



<b>Algemene gegevens</b>	
PPS-nummer	<b>AF-15223</b>
Titel	<b>Vitaal gezond kalf (VGK) in een duurzame veehouderij (Deelproject 2)</b>
Thema	<b>Duurzame Veehouderij</b>
Uitvoerende kennisinstelling(en)	<b>WLR en WBVR</b>
Projectleider onderzoek (naam + emailadres)	<b>Kees van Reenen (<a href="mailto:kees.vanreenen@wur.nl">kees.vanreenen@wur.nl</a>), WLR,(tijdelijk vervanger Henry van den Brand (<a href="mailto:henry.vandenbrand@wur.nl">henry.vandenbrand@wur.nl</a>) en Ed van Klink (<a href="mailto:ed.vanklink@wur.nl">ed.vanklink@wur.nl</a>, WBVR)</b>
Penvoerder (namens private partijen)	<b>Henk Bekman (SBK)</b>
Adres projectwebsite	<b><a href="https://www.1health4food.nl/nl/1health4food/show-1/1H4F-Vitaal-gezond-kalf-in-een-duurzame-veehouderij.htm">https://www.1health4food.nl/nl/1health4food/show-1/1H4F-Vitaal-gezond-kalf-in-een-duurzame-veehouderij.htm</a></b>
Startdatum	<b>1-4-2016</b>
Einddatum	<b>1-4-2021</b>

<b>Goedkeuring penvoerder/consortium</b>	
De jaarrapportage dient te worden besproken met de penvoerder/het consortium. De TKI's nemen graag kennis van eventuele opmerkingen over de jaarrapportage.	
De penvoerder heeft namens het consortium de jaarrapportage	<input checked="" type="checkbox"/> goedgekeurd <input type="checkbox"/> niet goedgekeurd
Eventuele opmerkingen over de jaarrapportage:	

<b>Inhoudelijke samenvatting van het project</b>	
Probleemomschrijving	Het probleem dat binnen het project VGK wordt aangepakt is de hoge ziekte-incidentie van het kalf in met name de eerste zes weken na opzet op het vleeskalverbedrijf. Om dit probleem op te kunnen lossen is betrokkenheid van stakeholders uit de gehele rundveehouderij en wederzijdse betrokkenheid van de melkveehouderij en de vleeskalversector onontbeerlijk. Projectresultaten moeten de melkveesector, de transportsector en de vleeskalversector handvatten bieden die leiden tot blijvend gezonde kalveren, verdere reductie van antibioticumgebruik en betere technische resultaten.
Doelen van het project	Doel is reductie van dierziekteproblematiek en antibioticumgebruik, door een keten brede aanpak: onderzoek in keten en vanuit verschillende invalshoeken (voeding, klimaat, transport en dierziekte management).

<b>Resultaten</b>	
Beoogde resultaten 2019	Deelproject 1: In 2019 is gewerkt aan het publiceren van de gegevens van experiment 1 in wetenschappelijke tijdschriften.  Door Deelproject 1 en Deelproject 2 gezamenlijk vanuit de PPS Vitaal & Gezond Kalf, en in samenwerking met de PPS Kansen voor het Kalf in de Keten is in 2019 een grootschalig gezamenlijk experiment uitgevoerd, waarin kalveren longitudinaal worden vervolgd vanaf het melkveebedrijf tot het vleeskalverbedrijf. Dit experiment, experiment 2 genoemd, is in het voorjaar van 2019 opgestart en zal tot in het voorjaar van 2020 doorlopen.

