milt en darmweefsel wordt verzameld voor het bepalen van gen expressie en histologie. Er wordt geen T61 gebruikt omdat de kuikens moeten verbloeden ivm het verzamelen van het weefsel.

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

Leghennen zijn hier het doeldier. Er zijn geen alternatieven om de immuunmodulerende capaciteit van lectines te onderzoeken. Wel zullen eventueel een aantal in vitro experimenten worden uitgevoerd om het werkingsmechanisme van de lectines verder op te helderen.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010112.a (K14):

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

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Immuunmodulerende werking van lectines in leghennen (pilot experiment)

Aanmeldcode / Protocol: 2010112.b

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:

Dit experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Lectines zijn eiwitten die specifiek kunnen binden aan suikerstructuren, waaronder suikerstructuren die deel uitmaken van receptoren op (immuun) cellen. Deze lectines zijn in relatief hoge concentraties aanwezig in o.a. bonen en paddestoelen. Consumptie van relatief grote hoeveelheden lectines leidt tot schadelijke effecten, zoals anorexia, darmpermeabiliteit en ontsteking. Echter in lage doseringen blijken lectines in het dieet immuunmodulerend te werken, waarbij o.a. cytokinen die de cellulaire immuniteit bevorderen worden geactiveerd. Dit blijkt te resulteren in een verlaging van allergische reacties en een remmende werking op de groei van tumoren. Ook zijn er aanwijzingen dat lectines bijdragen aan de weerstand tegen infectieziekten. In kippen is er tot nu toe beperkt onderzoek gedaan naar de immuunmodulerende werking van lectines.

In dit experiment willen we de immuunmodulerende capaciteit van lectines uit bonen (red kidney beans) en paddestoelen (*Flammulina velutipes*) onderzoeken. Red kidney beans bevatten o.a. veel van het lectine PHA, dat aan galactose en mannose residuen bindt. Dit lectine wordt veelvuldig gebruikt in immunologisch onderzoek (ook in kippen) als activator van immuuncellen. Deze immuuncellen worden o.a. aangezet tot het produceren van interferon-gamma, een cytokine dat een rol speelt in de maturatie van het immuunsysteem en de weerstand tegen virale en parasitaire infecties. Een vergelijkbaar effect heeft het lectine fungal immunomodulatory protein (FIP-fve) uit de paddestoel *F. velutipes*. In muizen leidt orale toediening van een in *Escherichia coli* geproduceerde recombinante vorm van dit lectine tot verhoogde productie van interferon-gamma. In kippen is dit (recombinante) lectine recent door onderzocht, waarbij het een beschermende werking tegen een *Eimeria* infecties bleek te hebben.

In dit experiment willen we de immuunmodulerende capaciteit van via het dieet toegediende lectines uit red kidney beans en recombinant FIP-fve onderzoeken met als uiteindelijk doel de gezondheid en het welzijn van leghennen te bevorderen.

Er zal een tweetal dierproeven worden uitgevoerd. Experiment 1 is een pilot waarin voor het red kidney bean preparaat die dosering zal worden gezocht waarbij geen negatief effect op de voeropname en groei kan worden waargenomen.

In experiment 2 zal het immuunmodulerende effect van de 2 lectines (red kidney bean extract en recombinant FIP-fve (geleverd door [REDACTED]) in een tweetal dosering worden onderzocht (hoogste dosering waarbij geen schadelijke effecten en een dosering die zich precies tussen de hoogste dosering en de controle bevindt). Dit 2e experiment zal voor de duidelijkheid als een aparte dec aanvraag worden ingediend.

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

Er is een voortdurende behoefte om via het dieet de werking van het immuunsysteem van (landbouw)huisdieren te stimuleren. Dit is te meer belangrijk, omdat op korte termijn het gebruik van antibiotica in de dierhouderij sterk teruggedrongen moet worden vanwege de resistentie problematiek. Gezien het sterke effect van lectines op het immuunsysteem zouden deze stoffen een belangrijke immuunmoduleren, maar ook therapeutische werking kunnen hebben. Uitvoering van dit onderzoek draagt bij aan meer inzicht in de werking van het immuunsysteem en kan op de langere termijn bijdragen aan het bevorderen van gezondheid en welzijn van dieren en indirect ook een bijdrage leveren aan de volksgezondheid dmv het terugdringen van het gebruik aan antibiotica.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 01-11-2010 tot 01-06-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	0% bonen extract
2	3	kippen	1.5% bonen extract
3	3	kippen	3% bonen extract
4	3	kippen	4% bonen extract
5	3	kippen	5% bonenextract
6	3	kippen	6% bonen extract
7	3	kippen	7% bonen extract
8	3	kippen	8% bonen extract
9	3	kippen	9% bonen extract
10	3	kippen	10% bonen extract

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Eendagskuikens (Lohman Brown) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij.

