

## 1 Algemene gegevens

|     |                          |                                                                                       |
|-----|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.1 | Titel van het project    | <del>Verbeteren van de kwaliteit van visvoer ten behoeve van kweekvisgezondheid</del> |
| 1.2 | Looptijd van het project | <del>1-1-2018 - 1-1-2023</del>                                                        |
| 1.3 | Trefwoorden (maximaal 5) | kweekvis, zebravis model, karper, kweekvisvoer, afweersysteem                         |

## 2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

- ☒ Fundamenteel onderzoek
- ☒ Translationeel of toegepast onderzoek
- ☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
- ☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
- ☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
- ☐ Hoger onderwijs of opleiding
- ☐ Forensisch onderzoek
- ☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

### 3 Projectbeschrijving

|     |                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.1 | Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang) | <p>Aangezien steeds meer kweekvis wordt gegeten, willen wij graag bijdragen aan onderzoek naar hoe een vis eigenlijk gezond blijft. Hoe hoe kunnen we vissen gezonder en weerbaarder maken tegen infecties? We weten heel veel van het afweersysteem van muizen (in de immunologie als standaardmodel gebruikt), maar nog weinig van dat van vissen. Een belangrijke determinant van gezondheid bij kweekvis is de voersamenstelling . In dit project doen we onderzoek naar de afweerreactie op verschillende voeders, zodat we kweekvisvoerbedrijven kunnen adviseren welke voedingscomponenten gezondheidsbevorderende of juist ontstekingsveroorzakende effecten hebben in vissen.</p> |
| 3.2 | Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?         | <p>Met dit project hopen wij bij te dragen aan een beter begrip van de ontwikkeling van het afweersysteem van de vis en het verminderen van gezondheidsproblemen bij kweekvis.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

Welke diersoorten en  
geschatte aantallen  
zullen worden gebruikt?

In 5 jaar zullen we aan vissen gebruiken:

Maximaal 2400 Karpers (of Tilapia, Zalm of Forel) voor fundamenteel onderzoek naar het afweersysteem van vissen. We zullen afweercellen isoleren uit deze dieren.

Daarnaast zullen wij maximaal 882 transgene zebravissen gebruiken (die fluorescente afweercellen hebben) om te kijken wanneer welke afweercellen aanwezig zijn in de vis, m.b.v. microscopie in levende verdoofde vissen.

Maximaal 5040 Zebravissen en 1080 Karpers voor het voeronderzoek, deze vissen worden gedood op verschillende tijdstippen na het begin van het voeren om afweerprocessen te bestuderen.

|     |                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3.4 | Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren? | Voor het bestuderen van het afweersysteem worden de vissen zonder voorafgaande handeling gedood met een overdosis verdovingsmiddel. Voor het bestuderen van de voeders kan het zijn dat een milde darmontsteking optreedt.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 3.5 | Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?                   | <p>Gering ongerief: 28% van de vissen in onze dierproeven ondergaan als enige experimentele handeling doden door een overdosis met euthanasaat of worden alleen onder verdoving bekeken onder de microscoop (en niet gedood).</p> <p>Gering ongerief: 69% van de vissen in de voer proef wordt gedood zonder enige voorafgaande handeling op verschillende tijdstippen in het leven.</p> <p>Matig ongerief: Toch kan het zijn dat de nieuwe voeders een milde ontsteking veroorzaken, ondanks dat dit in de in-vitro-test niet naar voren is gekomen Dit is echter waarschijnlijk maar in een klein gedeelte van de gevallen (geschat op &lt;1%).</p> <p>Matig ongerief: Voor het opzetten en valideren van het zebravismodel (waar we indicatoren voor ontsteking moeten definiëren) zullen we ook een positieve controle mee moeten nemen: een voer waarvan we weten dat het milde darmschade veroorzaakt. Dit zal matig ongerief veroorzaken in maximaal 3% van alle dieren die gebruikt worden bij deze voerproeven.</p> |

3.6

Wat is de bestemming van de dieren na afloop?

Na afloop van de proef worden de dieren gedood ten behoeve van onderzoek naar de organen. Dit gebeurt bij alle vissen behalve de 882 zebravissen die we onder de microscoop bekijken. Een deel van deze dieren kan worden gebruikt voor de toekomstige fok of nieuw aan te vragen experimenten.

## 4 Drie V's

4.1

**Vervanging** Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdier vrije alternatieven niet gebruikt kunnen worden.

Om het effect van voer te bestuderen kunnen we helaas nog niet zonder proefdieren. We kunnen kijken naar de mogelijke directe toxische effecten van een voer op geïsoleerde cellen van de vis, echter om te zien wat een voer doet na passage door het maag-darmkanaal waar het verandert onder invloed van zuren en wordt opgenomen door cellen, die daar weer metabolieten van maken die daar de darmflora mee veranderen, die daarmee afweercellen aan of uit zetten. Dat is niet te modeleren in vitro.

4.2

**Vermindering** Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

We gebruiken zebravissen om de ontwikkeling van het afweersysteem in kaart te brengen. De larven zijn transparant en er bestaan een hoop transgene vissen die lichtgevende afweercellen hebben. Hierbij is ons doel het zebravismodel zo goed te karakteriseren dat we bij toekomstige experimenten naar fundamentele afweerprocessen in zebravissen met minder tijdspunten toekunnen en veel beter weten wanneer je welke read-out kunt gebruiken.

Na deze baseline metingen doen we voerproeven met zebravissen om een lijst met indicatoren samen te stellen waarop de nieuw te testen voeders kunnen beoordelen op hun gezondheids-bevorderende effect of op een mogelijk schadelijk effect. Dit vermindert het aantal dieren voor toekomstige (en in deze aanvraag beschreven) experimenten, omdat wellicht sommige analyses kunnen worden weggelaten (omdat we zien dat ze niets zeggen over de afweerreactie op voer).

Als er in de zebravis experimenten schadelijke effecten worden gevonden dan wordt de kweekvisvoer industrie geadviseerd de ontwikkeling van dat voer, of een bepaalde voedingscomponent, stop te zetten.

4.3

**Verfijning** Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diersmodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

Het gebruik van in-vitro-testen om een voorselectie te maken voor de te testen voeders. Het gebruik van de karper, waarbij we door eerder onderzoek goed weten hoe de cellen in vitro levend te houden en zodoende optimaal gebruik te maken van de cellen.

Het gebruik van zebravissen om live imaging te kunnen doen over de tijd, waardoor we in toekomstige proeven minder tijdspunten hoeven te gebruiken en ons model verfijnen (we weten wanneer we welke read-out kunnen gebruiken in toekomstig fundamenteel onderzoek naar het afweersysteem in de zebravis).

Het uitzoeken van indicatoren die het screenen van nieuw voer makkelijker maken en waarschijnlijk resulteert in vermindering van het aantal dieren (want hierdoor hoeven we wellicht minder parameters te testen).

4.4

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

Door constante monitoring van de vissen door zowel geschoold personeel van de visfaciliteit (2 x per dag, voertijd) als van de onderzoekers (2x per dag) wanneer vissen in experiment zijn, kunnen we tijdig ingrijpen. Bijvoorbeeld als een vis gezondheidsproblemen ontwikkelt, slecht eet of lusteloos is zal de vis uit het voerexperiment worden gehaald.

## 5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

10 januari 2018

Beoordeling achteraf

Nee

Andere opmerkingen

Nee