Behaalde resultaten 2019	<p>In 2019 is doorgewerkt aan de doelen voor beide deelprojecten. Deze projecten lopen volgens planning, afgezien van vertraging die voor de start van experiment 1 is opgelopen.</p> <p><b>Deelproject 1: Opfok, transport en opvang</b></p> <p>Experiment 1: In 2019 zijn twee manuscripten geschreven op basis van experiment 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Manuscript 2 "Effects of pre-transport diet, transport duration, and type of vehicle on physiological status of young calves". Status: geaccepteerd door the Journal of Dairy Science</li> <li>- Manuscript 3 "Effects of pre-transport diet, transport duration and transport condition on immune cell subsets, haptoglobin, cortisol and bilirubin in young veal calves". Status: ingediend bij Veterinary Immunology and Immunopathology</li> </ul> <p>Experiment 2: De dataverzameling is gestart in maart 2019 en zal voltooid zijn in mei 2020. Voor dit deelproject zijn 13 melkveebedrijven gedurende 8 maanden elke week bezocht (afgerond in november 2019). In totaal zijn 715 kalveren in de proef ingestroomd en 695 van deze kalveren zijn doorgestroomd naar 8 vleeskalverbedrijven. De kalveren worden tijdens hun tijd op de vleeskalverbedrijven 5 keer bezocht. Deze bezoeken worden afgerond in mei 2020. In het project zijn naast studenten van WUR ook studenten van HAS Den Bosch en Aeres Hogeschool Dronten betrokken geweest. Zij hebben geholpen met de reguliere bemonstering, maar ook aanvullende klimaatmetingen gedaan. Deze resultaten hebben zij met de melkveehouders gedeeld middels een aantal bijeenkomsten. Aansluitend hebben de melkveehouders een rondleiding bij een deelnemende kalverhouder gekregen en konden zij de eigen dieren opzoeken die via de proef bij de kalverhouder waren gekomen.</p> <p>De planning is om half 2020 de eerste resultaten met de deelnemende melkveehouders te delen. Eind 2020 volgt dan een eindpresentatie voor de deelnemende melkveehouders, vleeskalverhouders en andere belanghebbenden voor het delen van resultaten en afronding van het project.</p> <p>De analyses van immunoglobulinen in serum en biestzijn afgerond. De andere parameters zullen in het eerste deel van 2020 uitgevoerd worden.</p> <p><b>Deelproject 2: Ziektemanagement:</b> <u>Virulentie-onderzoek:</u> In de eerste helft van 2018 is vooral gekeken naar virulentiefactoren bij <i>Mannheimia haemolytica</i>. Standaard virulentiefactoren zijn onderzocht, maar dat heeft nog niet heel veel opgeleverd. Nu kijken we naar "nieuwe" factoren. <i>Pasteurella multocida</i> en <i>M. haemolytica</i> zijn nu eerst afgemaakt. Inmiddels zijn 80 <i>Trueperella pyogenes</i> stammen gesequenced, maar de analyse loopt nog. GD heeft inmiddels alle 241 <i>Mycoplasma bovis</i> stammen uit het DOT1 project opgekweekt en de DNA sequenties bepaald. Deze gegevens worden geanalyseerd, dit loopt door in 2020. De eerste indruk is dat er weliswaar diverse virulentiefactoren gevonden zijn maar dat dit niet goed correleert met het al dan niet ziek zijn van de kalveren. Verdere analyse zal gedaan worden in 2020. Een opvallende bevinding is dat we regelmatig naast <i>M. bovis</i> ook <i>M. bovirhinis</i> aantreffen, waarvan een groot deel een tetracycline resistentiegen heeft. De relevantie hiervan is nog niet duidelijk.</p>

#### Resistentie-onderzoek:

In het vorige project, DOT, is een array ontworpen (met DNA probes) waarmee resistentiegenen, en een aantal relevante mutaties in huishoudgenen, kunnen worden aangetoond. Een eerste versie van de array is geëvalueerd voor *P. multocida*, *haemolytica*, en *Mycoplasma*. Het technische deel werkt goed voor resistentiegenen; voor detectie van puntmutaties werkt de array minder goed. In het huidige project, VGK, zijn de probes daarvoor herontworpen (enkel voor *P. multocida* en *M. haemolytica*). Omdat de fabrikant gestopt is met het produceren van dergelijke custom-made arrays, is er (voorlopig) geen vooruitzicht op een tweede, aangepaste, versie. Recente navraag over het opnieuw in productie nemen van deze arrays, heeft niks opgeleverd.

V.w.b. de probe-ontwerpen zijn voor een aantal isolaten arrayresultaten vergeleken met fenotypische resultaten, nog vastgesteld in DOT met een subset antibiotica. Uit analyses blijkt onder andere dat voor een aantal probes nooit het bijbehorende gen wordt gedetecteerd in de geteste isolaten, maar ook dat er in *P. multocida* en *M. haemolytica* een aantal resistenties voorkomen waarvoor geen genen aanwezig zijn in de voor probe-ontwerp gebruikte databases. Analyse van deze resultaten is verfijnd door in ~200 genomesequenties (gegenereerd in VGK) met een brede database naar resistentiegenen te zoeken. Hier komt een grote match met de probe-ontwerpen uit, op een aantal uitzonderingen na, die meegenomen hadden kunnen worden in een eventuele tweede versie van de array. In deze genomesequenties is ook naar relevante puntmutaties gekeken (vooral voor fluoroquinolones van belang).