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

Leghennen zijn het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment, waarbij met behulp van lineaire regressie die lectine concentratie zal worden gezocht, waarbij geen effecten op voeropname en groei worden gevonden. We denken dit met 10 doseringen en 3 kuikens/ dosering te kunnen bepalen. Statistische onderbouwing is hier niet mogelijk.

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:

De kuikens worden aangekocht bij een commerciële broederij voor legpluimvee door medewerkers van [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De dieren zullen worden gehuisvest in groepjes van 3 dieren in grondhokken met houtkrul als strooisel.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Temperatuur en luchtvochtigheid zijn overeenkomstig de gebruikelijke waarden voor opfok van leghennen. Dieren worden dagelijks geobserveerd. Als de dieren zichtbaar te lijden hebben onder de behandeling (niet of weinig eten, niet groeien, klinische symptomen van ziekte) zullen de dieren uit de proef worden genomen. Bij twijfel zal advies worden ingewonnen bij de preofdierdeskundige van wur. Darmweefsel zal voor nadere analyse van deze dieren worden verzameld (bv bepaling vilus/ crypt ratio), zodat de effecten van de lectines op de darm integriteit kunnen worden ingeschat.

5.c. Voeding:

Kuikens krijgen ad lib. voer en water. Er wordt een standaard opfokvoer voor leghennen gebruikt.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Eendagskuikens van het ras Lohman Brown (alleen hennen) worden aangekocht. De kuikens worden in grondhokken met strooisel in groepjes van 3 gehuisvest en krijgen de gelegenheid gedurende een week te acclimatiseren. De kuikens krijgen vervolgens voer aangeboden dat is gesupplementeerd met de aangegeven hoeveelheden rauwe bonen extract. Het extract is reeds beschikbaar. Het is bereid volgens een protocol beschreven door Pusztai et al, J Appl Bacteriology, 1993, 75:360. Per hok wordt dagelijks de voeropname bepaald door de voerbakken te wegen. Ook worden de kuikens dagelijks gewogen. De dieren zullen een week worden gevolgd. In het geval binnen een week overduidelijk schadelijk effecten op groei en voeropname optreden, zullen de kuikens voortijdig uit de proef worden gehaald. Op basis van de uitkomsten zullen de doseringen voor de uiteindelijke proef worden bepaald. Die concentratie waarbij geen negatieve effecten worden waargenomen zal worden gekozen als hoogste dosering in de uiteindelijke proef. Als laagste dosering zal een 2x lagere dosering worden gekozen.

Onderbouwing dosering:

- 1) Huisman et al (BJN) vond geen effect van 20% rauwe bonen (phaseolus vulgaris, v processor) op groeiprestaties bij 5d oude kuikens (broilers). Echter Arija et al., 2006 vinden een reductie van 40% voeropname als 30% rauwe bonen aan het extract worden toegevoegd.
- 2) max te testen niveau zou daarom rond een equivalent in PHA opname van 30% rauwe bonen liggen.
- 3) omdat het gehalte aan actieve lectines in het preparaat ca 3 x zo hoog is dan dat van de rauwe boon, zou het max gehalte van het bonenextract ca 10% van het voer van de kuikens moeten zijn. Dit wordt gekozen als hoogste dosering

6.b. Mate van ongerief:

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

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

De kuikens worden dagelijks gewogen. Bij de hogere doseringen kan het lectine preparaat een schadelijk effect hebben, wat leidt tot daling van de voeropname. Bij varkens is ook darmschade aangetoond bij hogere doseringen. In een proef met rauwe bonen (Huisman et al., 1990) is er geen effect van toevoeging van 20% rauwe bonen op de groeisnelheid bij kippen gevonden. Echter in een andere studie (Arija et al., 2006) wordt bij een dosering van 30% rauwe bonen een reductie van voeropname gevonden van 40 %. De hoogste doseringen in deze pilot van het bonen extract zijn gebaseerd op genoemde publicaties (het bonenextract heeft een 3x hoger gehalte aan actieve lectines dan rauwe bonen). We verwachten op basis van deze studies geen ernstig ongerief, maar kunnen matig ongerief bij de hoogste doseringen niet uitsluiten.