In 2019 zijn van de ~200 isolaten de antibioticumresistenties bepaald met een speciaal daarvoor ontworpen test (op basis van het formularium voor vleeskalveren en vleesvee, respiratietractus, 2017; deze resultaten zijn nog niet gerapporteerd, maar wel beschikbaar). De vergelijking van het fenotype (antibioticumresistentie) met het genotype (hits met de database resistentiegenen) is nog niet afgerond. Op moment van schrijven is voor de ~80 *M. haemolytica*-isolaten duidelijk welke resistenties door welke genen worden veroorzaakt, echter, voor een deel van de resistenties is geen gen aanwezig dat resistentie verklaart. Puntmutaties kunnen hiervoor verantwoordelijk zijn. Zo worden bij fluoroquinolone-resistente *M. haemolytica* geen genen gevonden die resistentie kunnen verklaren, maar wel puntmutaties die matchen met de literatuur en correleren met resistentie tegen enrofloxacin. Voor een aantal andere resistenties is gekeken naar puntmutaties zoals die beschreven zijn voor andere, soms verwante bacteriesoorten. Dat heeft bijvoorbeeld opgeleverd dat een aantal voor *M. haemolytica* nog niet eerder beschreven puntmutaties in een bepaald deel van een bepaald gen correleren met resistentie tegen trimethoprim, analoog aan een publicatie over een andere bacteriesoort. Om een deel van de overige resistenties te verklaren, is er nog een inspanning nodig om uit de literatuur de juiste genen te destilleren en met een bioinformaticus een aantal van deze genen in de beschikbare genomesequenties te bekijken. Bijvoorbeeld, voor florfenicol en macrolide-resistentie in het 23SrDNA naar mutaties gezocht. Er worden wel mutaties aangetroffen, maar niet mutaties die al beschreven zijn. Voor florfenicol is er wel een relatie tussen de waargenomen mutaties en resistentie, maar voor macrolides niet, dat moet via andere relevante genen (ribosomale eiwitten) worden gevonden. Vergelijkbare analyses moeten op termijn ook voor de ca. 120 *P. multocida*-isolaten worden gedaan; de antibioticumresistenties en de genomen, zijn reeds beschikbaar.

De verkregen kennis kan gebruikt worden om specifieke Point-of-Need-testen te ontwerpen voor de genetische detectie van resistentie tegen voor de Nederlandse situatie relevante antibiotica, of als basis voor een monitoring die berust op sequencing van isolaten of totaalmonsters. Op termijn kan misschien een aangepaste tweede versie van de array worden gemaakt.

	<p><u>Analyse antibiogrammen:</u>  In de oorspronkelijke monsters was het niet mogelijk een relatie te laten zien tussen behandeling van kalveren en resistentie van gevonden pathogene bacteriën. Het materiaal zoals dat in het DOT-1 project was verzameld was niet voor dit doel verzameld, waardoor het niet mogelijk bleek een relatie aan te tonen.</p> <p>In samenwerking met deelproject 1 is gedurende het grootste deel van de looptijd van dit jaar deelgenomen aan experiment 2. Doel van dit experiment is om kalveren longitudinaal te volgen vanaf het melkveebedrijf naar het vleeskalverbedrijf en gedurende de mestperiode. Het verzamelen van de monsters is afgerond. De bedoeling is dat in een selectie van de kalveren longitudinaal analyses zullen worden gedaan naar ziekteverwekkers en resistentie, gerelateerd aan het gebruik van antimicrobiële middelen en gezondheid van de dieren. De gedachte is dat dat beter inzicht geeft in de invloed van ziekte en middelengebruik op de microflora en de resistentie. Tevens zal onderzoek uitgevoerd kunnen worden (na 2020) naar de invloed van het melkveebedrijf (moeder, biest, management, initiële besmetting etc.) op de ontwikkeling van respiratoire ziektebeelden, betrokken agentia, geneesmiddelengebruik etc. in de periode in de vleeskalverhouderij. Dit experiment heeft een groot deel van de tijd en middelen van dit jaar gevraagd.</p> <p>Door GD is optimalisatie van de kweekmethode voor Mycoplasma bovis uitgevoerd. Er zijn twee batches autovaccin gemaakt voor een vleeskalverbedrijf met respiratoire problemen waar Mycoplasma bovis werd aangetoond. Deze vaccins zijn nu ingezet, en het verloop zal gevolgd worden, waarbij vooral safety in beeld gebracht wordt. In beperkte mate wordt er naar effectiviteit gekeken.</p>
<p>Beoogde resultaten 2020</p>	<p>Deelproject 1:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Het grootschalig experiment wordt in het voorjaar 2020 afgerond. Daarna worden alle monsters geanalyseerd en zal alle data geanalyseerd en gerapporteerd worden.</li> <li>• Het derde experiment wordt in 2020 opgestart. Dit is een transportproef in samenhang met opvangstrategie van jonge kalveren op het vleeskalverbedrijf. Het wordt een 2x2 factorieel experiment met factoren: (i) dekhoogte tijden transport (wettelijk versus verhoogd zoals beoogd door het Ministerie van LNV), en (ii) opvangstrategie (regulier versus alternatief, ondermeer gericht op snelle rehydratie van kalveren). Geplande uitvoering (exclusief laboratorium analyses, data verwerking en rapportage): september/oktober 2020 – maart/april 2021.</li> <li>• In 2020 wordt ook het vierde en laatste experiment opgestart. Dit wordt een proef naar het gebruik van sensoren om de gezondheidstoestand van vleeskalveren te monitoren. Om proeftechnische redenen wordt de proef uitgevoerd op een kalverbedrijf met grote groepen. Kalveren worden uitgerust met sensoren waarmee activiteit (staan/licgen) en lichaamstemperatuur kunnen worden geregistreerd. Daarnaast wordt gebruik gemaakt van een systeem om gewicht/omvang geautomatiseerd en continu te registreren. Verder vindt automatische registratie plaats van voeropname (melk en, wellicht, ook ruw/krachtvoer). Sensordata worden gelinkt aan systematische klinische waarnemingen. Ontwikkeling algoritme om gezondheidstoestand van kalveren te detecteren. Geplande uitvoering (exclusief data verwerking en rapportage): januari 2020 – februari 2021.</li> <li>• De AIO binnen de PPS zal in 2020 aan de wetenschappelijke artikelen werken. Gepland zijn nog twee artikelen uit experiment 1 af te schrijven en minimaal 1 artikel over experiment 2.</li> </ul>

	<p>Daarnaast zal een begin gemaakt worden met de afronding van de thesis.</p> <p>Deelproject 2:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Afronding analyse antibioticumresistenties vs genoomsequenties voor ca. 80 <i>M. haemolytica</i> en 120 <i>P. multocida</i>-isolaten</li> <li>• Wanneer de analyses zijn afgerond, zullen de resultaten gebruikt worden als basis voor een manuscript over antibioticumresistentie in vleeskalveren in Nederland.</li> </ul>
--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p><b>Opgeleverde producten in 2019</b> (geef de titels en/of omschrijvingen van de producten / deliverables of een link naar de producten op de projectwebsite of andere openbare websites)</p>	
<p><u>Wetenschappelijke artikelen:</u></p> <p><b>Deelproject 1, Experiment 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• “ Effects of pretransport diet, transport duration, and type of vehicle on physiological status of young veal calves”, accepted and to be published soon in Journal of Dairy Science.</li> <li>• “Effects of pre-transport diet, transport duration and transport condition on immune cell subsets, haptoglobin, cortisol and bilirubin in young veal calves”, submitted to Veterinary Immunology and Immunopathology.</li> </ul>	
<p><u>Externe rapporten:</u></p>	
<p><u>Artikelen in vakbladen:</u></p>	
<p><u>Inleidingen/posters tijdens workshops, congressen en symposia:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Bern, Switzerland : University of Bern - ISBN 9783906813936 17th International Conference on Production Diseases in Farm Animals (ICPD), Bern, 2019-06-27/2019-06-29: Effects of pre-transport diet, transport duration and type of vehicle on metabolism and immunity of young veal calves; Marcato, F.; Brand, H. van den; Kemp, B.; Engel, B.; Wolthuis-Fillerup, M.; Reenen, C.G. van</i></li> <li>• <i>WIAS Science Day 2019, Lunteren, 2019-03-18/2019-03-18: Effects of pre-transport diet, transport duration and conditions on performance of calves at the veal farm; Marcato, F.; Brand, H. van den; Kemp, B.; Engel, B.; Wolthuis-Fillerup, M.; Reenen, C.G. van</i></li> </ul>	
<p><u>TV/ Radio / Social Media / Krant:</u></p>	
<p><u>Overig (Technieken, apparaten, methodes etc.):</u></p>	