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.

Inzet van ervaren personeel. De kuikens zullen in groepjes van 3 worden gehuisvest en ontvangen hokverrijking in de vorm van houtkrul. De duur van de lectine verstrekking wordt beperkt tot maximaal een week. Bij ernstig negatieve effecten van het bonen extract zullen de kuikens onmiddellijk uit de proef worden genomen.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- 1 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 2 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 3 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 4 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 5 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 6 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 7 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 8 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 9 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.
- 10 Het dier is gestorven of gedood ter beëindiging van de proef.

Toelichting:

De kuikens zullen worden gedood door cervicale dislocatie, waarna milt en darmweefsel wordt verzameld

voor het bepalen van gen expressie en histologie. Er wordt geen T61 gebruikt omdat de kuikens moeten verbloeden ivm het verzamelen van het weefsel.

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

Vervanging:

Leghennen zijn hier het doeldier. De diverse immuunfunctie hangen sterk samen. Om te onderzoeken of de toevoeging van lectines aan het dieet immuunmodulerende capaciteit heeft, zal het onderzoek alleen in vivo uitgevoerd kunnen worden. Er zijn daarom geen alternatieven om de immuunmodulerende capaciteit van lectines te onderzoeken. Wel zullen eventueel een aantal in vitro experimenten worden uitgevoerd om het werkingsmechanisme van de lectines verder op te helderen.

Verfijning:

- Het experiment zal door ervaren personeel worden uitgevoerd
- De dieren worden in groepen gehuisvest en kooi verrijking in de vorm van bodembedekking zal worden toegepast
- De dieren zullen bij groot ongerief uit de proef worden genomen.

Vermindering:

- Door gebruik te maken van niet lineaire-regressie bij de analyse kan een goede inschatting van de toe te passen dosering worden gemaakt met de inzet van een minimale hoeveelheid dieren. Uiteindelijk leidt het toepassen van deze pilot tot een enorme reductie in het aantal te gebruiken kuikens in de uiteindelijke proef.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010112.b (K14):

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

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Immuunmodulerende werking van lectines in leghennen (pilot experiment)

Aanmeldcode / Protocol: 2010112.c

Stadia van de proef:

02-11-2010	Aangemeld		
02-11-2010	Positief advies na behandeling DEC		Secretaris van de DEC
22-11-2010	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:

Dit experiment is goedgekeurd door de hoogleraar

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

. Wetenschappelijke vraag m.b.t. van dieren

Lectines zijn eiwitten die specifiek kunnen binden aan suikerstructuren, waaronder suikerstructuren die deel uitmaken van receptoren op (immuun) cellen. Deze lectines zijn in relatief hoge concentraties aanwezig in o.a. bonen en paddestoelen. Consumptie van relatief grote hoeveelheden lectines leidt tot schadelijke effecten, zoals anorexia, darmpermeabiliteit en ontsteking. Echter in lage doseringen blijken lectines in het dieet immuunmodulerend te werken, waarbij o.a. cytokinen die de cellulaire immuniteit bevorderen worden geactiveerd. Dit blijkt te resulteren in een verlaging van allergische reacties en een remmende werking op de groei van tumoren. Ook zijn er aanwijzingen dat lectines bijdragen aan de weerstand tegen infectieziekten. In kippen is er tot nu toe beperkt onderzoek gedaan naar de immuunmodulerende werking van lectines.

In dit experiment willen we de immuunmodulerende capaciteit van lectines uit bonen (red kidney beans) en paddestoelen (*Flammulina velutipes*) onderzoeken. Red kidney beans bevatten o.a. veel van het lectine PHA, dat aan galactose en mannose residuen bindt. Dit lectine wordt veelvuldig gebruikt in immunologisch onderzoek (ook in kippen) als activator van immuuncellen. Deze immuuncellen worden o.a. aangezet tot het produceren van interferon-gamma, een cytokine dat een rol speelt in de maturatie van het immuunsysteem en de weerstand tegen virale en parasitaire infecties. Een vergelijkbaar effect heeft het lectine fungal immunomodulatory protein (FIP-fve) uit de paddestoel *F. velutipes*. In muizen leidt orale toediening van een in *Escherichia coli* geproduceerde recombinante vorm van dit lectine tot verhoogde productie van interferon-gamma. In kippen is dit (recombinante) lectine recent door onderzocht, waarbij het een beschermende werking tegen een *Eimeria* infecties bleek te hebben.

In dit experiment willen we de immuunmodulerende capaciteit van via het dieet toegediende lectines uit red kidney beans en recombinant FIP-fve onderzoeken met als uiteindelijk doel de gezondheid en het welzijn van leghennen te bevorderen.

Er zal een tweetal dierproeven worden uitgevoerd. Experiment 1 is een pilot waarin voor het red kidney bean preparaat die dosering zal worden gezocht waarbij geen negatief effect op de voeropname en groei kan worden waargenomen. Dus doel van de pilot is om te komen tot een keuze van de dosering van het rauwe bonenextract.

In experiment 2 zal het immuunmodulerende effect van de 2 lectines (red kidney bean extract en recombinant FIP-fve (geleverd door [REDACTED]) in een tweetal dosering worden onderzocht (hoogste dosering waarbij geen schadelijke effecten en een dosering die zich precies tussen de hoogste dosering en de controle bevindt). Dit 2e experiment zal voor de duidelijkheid als een aparte dec aanvraag worden ingediend.

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

Er is een voortdurende behoefte om via het dieet de werking van het immuunsysteem van (landbouw)huisdieren te stimuleren. Dit is te meer belangrijk, omdat op korte termijn het gebruik van antibiotica in de dierhouderij sterk teruggedrongen moet worden vanwege de resistentie problematiek. Gezien het sterke effect van lectines op het immuunsysteem zouden deze stoffen een belangrijke immuunmoduleren, maar ook therapeutische werking kunnen hebben. Uitvoering van dit onderzoek draagt bij aan meer inzicht in de werking van het immuunsysteem en kan op de langere termijn bijdragen aan het bevorderen van gezondheid en welzijn van dieren en indirect ook een bijdrage leveren aan de volksgezondheid dmv het terugdringen van het gebruik aan antibiotica.

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 15-11-2010 tot 01-06-2011

3. Specificatie diergroepen:

1	3	kippen	0% bonen extract
2	3	kippen	1.5% bonen extract
3	3	kippen	3% bonen extract
4	3	kippen	4% bonen extract
5	3	kippen	5% bonenextract
6	3	kippen	6% bonen extract
7	3	kippen	7% bonen extract
8	3	kippen	8% bonen extract
9	3	kippen	9% bonen extract
10	3	kippen	10% bonen extract

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Eendagskuikens (Lohman Brown) zullen worden aangekocht bij een commerciële broederij.

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

Leghennen zijn het doeldier.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

Het gaat hier om een pilot experiment, waarbij met behulp van niet-lineaire regressie die lectine concentratie zal worden gezocht, waarbij geen effecten op voeropname en groei worden gevonden. We denken dit met 10 doseringen en 3 kuikens/ dosering te kunnen bepalen. Statistische onderbouwing is hier niet mogelijk.

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:

De kuikens worden aangekocht bij een commerciële broederij voor legpluimvee door medewerkers van [REDACTED].

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

De dieren zullen worden gehuisvest in groepjes van 3 dieren in grondhokken met houtkrul als strooisel.

5.b. Huisvesting & Verzorging:

Temperatuur en luchtvochtigheid zijn overeenkomstig de gebruikelijke waarden voor opfok van leghennen. Dieren worden dagelijks geobserveerd. Als de dieren zichtbaar te lijden hebben onder de behandeling (niet of weinig eten, niet groeien, klinische symptomen van ziekte) zullen de dieren uit de proef worden genomen. Bij twijfel zal advies worden ingewonnen bij de preofdierdeskundige van wur. Darmweefsel zal voor nadere analyse van deze dieren worden verzameld (bv bepaling vilus/ crypt ratio), zodat de effecten van de lectines op de darm integriteit kunnen worden ingeschat.

5.c. Voeding:

Kuikens krijgen ad lib. voer en water. Er wordt een standaard opfokvoer voor leghennen gebruikt.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Eendagskuikens van het ras Lohman Brown (alleen hennen) worden aangekocht. De kuikens worden in grondhokken met strooisel in groepjes van 3 gehuisvest en krijgen de gelegenheid gedurende een week te acclimatiseren. De kuikens krijgen vervolgens voer aangeboden dat is gesupplementeerd met de aangegeven hoeveelheden rauwe bonen extract. Het extract is reeds beschikbaar. Het is bereid volgens een protocol beschreven door Pusztai et al, J Appl Bacteriology, 1993, 75:360. Dit extract zal worden gemengd met een standaard opfokvoer. Doordat alle experimenten met hetzelfde bonenextract zal worden uitgevoerd, zullen seizoensinvloeden mbt de te onderzoeken component niet optreden. Per hok wordt dagelijks de voeropname bepaald door de voerbakken te wegen. Ook worden de kuikens dagelijks gewogen. De dieren zullen een week worden gevolgd. In het geval binnen een week overduidelijk schadelijk effecten op groei en voeropname optreden, zullen de kuikens voortijdig uit de proef worden gehaald. Op basis van de uitkomsten zullen de doseringen voor de uiteindelijke proef worden bepaald. Die concentratie waarbij geen negatieve effecten worden waargenomen zal worden gekozen als hoogste dosering in de uiteindelijke proef. Als laagste dosering zal een 2x lagere dosering worden gekozen.

Onderbouwing dosering:

- 1) Huisman et al (BJN) vond geen effect van 20% rauwe bonen (phaseolus vulgaris, v processor) op groeiprestaties bij 5d oude kuikens (broilers). Echter Arija et al., 2006 vinden een reductie van 40% voeropname als 30% rauwe bonen aan het extract worden toegevoegd.
- 2) max te testen niveau zou daarom rond een equivalent in PHA opname van 30% rauwe bonen liggen.
- 3) omdat het gehalte aan actieve lectines in het preparaat ca 3 x zo hoog is dan dat van de rauwe boon, zou het max gehalte van het bonenextract ca 10% van het voer van de kuikens moeten zijn. Dit wordt gekozen als hoogste dosering

Het schadelijke effect van rauwe bonenextracten berust op de werking van lectines, die door hun sterke binding aan suiker-structuren aanleiding geven tot ontsteking, waardoor darmschade ontstaat. Deze negatieve effecten treden onmiddellijk na toediening op. Vanwege het snelle effect denken wij dat

toediening van bonenextract gedurende 1 week ruimschoots voldoende is om de concentratie te bepalen waarbij geen schadelijke effecten op de performance van de kuikens optreden.

De keuze om het pilot experiment uit te voeren met kuikens van 1 week oud (ipv 3 weken zoals in het uiteindelijke experiment) heeft een pragmatische reden. Door kuikens van 1 week oud te gebruiken wordt tijd gewonnen, zodat we een en ander binnen de beschikbare tijd kunnen uitvoeren. Er bestaat echter geen enkele aanleiding te veronderstellen dat de werking van lectines op 1 week leeftijd sterk zal verschillen van de werking op 3 weken leeftijd. Wij denken daarom dat de voorgestelde pilot ons in staat zal stellen tot een verantwoorde keuze van de dosering van het bonenextract te komen.

6.b. Mate van ongerief:

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

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

De kuikens worden dagelijks gewogen. Bij de hogere doseringen kan het lectine preparaat een schadelijk effect hebben, wat leidt tot daling van de voeropname. Bij varkens is ook darmschade aangetoond bij hogere doseringen. In een proef met rauwe bonen (Huisman et al., 1990) is er geen effect van toevoeging van 20% rauwe bonen op de groeisnelheid bij kippen gevonden. Echter in een andere studie (Arija et al., 2006) wordt bij een dosering van 30% rauwe bonen een reductie van voeropname gevonden van 40 %. De hoogste doseringen in deze pilot van het bonen extract zijn gebaseerd op genoemde publicaties (het bonenextract heeft een 3x hoger gehalte aan actieve lectines dan rauwe bonen). We verwachten op basis van deze studies geen ernstig ongerief, maar kunnen matig ongerief bij de hoogste doseringen niet uitsluiten.

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. |

Inzet van ervaren personeel. De kuikens zullen in groepjes van 3 worden gehuisvest en ontvangen hokverrijking in de vorm van houtkrul. De duur van de lectine verstrekking wordt beperkt tot maximaal een week. Bij ernstig negatieve effecten van het bonen extract zullen de kuikens onmiddellijk uit de proef worden genomen.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- 1 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 2 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 3 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 4 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 5 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 6 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 7 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 8 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 9 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.
- 10 Het dier is gestorven of gedood ter beindiging van de proef.

Toelichting:

De kuikens zullen worden gedood door cervicale dislocatie, waarna milt en darmweefsel wordt verzameld voor het bepalen van gen expressie en histologie. Er wordt geen T61 gebruikt omdat de kuikens moeten verbloeden ivm het verzamelen van het weefsel.

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

Vervanging:

Leghennen zijn hier het doeldier. De diverse immuunfunctie hangen sterk samen. Om te onderzoeken of de toevoeging van lectines aan het dieet immuunmodulerende capaciteit heeft, zal het onderzoek alleen in vivo uitgevoerd kunnen worden. Er zijn daarom geen alternatieven om de immuunmodulerende capaciteit van lectines te onderzoeken. Wel zullen eventueel een aantal in vitro experimenten worden uitgevoerd om het werkingsmechanisme van de lectines verder op te helderen.

Verfijning:

- Het experiment zal door ervaren personeel worden uitgevoerd
- De dieren worden in groepen gehuisvest en kooi verrijking in de vorm van bodembedekking zal worden toegepast
- De dieren zullen bij groot ongerief uit de proef worden genomen.

Vermindering:

- Door gebruik te maken van niet lineaire-regressie bij de analyse kan een goede inschatting van de toe te passen dosering worden gemaakt met de inzet van een minimale hoeveelheid dieren. Uiteindelijk leidt het toepassen van deze pilot tot een enorme reductie in het aantal te gebruiken kuikens in de uiteindelijke proef.

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



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010112.c (K14):

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

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

Uw aanvraag 2010112.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:

Bij 6.c. verwijst u naar een publicatie van Arija, waar bij een dosering van 30% rauwe bonen een reductie in voeropname werd gevonden van 40%. In het betreffende onderzoek werd echter gebruik gemaakt van snelgroeiende dieren van 0 tot 21 dagen, terwijl u in uw proefopzet gebruik maakt van leghennen, gedurende maximaal 1 week. De DEC verzoekt u aan te geven, of u verwacht, dat de gekozen doseringen in de voorliggende proef vergelijkbare effecten zullen hebben.

Daarnaast is het de DEC niet duidelijk, waarom de pilot vanaf dag 7 gedurende 1 week wordt uitgevoerd en de uiteindelijke proef vanaf dag 21 gedurende 6 weken en zij verzoekt u dit toe te lichten en aan te geven, hoe de resultaten van de pilot kunnen worden vertaald naar de proef. Tevens verzoekt de DEC u duidelijk aan te geven, hoe lang de dieren het proefvoer krijgen aangeboden.

Bovendien verzoekt de DEC u de keuze voor de doseringen van de verschillende proefgroepen te onderbouwen. Zij geeft u bovendien in overweging de proef eerst met een beperkt aantal (gespreide) doseringen uit te voeren en daarna op basis van de resultaten daarvan in tweede instantie nieuwe doseringen te kiezen. Op deze manier kan het aantal proefdieren worden beperkt.

Daarnaast geeft de DEC u in overweging de gebruikte voeders te analyseren op de effectieve stof, om seizoensvariaties uit te sluiten.

Tevens verzoekt de DEC u bij 5.b. (huisvesting & verzorging) de humane eindpunten te vermelden.

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

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

Uw aanvraag 2010112.b, 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 heeft de DEC de volgende vragen en opmerkingen:

Zij verzoekt u de terminologie m.b.t. lineaire regressie eenduidig te gebruiken of nader toe te lichten. Bij 4.c. (Toelichting voor het aantal gebruikte dieren) spreekt u van het gebruik van lineaire regressie en bij 9. (alternatieven) van niet-lineaire regressie.

Daarnaast verzoekt de DEC u de toelichting die u in uw e-mail heeft gegeven op de vragen van de DEC op te nemen in het proefplan.

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 2010112.c, 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